

Efecto del uso de bacterias ácido lácticas en la inhibición del deterioro microbiológico de filetes de tilapia roja (*Oreochromis sp.*)

Effect of the use of lactic acid bacteria on the inhibition of microbiological deterioration of red tilapia fillets (Oreochromis sp.)

AUTORES: Viviana Talledo Solórzano^{1*}

Leonardo Chavarría Minaya²

Sebastián Zambrano González³

Gerardo Cuenca Nevárez⁴

DIRECCIÓN PARA CORRESPONDENCIA: * vivyger@hotmail.com

Fecha de recepción: 28 / 09 / 2020

Fecha de aceptación: 28 / 12 / 2020

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto del uso de bacterias ácido lácticas (BAL), en la inhibición del deterioro microbiológico de filetes de tilapia roja (*Oreochromis sp.*), para lo cual se analizaron dos géneros de BAL (*Streptococcus termophilus* y *Lactobacillus acidophilus*) en dos tiempos de impregnación (1h y 2h). Los filetes se conservaron a temperatura de refrigeración $3\pm 0,5$ °C por 30 días, cada 10 días se evaluaron el pH (6,20 a 6,54); el porcentaje de pérdida de agua fue de (5,91% para el nivel de 1 hora y 5,35% para el nivel de 2 horas). En lo que se refiere a la valoración de las BVT-N todos los tratamientos con BAL tuvieron valores (17,29 y 23,98mg 100g⁻¹) que no sobrepasaron el valor normal de 25 mg 100g⁻¹. En lo que respecta al análisis

¹Ingeniera en Industrias Agropecuarias, Universidad Técnica de Manabí, vivyger@hotmail.com

²Ingeniero Agroindustrial, Universidad Técnica de Manabí, leochavarria_97@hotmail.es

³Ingeniero Agroindustrial, Universidad Técnica de Manabí, andresszamgon1996@hotmail.com

⁴Máster en Gestión y Auditorías Ambientales, Universidad Técnica de Manabí Especializado en Gestión Integral del Agua y Contaminación Marina, gerardo.cuenca@utm.edu.ec

microbiológico, el recuento de mesófilos en los filetes de tilapia tratados con *Lactobacillus* presentó un valor de $5,47 \pm 0,40 \log \text{ UFC g}^{-1}$ y para los tratados con *S. termophilus.*, $5,03 \pm 0,15 \log \text{ UFC g}^{-1}$; para *E. coli.*, los filetes tratados con BAL, concluyeron el análisis con un promedio de $5,17 \pm 0,09 \log \text{ UFC g}^{-1}$ y $3,42 \pm 0,21 \log \text{ UFC g}^{-1}$ para cada uno de los tiempos de inmersión; en ambos casos dentro de los rangos que establece la norma NTE-INEN 183-2013 y en el caso del recuento de BAL se observó una cantidad de $8,04 \pm 0,04 \log \text{ UFC g}^{-1}$ para *L. acidophilus.*, mientras que para *S. termophilus.*, $7,90 \pm 0,03 \log \text{ UFC g}^{-1}$. Ya en lo que respecta al análisis sensorial, los atributos sensoriales que fueron considerados cada 10 días fueron: apariencia, color, aroma y sabor; encontrándose que en los filetes de tilapia tratados con BAL los valores reportados siempre estuvieron por encima del límite de aceptabilidad establecido para el presente estudio que fue cuatro.

Palabras clave: *análisis sensorial, bioconservación, deterioro proteolítico, piscícola, seguridad alimentaria.*

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to determine the effect of the use of lactic acid bacteria in the inhibition of the microbiological deterioration of red tilapia fillets (*Oreochromis sp*), for which two genera of BAL (*Streptococcus termophilus* and *Lactobacillus acidophilus*) were analyzed in two impregnation times (1h and 2h). The fillets were kept at refrigeration temperature $3 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ for 30 days, every 10 days the pH was evaluated (6.20 to 6.54); the percentage of water loss was (5.91% for the 1-hour level and 5.35% for the 2-hour level). Regarding the assessment of BVT-N, all BAL treatments had values (17.29 and 23.98mg 100g^{-1}) that did not exceed the normal value of 125mg 100g^{-1} . Within the microbiological analysis of this study, the mesophyll count in tilapia fillets treated with *Lactobacillus a.*, presented a value of $5.47 \pm 0.40 \log \text{ CFU g}^{-1}$ and for those treated with *S. termophilus.*, $5.03 \pm 0.15 \log \text{ CFU g}^{-1}$; for *E. coli.*, the fillets treated with BAL, concluded the analysis with an average of $5.17 \pm 0.09 \log \text{ CFU g}^{-1}$ and $3.42 \pm 0.21 \log \text{ CFU g}^{-1}$ for each of the times immersion; in both cases within the ranges established by the NTE-INEN 183-2013 norm and in the case of the BAL count we have an amount of $8.04 \pm 0.04 \log \text{ CFU g}^{-1}$ for *Lactobacillus a.*, while for *S. termophilus.*, $7.90 \pm 0.03 \log \text{ CFU g}^{-1}$. Regarding sensory analysis, the sensory attributes that were considered every 10 days

were: appearance, color, aroma and flavor; finding that in tilapia fillets treated with BAL the reported values were always above the acceptability limit established for the present study, which was four.

Keywords: *sensory analysis, bioconservation, proteolytic deterioration, fish farming, food safety.*

INTRODUCCIÓN

El pescado, incluidos los mariscos, aportan el 17% de las proteínas animales y el 7% de todas las proteínas, y es crucial para más de 3 mil millones de personas en los países en desarrollo de acuerdo con Alvarado et al. (2016). El pescado y los productos pesqueros son buenas fuentes de ácidos grasos poliinsaturados, minerales esenciales y vitaminas, y representan un componente importante de la dieta humana, proporcionando casi el 20% de la ingesta diaria promedio de proteína animal para una población aproximada de 3.1 mil millones de personas (FAO, 2016).

El pescado proporciona aminoácidos esenciales de alta calidad, ácidos grasos omega-3 docosahexaenoico y eicosapentaenoico, minerales, especialmente hierro, zinc y vitaminas, a menudo en formas altamente biodisponibles (Golden et al., 2016). A nivel mundial, las tasas de consumo de pescado están creciendo más rápido que el crecimiento de la población mundial, debido al aumento de los ingresos y la conciencia de los beneficios para la salud asociados con el consumo de pescado, así como el aumento de la urbanización (Anderson et al., 2017).

La FAO (2018), sostiene que, a nivel mundial, la actividad de acuicultura ha crecido a un ritmo promedio del 9,2% anual desde 1970, comparado con el 1,4% de la pesca de captura y el 2,8% de los sistemas de producción de carne en tierra firme. Más de 1000 millones de personas en el mundo dependen del pescado como fuente de proteína animal, por lo que se prevé que el consumo por persona año⁻¹, ascenderá desde los 16 kg actuales hasta los 19 a 20 kg en el 2030. La única producción mundial que llega a superar a la producción de la tilapia, es la de la carpa. Si bien el producto tilapia en su gran mayoría proviene de cultivo, tanto de los países latinoamericanos como los asiáticos; también existen pesquerías de esta especie.

Dentro de los países latinoamericanos, México lleva la delantera en cuanto a consumo de pescado de captura, con un 90% y por el otro lado su producción proveniente de cultivo (que en el 2002 se encontraba por debajo del 11%), creció últimamente hasta un 15% (INFOPECA, 2006). Por su parte, Brasil mantiene un ritmo de crecimiento anual del 26% para su sector acuícola total y el cálculo para el 2030, llevaría a duplