

Control del deterioro microbiológico de filetes de tilapia mediante la aplicación de bacterias lácticas

Control Microbiological Deterioration of Tilapia Fillets by the Application of Lactic Acid Bacteria

Controle de Deterioração Microbiológica da Tilápia Arquivo Através da Aplicação de Bactérias Lácticas

Angélica M. Castillo-Jiménez^{1*}, Constanza Montalvo-Rodríguez², Cristina Ramírez-Toro³, Germán Bolívar-Escobar⁴

¹ Bióloga Marina MSc,

² Ingeniera Agroindustrial MSc, PhD, Ing. Alimentos,

³ Bióloga, MSc, PhD, Procesos Biotecnológicos,

⁴ Biólogo, MSc, PhD, En Ciencias Biológicas.

* Grupo de Investigación Microbiología y Biotecnología Aplicada - MIBIA. Universidad del Valle

Email: amariacj@gmail.com

Recibido: junio 04 de 2015

Aceptado: abril 08 de 2017

Resumen

En los últimos años se ha reconocido el potencial de las bacterias ácido lácticas (BAL) como agentes bioconservantes de productos cárnicos, incluido el pescado, al reducir el deterioro microbiológico y químico. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto bioconservante de dos cepas de BAL y el tiempo de impregnación en la calidad microbiológica y química de filetes de tilapia. Se evaluaron dos tiempos de impregnación (1h y 2h) y las BAL *Lactobacillus plantarum* JCM 1149 y *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356. Los filetes bioconservados (FB) se almacenaron a 5°C y se evaluaron los cambios en el recuento de BAL, mesófilos, psicrófilos y coliformes totales durante 30 días. Los recuentos en los FB fueron de 5.94 de Log UFC/g. de BAL, y <2.7 log UFC/g de coliformes y psicrófilos. Los filetes control presentaron recuentos de 1.2 log UFC/g de BAL mientras los coliformes totales y psicrófilos superaron el límite permitido para consumo humano luego de 10 días. Luego de 10 días. El tratamiento que mantuvo la calidad microbiológica y química de los FB por más tiempo fue *L. plantarum* con inmersión de una hora. Las BAL estudiadas mostraron un efecto inhibitorio de la microflora deteriorante del pescado y una reducción en la formación de nitrógeno volátil, siendo un método viable para la conservación del pescado.

Palabras clave: bacterias ácido lácticas, bioconservación, cultivos bioprotectores, filetes de tilapia, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*.

Abstract

In recent years, it has recognized the potential of lactic acid bacteria (LAB) as biopreservatives agents for meat products, including fish, by reducing the microbiological and chemical spoilage. The aim of this study was to determine the effect of two strains biopreservative LAB and impregnation time on the microbiological and chemical quality of tilapia fillets. Two impregnation time (1h and 2h) and two LAB (*Lactobacillus plantarum* JCM 1149 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356

were evaluated. The biopreserved fillets (BF) were stored at 5 ° C and the changes of the LAB count, mesophilic, psychrophilic and total coliforms., were evaluated for 30 days. The microbiological analysis show for the BF 5.94 log CFU / g. of LAB and <2.7 log CFU / g of coliform and psychrophilic bacteria. The control Fillets showed 1.2 log CFU / g of LAB while the psychrophile and total coliforms exceeded the allowed limit for human consumption after 10 days. The treatment kept the microbiological and chemical quality of the BF longer was *L. plantarum* with one hour of impregnation. The LAB studied showed an inhibitory effect of the spoilage microflora of fish and a reduction in the formation of volatile nitrogen compounds, being a viable fish preservation method.

Keywords: lactic acid bacteria, biopreservation, bioprotector strain, tilapia fillets, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*.

Resumo

Nos últimos anos tem se reconhecido o potencial das bactérias ácido lácticas (BAL) como agentes bioconservantes de produtos carnicos, incluído o peixe ao diminuir o deterioro microbiológico e químico. O propósito deste estudo foi determinar o efeito bioconservante de duas cepas de BAL e a avaliação do tempo de impregnação requerido para obter uma boa qualidade microbiológica e química de filetes de tilapia. Foram avaliados dois tempos de impregnação (1h e 2h) com as BAL *Lactobacillus plantarum* JMC 1149 e *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356. Os filetes biopreservados (FB) foram estocados a 5°C e valoradas as modificações na contagem de microorganismos BAL, mesófilos, psicrófilos, coliformes totais durante 30 dias. As contagens microbianas nos FB foram de 5.94 de log UFC/g e <2.7 log UFC/g de coliformes e psicrófilos. Os filetes controle apresentaram valores de 1.2 log UFC/g de BAL, não entanto os coliformes totais e psicrófilos superaram o limite permitido para consumo humano após 10 dias de estocagem. O tratamento que manteve a qualidade microbiológica e química dos FB por maior tempo foi de imersão com *Lactobacillus plantarum* por uma hora. As BAL estudadas amostraram um efeito inibitório da microflora deteriorante dos peixes e uma redução na formação de nitrogênio volátil se apresentando como um método viável para a preservação de filete de peixe

Palavras-chave: bactérias ácido lácticas, biopreservação, cepas bioconservantes filetes de tilapia

Introducción

El pescado y los productos pesqueros son algunos de los productos alimenticios básicos más comercializados en todo el mundo. La tendencia del consumo de pescado a nivel mundial ha ido en incremento en las últimas décadas, para el 2016 se alcanzó un histórico de 171 millones de toneladas de las cuales el 88% fue para consumo humano directo, lo que equivale a 136 millones de toneladas consumidas (FAO, 2018). Las formas de comercialización están dominadas por el pescado vivo, fresco o refrigerado con un 46%, (63 millones de toneladas), seguido del pescado congelado (29%), pescado preparado o en conserva (13%) y el pescado seco, salado o curado (12%) (FAO, 2012).

Actualmente los consumidores exigen el cumplimiento de normas más estrictas en cuanto al grado de frescura, la diversidad y la inocuidad de los alimentos, con el fin de proteger su salud (FAO, 2014), por eso la gran preocupación sobre las prácticas en el cultivo y la calidad del pescado proveniente de la acuicultura, además de los medios de inspección y control de los productos para prevenir enfermedades transmitidas por los alimentos (Matagaras *et al.*, 2008).

El pescado es un producto altamente perecedero debido a una serie de cambios autolíticos, oxidativos y microbianos, estos últimos en gran parte responsables del deterioro del pescado, produciendo alteraciones

en la calidad como el olor, sabor, apariencia y textura y determinando su vida útil durante el almacenamiento (Gram *et al.*, 1996; Footitt, 1999; Altieri *et al.*, 2005). Entre los cambios mencionados, son determinantes la calidad microbiana y el contenido de nitrógeno volátil, los cuales determinan la viabilidad para el consumo humano (Footitt y Lewis, 1999; Løvdal 2015, Tome, 2000; EFSA, 2009; Gómez-Sala *et al.*, 2016).

Los mecanismos de conservación del pescado más usados, son el uso del hielo, refrigeración y congelamiento, cuyo objetivo principal es proporcionar bajas temperaturas con el fin de controlar la flora microbiana al disminuir la velocidad de crecimiento de los microorganismos (Olafsdottir *et al.*, 2006; Leela-pongwatta *et al.*, 2005). Aunque los dos primeros se consideran tecnologías relativamente sencillas y de bajos costos su desventaja está en el tiempo corto de almacenamiento: alrededor de 8 días, luego del cual el producto debe ser sometido a un proceso de congelamiento, tecnología más compleja que permite un almacenamiento por largos periodos de tiempo, pero con unos costos más altos (Aras *et al.*, 2005). Otras formas de conservación son: las atmósferas modificadas (Prapaiwong *et al.*, 2009; Erkan, 2007), sometimiento a altas presiones (Erkan and Uretener, 2010) técnicas de barreras, (Emborg *et al.*, 2002; Fernandez-Segovia, 2007)-. Sin embargo las exigencias actuales por parte del consumidor para adquirir alimentos inocuos y

altamente saludables ha originado que las investigaciones estén encaminadas a nuevos métodos de preservación del pescado como el uso de antioxidantes naturales (laurel *Laurus nobilis*, tomillo, *Thymus vulgaris*, ajo, *Allium sativum*), (Erkan *et al.*, 2011, Mengsha *et al.*, 2014); uso de quitosano (Silva Santos, 2014) o de microorganismos bioprotectores (Gomez, 2013; Bakar *et al.*, 2007; Bromberg, 2004; O'Sullivan *et al.*, 2002) y biopreservación por impregnación al vacío (Montalvo, 2014).

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto bioconservante de dos cepas de BAL y el tiempo de impregnación en la calidad microbiológica y química de filetes de tilapia.

Materiales y métodos

Obtención del inóculo

Se obtuvieron inóculos de dos cepas puras, criopreservadas a -20°C del laboratorio de Microbiología y Biotecnología aplicada de la Universidad del Valle: *Lactobacillus plantarum* JCM 1149 y *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Para la activación las cepas se cultivaron en tubos de ensayo con 10 ml. de caldo MRS (De Man Rogosa y Sharpe), e incubaron por un periodo de 24 a 48 horas a 35°C. Se preparó un medio de cultivo a partir de sacarosa, leche de soya y suero de leche, según lo recomendado por Jurado *et al.*, (2009), en el cual se inoculó el 10% v/v del microorganismo y se incubó durante 24 h a 35°C y 120 rpm de acuerdo a la metodología desarrollada por Montalvo, (2010). La viabilidad de las BAL en el medio de cultivo se verificó siguiendo la metodología APHA, (1992) y la adaptación de Ramírez (2005) para el recuento en placa de BAL en agar MRS con azul de anilina.

Obtención de los filetes

Los peces de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), (w=700 gr) fueron obtenidos en una piscícola de la región y trasladados en bolsas con oxígeno a la planta de alimentos de la Universidad del Valle, donde se obtuvieron los filetes libre de piel manualmente, siguiendo la normatividad de Buenas Prácticas de Manufactura.

Diseño Experimental

Para la impregnación de los filetes con BAL se implementó un diseño de parcelas divididas con tres factores de entrada, donde los dos primeros (Producto Impregnado, con tres niveles: *L. plantarum*, *L. acidophilus* y control que consistió en el medio de cultivo

sin BAL y TI: Tiempo de impregnación, con dos niveles: 1h y 2h) formaron una estructura factorial a la parcela completa y el tercer factor (TA: Tiempo de almacenamiento) se empleó en la parcela dividida, este modelo fue aplicado para cada tipo de variable respuesta de forma independiente. Cada análisis se realizó por triplicado. (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos de bioconservación de filetes de tilapia con bacterias lácticas

Número de tratamiento	Producto Impregnado	Tiempo de impregnación (h)
1(L.a-1)	Inóculo de <i>L. acidophilus</i>	1
2 (L.a-2)	Inóculo de <i>L. acidophilus</i>	2
3 (L.p-1)	Inóculo de <i>L. plantarum</i>	1
4 (L.p-2)	Inóculo de <i>L. plantarum</i>	2
5 (Control-1)	Control: Medio de cultivo sin BAL	1
6 (Control-2)	Control: Medio de cultivo sin BAL	2

Para comprobar normalidad se utilizó la prueba Shapiro-Wilks; Levene para homogeneidad de varianzas y Box-Pierce para demostrar independencia. Análisis de varianza ANOVA. Los datos microbiológicos fueron ajustados a logaritmo natural. Estos análisis fueron realizados empleando el programa estadístico SPSS versión 1.4. Por último se llevaron a cabo comparaciones múltiples utilizando el test de Tukey, con ayuda del software estadístico R versión 2.10, con un nivel de significancia del 95%.

Se evaluó la influencia del producto impregnado y el tiempo de inmersión en el recuento microbiano y el contenido de nitrógeno volátil del filete de tilapia bioconservado, determinando el mejor tratamiento que conservara la calidad en el tiempo.

Almacenamiento

Luego de la impregnación, cada filete se escurrió en papel absorbente y se empacó en bolsas de polietileno de baja densidad con barrera de transmisión de oxígeno de 29-45 mL/O₂/m²/ 24h/atm, medido a 23°C, y barrera de permeabilidad a gases de 10-15 g/m²/ 24h /medido a 38°C marca CRYOVAC®, utilizando una empacadora de vacío WEBOMATIC® 8224. Finalmente, los

filetes se almacenaron a $5^{\circ}\text{C} + 0.5^{\circ}\text{C}$ y se evaluaron los cambios la población microbiana y en el contenido de nitrógeno volátil cada 10 días durante 30 días.

Análisis microbiológico

Se maceraron 10 g de cada muestra de filete en 90 mL de agua peptonada a partir de la cual se realizaron diluciones sucesivas para realizar los recuentos de cada grupo microbiano, según lo recomendado por APHA 1992, e INVIMA 1998

El recuento de Mesófilos y Psicrófilos Viabiles se realizó en Plate Count Agar (PCA) y tiempo de incubación de 48h a 35°C para mesófilos y a 4°C por un período de 5 días para el recuento de psicrófilos.

La determinación de coliformes totales y fecales se realizó según la metodología del Número más Probable (NMP/g) en tubos de ensayo con tubos de Durham invertidos, incubados a 35°C por un periodo de 48 horas. Los tubos que presentaron turbidez o presencia de gas, fueron considerados una prueba presuntiva de la presencia de coliformes, se confirmó la presencia de coliformes con el reactivo de Kovacs e inoculando una muestra de los tubos positivos en caldo Lactosa Bilis Verde Brillante, incubados por 48 horas a 35°C , los tubos que presentaron turbidez y producción de gas (positivos) fueron sembrados en EMB e incubados por 24 horas para determinar la presencia de *Escherichia coli*.

El recuento de Bacterias Acido Lácticas se realizó mediante siembra en cajas de petri con agar MRS con azul de anilina, e incubadas a 35°C durante 48 horas. A partir del número de colonias obtenidas en las placas, se calculó el número de microorganismos por gramo de la muestra, reportándose como Log UFC/g.

Resultados

La Figura 1 muestra el comportamiento de los microorganismos mesófilos durante el tiempo de almacenamiento para los seis tratamientos evaluados. El conteo inicial para mesófilos fue máximo de 6.25 ± 0.85 log UFC/g, en los tratamientos con BAL, mientras que para los filetes control no supero 3.0 ± 1.5 log UFC/g, Para el día 10 se observa un crecimiento de los microorganismos en todos los tratamientos, siendo los mayores valores alcanzados en los filetes control 1 y 2, con 11.5 ± 1.08 log UFC/gr, mientras que para los tratamientos con BAL, el mayor valor corresponde al tratamiento L.p-2 con 8.0 ± 0.5 log UFC/gr, sin embargo a partir del día 10, se observó una disminución en el recuento total de mesófilos, en los tratamiento que emplearon

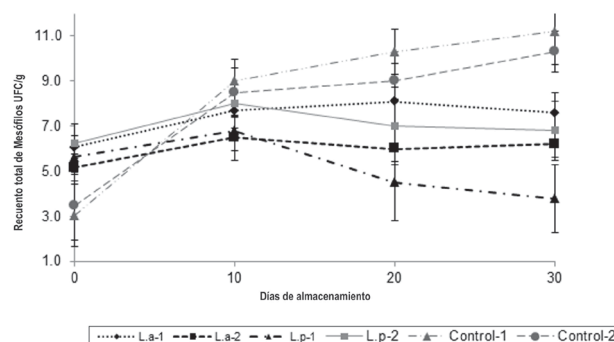


Figura 1. Recuento Total de Microorganismos Mesófilos durante el almacenamiento de filetes bioconservados de tilapia

BAL, alcanzándose una disminución hasta de 6 ciclos log en el tratamiento 3 a los 30 días de almacenamiento. El ANOVA, mostró diferencias significativas entre el tiempo de almacenamiento ($P < 0.01$) y la interacción Producto impregnado x Tiempo de almacenamiento ($P < 0.01$). El análisis múltiple demostró que existen diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los filetes tratados con BAL y los filetes control, indicando que hay una mayor cantidad de microorganismos mesófilos en los filetes control. No se observaron diferencias significativas entre los tiempos de impregnación.

La Figura 2, muestra el comportamiento de los microorganismos entéricos no fermentadores durante el tiempo de almacenamiento. En general se observó un incremento durante los primeros 10 días encontrándose los valores más altos en los filetes control con valores de 4.8 ± 0.51 y 4.5 ± 0.51 log UFC/g, mientras que para los tratamientos con BAL los valores no sobrepasaron los 2.7 ± 0.5 log UFC/g. Para el día 20 se presentó un leve aumento en todos los tratamientos, tendencia que se mantuvo hasta el día 30 donde los valores mínimos se presentaron para L.p-1 y L.p-2 (2.9 ± 0.9 log UFC/g y 3.3 ± 1.3 log UFC/g (respectivamente) y los máximos

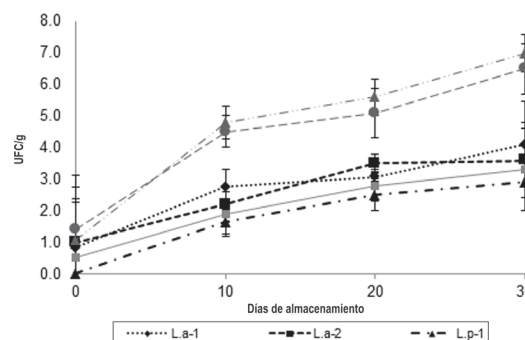


Figura 2. Recuento de Entéricos no Fermentadores durante el almacenamiento de filetes bioconservados de tilapia

para los tratamiento control C1 ($7.0 \pm 0.6 \log \text{ UFC/g}$) y C2 ($6.5 \pm 0.8 \log \text{ UFC/g}$) El análisis múltiple mostro que no existen diferencias significativas al interior de los tratamientos de filetes bioconservados, mientras que si se presentaron diferencias significativas entre estos y los grupos control ($P < 0.05$). De acuerdo al ANOVA se presentaron diferencias significativas ($< 0,01$) en la interacciones producto impregnado x tiempo de almacenamiento, tiempo de inmersión x tiempo de almacenamiento y cepa.

La Figura 3 muestra el comportamiento de la Bacterias Acido Lácticas, la presencia de este grupo se evidenció desde el tiempo 0, en todos los tratamientos con BAL, reportándose un mínimo de $5,94 \pm 0.54 \log \text{ UFC/g}$ (L.a-2), mientras que los grupos control presentaron valores inferiores a $3.16 \pm 0.8 \log \text{ UFC/g}$ para el mismo tiempo. En el día 10 se observó un incremento en los tratamientos que emplearon BAL, alcanzando un valor de $8.98 \pm 1.04 \log \text{ UFC/g}$ (L.p-2), mientras que para el control 1 y control 2 la presencia de BAL disminuyo ($1.2 \pm 0,5 \log \text{ UFC/g}$ y $0.5 \log \pm 0.9 \text{ UFC/g}$). A partir del día 10 se observó una disminución de los microorganismos en todos los tratamientos, comportamiento que se mantuvo hasta el final del estudio (día 30), Los valores máximos para este día corresponden a L.p-2 ($7.6 \pm 0.4 \log \text{ UFC/g}$) y L.a-1 ($6.86 \pm 0.04 \log \text{ UFC/g}$).

De acuerdo al ANOVA existen diferencias significativas ($P < 0,01$), en el factor C. La comparación múltiple determino que no se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los grupos de filete tratados con BAL, mientras que si existieron diferencias significativas ($P < 0,5$) entre los tratamiento con BAL y los grupos control.

La Figura 4 muestra el comportamiento de los microorganismos psicrófilos durante el tiempo de almacenamiento, durante los primeros diez días se observó un crecimiento en todos los tratamientos, alcanzando los

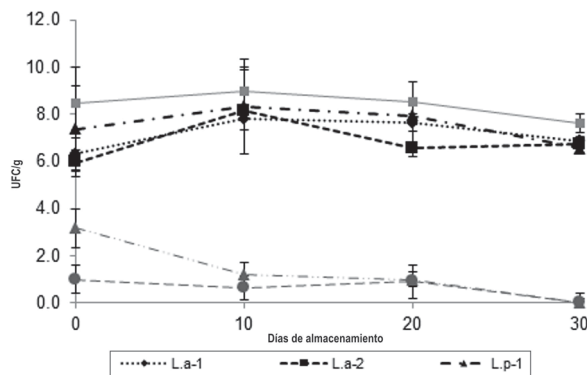


Figura 3. Recuento de Bacterias Lácticas durante el almacenamiento de filetes bioconservados de tilapia

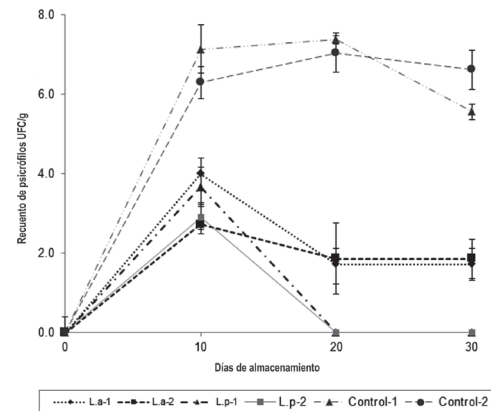


Figura 4. Recuento de Psicrófilos durante el almacenamiento de filetes bioconservados de tilapia

valores máximos en los tratamientos control con valores de $7.14 \pm 0.6 \log \text{ UFC/gr}$ $6.3 \log \pm 0.4 \text{ UFC/gr}$ respectivamente, mientras que los valores reportados para el mismo periodo en tratamientos con BAL fueron más bajos alcanzado un máximo de $4.0 \pm 0.74 \log \text{ UFC/g}$ (T₁). Para el día 20 se observó una reducción total de los psicrófilos en los tratamientos L.p-1 y L.p-2 y una disminución en L.a-1 y L.a-2, con $1.72 \log \pm 0.5 \text{ UFC/g}$ y $1.86 \log \pm 0.9 \text{ UFC/g}$, y un aumento para el control 1 ($7.38 \log \pm 0.1 \text{ UFC/g}$) y control 2 ($7.05 \pm 0.5 \log \text{ UFC/g}$), comportamiento que se mantuvo hasta el día treinta de almacenamiento. El análisis multivariado mostro que no existe diferencias significativas entre los tratamientos con BAL ($p > 0,05$), mientras que si se presentaron diferencias significativas entre los grupos control y los filetes tratados con BAL ($P < 0.01$). El ANOVA mostro diferencias significativas ($P < 0,01$) en las interacciones Producto impregnado x tiempo de almacenamiento y tiempo de impregnación por tiempo de almacenamiento.

De las cepas estudiadas, *L. plantarum* presentó la mayor capacidad de inhibición del deterioro microbiano de filetes de tilapia hasta por 20 días de almacenamiento refrigerado. En cuanto al tiempo de impregnación, dado que no hubo una diferencia significativa entre 1 y 2 horas, se considera que 1 hora es más eficiente en términos de tiempo de producción. Por lo anterior, se recomienda como método de bioconservación para filetes de tilapia la impregnación con un inóculo de *L. plantarum* durante una hora, para la obtención de una vida útil de 20 días.

Discusion

Los valores obtenidos para los recuentos de mesófilos son mayores a los reportados para filetes de tilapia

(Parias, 2008). En este sentido un recuento de 6 log UFC/g es considerado como indicador de deterioro (Membre *et al.*, 2005; Fernández-Segovia, 2007), sin embargo se debe tener en cuenta que la impregnación a la que fueron sometidos los filetes generó un aumento en los valores iniciales de BAL que hacen parte del el recuento de mesófilos y se considera un producto semiprocésado, coincidiendo así a lo expuesto por Huss, (1997) que afirma que para productos bio-preservados, el recuento total de bacterias no puede considerarse como un indicador de deterioro.

Se pudo observar un control del crecimiento de los microorganismos psicrófilos, para ambas cepas estudiadas. Los resultados indican que el producto se encontró en rangos aceptables para esta variable hasta el día 30, con valores menores a los reportados para tilapia, 6,1 log UFC/g. (Barriga *et al.*, 2005), y trucha, 6 log UFC/g, empacadas al vacío y almacenadas a temperatura de refrigeración por 22 y 27 días respectivamente (Lyhs, *et al.*, 2005) y para tilapias sometidas a recubrimiento con quitosano refrigeradas por 30 días (7,36 log UFC) (da Silva *et al.*, 2017)

De otra parte en los filetes tratados con la cepa *L. plantarum*, el grupo de los psicrófilos, fue inhibido completamente, lo cual indica el efecto bactericida ejercido, por la cepa en el presente estudio, mientras que los tratamientos con *L. acidophilus*, no lograron inhibir totalmente este grupo de microorganismos, pero si reducir su crecimiento, sugiriendo así un efecto bacteriostático.

El control de este grupo de bacterias en los filetes es un aspecto relevante en la vida útil de los productos pesqueros, teniendo en cuenta que gran parte de los microorganismos indicadores del deterioro pertenecen a este grupo (Lyhs, *et al.*, 2005). Resultados similares son reportados por Altieri, *et al.*, (2005), en filetes de lenguado bioconservados con una mezcla de bifidobacterias y thymol Suarez y Beirao, (2008) con el uso de la bacteriocina producida por *L. plantarum*, reportaron un efecto bacteriostático en filetes de cachama empacadas al vacío después de 30 días de almacenamiento. De otra parte los valores obtenidos son menores a los reportados para otros estudios de vida útil bajo otras técnicas de conservación como las atmósferas modificadas; tilapia almacenadas 18 días en hielo, (6.5 log UFC/g) (Guerra *et al.*, 2012), bacalao refrigerado por 28 días (1.69 log CFU/g), (Fernández-Segovia, *et al.*, 2007).

Similares resultados a los reportados para las psicrófilos se observaron en el grupo de entéricos no fermentadores. Teniendo en cuenta que recuentos superiores

a 10^3 , UFC/g son considerados como máximos para determinar que el producto comienza su deterioro, se puede considerar que *L. plantarum* y *L. acidophilus*, ejercieron un control bacteriostático sobre los coliformes totales hasta el día veinte, logrando así mantener las condiciones microbiológicas aceptables del producto.

Para ambas cepas estudiadas en el presente trabajo se confirma la actividad antimicrobiana característica de las BAL, originada por la producción de ácidos orgánicos, y/o bacteriocinas (Casas y Dobrogsz, 2000, Estrada *et al.*, 2005)

Los valores iniciales de recuento de BAL indicaron que la inmersión de los filetes en los inóculos con bacterias de tipo *Lactobacillus*, lograron aumentar la presencia de los microorganismos, reportándose valores superiores a los reportados para productos pesqueros donde las bacterias ácido lácticas no excedieron los 2 ciclos log, (Tome *et al.*, 2008). Es importante resaltar que aunque las BAL presentaron un incremento en el recuento solo hasta el día diez de almacenamiento, su efecto antagónico sobre los otros grupos de bacterias si se vio evidenciado hasta el final del estudio, probablemente debido a la producción de ácido láctico.

Los resultados obtenidos sugieren que bajos las condiciones del estudio las dos especies de *Lactobacillus*, son capaces de inhibir y/o disminuir la cinética de crecimiento microbiano en especial del grupo de psicrófilos y coliformes totales, efecto que puede estar originado de una parte por la producción de ácidos orgánicos y de otra por la producción de bacteriocinas (Maldonado *et al.*, 2005, Rodríguez y Schobitz, 2009), coincidiendo así con los estudios realizados con bacteriocinas en salmón, trucha, sardinas y cachamas (Suarez y Beirao, 2008; Rodríguez *et al.*, 2009; Tahiri *et al.*, 2009). El comportamiento presentado por las cepas empleadas corroboran, los reportes de Bromber *et al.*, 2004; Bakar *et al.*, 2008, referentes a que especies de este género son antagonistas de microorganismos patógenos y deterioradores en producto de pescado.

El presente trabajo demostró la actividad antagónica que inóculos de las bacterias del genero *Lactobacillus* ejercen sobre los grupos de bacterias causantes de deterioro en filetes de tilapia nilótica empacados al vacío y mantenidos bajo refrigeración por un periodo de veinte días, permitiendo así extender el periodo de vida útil del filete fresco.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural por la financia-

ción del programa Mejoramiento en la producción, sanidad y comercialización de la tilapia mediante el uso de probióticos Cod: 2007U4664-933, del cual hizo parte este trabajo, y a los miembros de la alianza para el desarrollo del mismo: Universidad del Valle, Asociación de Acuicultores de los Llanos, Meta Fish Food Company.

Referencias

- Altieri CB, Speranza MA, Sinigaglia M. Sutiability of bifidobacteria and thymol as biopreservatives in extending the shelf life of fresh packed plaice fillets. *J Appl Microbiol.* 2005;99:1294-1302
- Aras H, Kaban G, Husar O, Yanik T, Kaya M. Effect of Lactobacillus sakei Lb706 on Behavior of Listeria monocytogenes in Vacuum-Packed Rainbow Trout Fillets. *Turk J Vet Anim Sci.* 2005;29:1039-1044.
- AOAC. Sociedad Americana de Químicos Analistas. 1990. Official Methods of Analysis AC International, 17th, Gaithersburg MD, USA. . 1999. Fish and Other Marine Product. 864-887.
- APHA, American Public Health Association. 1992, Standard methods for the examination of dairy products. Editado por R. T. Marshall. 16ª Edición Washington D. C., American Public Health Association. Pp. 546
- Barriga M, Cueto M, Llave I, Romero E. Evaluación de filetes de tilapia *Oreochromis niloticus* envasados en atmosferas modificada tilapia. *Boletín Investigaciones Instituto Tecnología pesquera, Perú.* 2005;(7):91-100.
- Bromberg RI, Moreno C, Lopes-Zaganini, Delboni R, De Oliveira J. 2004. Isolation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from meat and meat products and its spectrum of inhibitory activity. *Braz J Microbiol.* 2004;(35):137-144
- Bakar MR, Dubois-Dauphin E, Dortu C, Destain J, Tine J, Thonart P. *In vitro* detection and characterization of bacteriocin like inhibitory activity of lactic acid bacteria (LAB) isolated from Senegalese local food products. *Biotechnol Agron Soc Environ.* 2008;11(4):275-281.
- Bromberg RI, Moreno C, Lopes-Zaganini, Delboni R, De Oliveira J. Isolation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from meat and meat products and its spectrum of inhibitory activity. *Braz J Microbiol.* 2004;(35):137-144.
- Casas I, Dobrogosz W. Validation of the probiotic concept: Lactobacillus casei confers broad spectrum protection against disease in humans and animal. *Microb Ecol Health Dis.* 2000;12:47-285.
- EFSA- European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Zoonoses Data Collection Reports [http:// www.efsa.europa.eu/en/sc-doc/137.htm](http://www.efsa.europa.eu/en/sc-doc/137.htm)
- Erkan N, Üretener G. The effect of high hydrostatic pressure on the microbiological, chemical and sensory quality of fresh gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Eur Food Res Technol.* 2010;230(4):533-542.
- Erkan N. The Effect of Thyme and Garlic Oil on the Preservation of Vacuum-Packaged Hot Smoked Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Bioprocess Tech.* 2007;3(1):1-9.
- Emborg J, Dalgaard P, Ahrens P. Morganela Psicrotolerance sp. Nov. a histamine-producing bacterium isolated from various sea foods. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2006;56:2473-2479.
- Erkan N, Ehnaz S, Tosun Y, Ulusoy SA, Gonca U. The use of thyme and laurel essential oil treatments to extend the shelf life of bluefish (*Pomatomus saltatrix*) during storage in ice. *J Verbr Lebensm.* 2011;6:39-48.
- Estrada A, Gutiérrez L, Montoya O. Evaluación in vitro de cepas nativas de Lactobacillus sp. Contra Salmonella sp y Escherichia coli. *Rev Fac Nac Agron.* 2005;58:12601-2609.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura, 2018. Estado Mundial de la Pesca y Acuicultura. Cumplir los objetivos del desarrollo sostenible. Roma. 250.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2014. Estado Mundial de la Pesca y Acuicultura. Oportunidades y desafíos. Roma, 274 .
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2012. Estado Mundial de la Pesca y Acuicultura. Roma, 251
- Fernandez-Segovia I, Escriche I, Fuentes A, Sera JA. Microbial and sensory changes during refrigerated storage of desalted cod (*Gadus morhua*) preserved by combined methods. *Int J Food Microbiol.* 2007;116:64-72.
- Footitt RJ, Lewis AS. 1999. Enlatados de Pescado y Carne. Editorial Acribia. Zaragoza. 333p.
- Gomez, E. 2013. Aislamiento, identificación y actividad antimicrobiana de bacterias lácticas bacteriocinogénicas de origen marino : caracterización bioquímica y genética y producción heteróloga de las curvacinas g14 y g15 de lactobacillus curvatus bcs35. Universidad Complutense. Madrid. 561.
- Gómez-Salas B, Herranz C, Díaz-Freitas B, Hernández P, Sala A, Cintas L. 2016. Strategies to increase the hygienic and economic value of fresh fish: Biopreservation using lactic acid bacteria of marine origin. *International Journal of Food Microbiology.* Vol. 223, Pages 41-49.
- Gram L, Huss H Microbiological spoilage of fish. *Int J Food Microbiol.* 1996;33:121-137.
- Guerra M, Teixeira E, Teixeira CE, Borges S, Conte C, Carvalho E. Validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados. *Cienc. Rural.* 2012;42(4):737-743.
- Huss, HH. 1997. Aseguramiento de la calidad de productos pesqueros. Doc técnico FAO. 334. 174 p.
- INVIMA. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos INVIMA. 1988. Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológica de alimentos para consumo humano. Bogotá
- Jurado H, Aguirre D, Ramirez C. Caracterización de Bacterias Prebióticas aisladas del intestino grueso de cerdo como alternativa al uso de antibióticos. *Revista MVZ Cordoba* 2009;14(2):1723-1735.

- Leroi F, Joffraud JJ, Chevalier F, Cardinal M. Research of quality indices for cold-smoked salmon using a stepwise multiple regression of microbiological counts and physicochemical parameters. *J Appl Microbiol.* 2001;90:578-587.
- Leelapongwatta K, Benjakul S, Vissessaguan W, Decker E. 2005. Physicochemical and biochemical changes in whole lizardfish (*Saurida micropectoralis*) muscles and fillets during frozen storage. *Journal Food Biochemical.* 29: 547-569.
- Løvdal T. 2015 The microbiology of cold smoked salmon. *Food Control* 54:360-373.
- Lyhs U, Latineen J, Fredriksson-Ahomaa M, Hyytia-Trees E, Elfving K, . Microbiological quality and shelf-life of vacuum-packaged 'gravad' rainbow trout stored at 3 and 8 °C. *Int J Food Microbiol.* 2001; 70:221-230.
- Mataragas MP, Skandami, Drosinos E. Risk Profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen product combinations. *Int J Food Microbiol.* 2008;101:1-12.
- Membré J, Leporq B, Vialette M, Mettler E, Perrier L, Thuault D, Zwietering M. Temperature effect on bacterial growth rate: quantitative microbiology approach including cardinal values and variability estimates to perform growth simulations on/in food. *Int J Food Microbiol.* 2005;100(1-3):179-186.
- Mengsha G, Lifang F, Tianjia J, Junli Z, Linglin F, Dongxia Y, Jianrong L. The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano *Trachinotus ovatus* fillet during chilled storage. *Food Control.* 2014;37:1-8.
- Montalvo C. 2010. Bioconservación de cárnicos de cerdo con bacterias ácido lácticas. Tesis de Maestría. Universidad del Valle. Facultad de Ingeniería de alimentos. Cali. p.99
- Montalvo Rodríguez C. 2014. "Impregnación al vacío de filetes de tilapia (*Oreochromis* sp.) con bacterias con bacterias ácido lácticas y su efecto sobre las características de calidad en almacenamiento refrigerado". Doctorado in Ingeniería. Universidad del Valle Colombia
- Olafsdottir G, Lauzon HL, Martinsdottir K. Influence of storage temperature on microbial spoilage characteristics of haddock fillets (*Melanogrammus aeglefinus*) evaluated by multivariate quality prediction. *Int J Food Microbiol.* 2006;111:112-125.
- O'Sullivan L, Ross R, Hill C. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie.* 2002;84:593-604.
- Prapaiwong N, Wallace RK, Arias CR. Bacterial loads and microbial composition in high pressure treated oysters during storage. *Int J Food Microbiol.* 2009;131:145-150.
- Parías CYJ. 2008. Caracterización Físico - Química y Microbiológica de Filetes de Tilapias Fenotípicamente Rojas y Negras, Criadas en Condiciones de Cautiverio. Tesis de Grado. Facultad Ingeniería de alimentos. Universidad de Oriente. Monagas. Venezuela. 630 p.
- Ramírez C. 2005. Uso de bacterias lácticas probióticas na alimentação de camarões *Litopenaeus vannamei* como inibidoras de microrganismos patogênicos e estimulantes do sistema imune. Universidade Federal do Paraná.
- Rodríguez D, Schobitz R. Película antimicrobiana a base de proteína de suero lácteo incorporada con bacterias lácticas como controlador de *Listeria monocytogenes*, aplicada sobre salmón ahumado. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial.* 2009;7(2):49-54.
- da Silva Santos FM, da Silva AIM, Vieira CB, et al. Use of chitosan coating in increasing the shelf life of liquid smoked Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillet. *J Food Sci Technol.* 2017;54:1304-1311. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2570-3>.
- da Silva Santos FM. 2014. Utilização de quitosana no revestimento de filés de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) e na preparação de filmes incorporados com óleos essenciais. (Tesis) para obtener título de Doctor en Bioquímica y Fisiología, Universidade Federal de Pernambuco. Recife .Pp.149
- Suarez HD, Beirao FA. Influencia de bacteriocinas producidas por *Lactobacillus plantarum* lpbm10 sobre la vida útil de filetes del híbrido de cachama *Piaractus brachipomus x Colossoma macropomum* empacado al vacío. *Revista Facultad Química Farmacéutica Universidad de Antioquia. Vitae.* 2008a;15(1):32-40.
- Suarez H, Pardo MS, Cortes RM. Calidad físico-química y atributos sensoriales de filetes sajados biopreservados de cachama empacado al vacío bajo refrigeración. *Rev Colomb Cienc Pec.* 2008b;21:330-339.
- Tahiri I, Desbiens M, Kheadr E, Lacroix C, Fliss C. Comparison of different application strategies of divergicin M35 for inactivation of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked wild salmon. *Food Microbiol.* 2009;26:783-793
- Tome E, Vera L, Lopes C, Gibbs P, Teixeira P. In vitro tests of suitability of bacteriocin-producing lactic acid bacteria, as potential biopreservation cultures in vacuum-packaged cold-smoked salmon. *Food Control.* 2008;535-543.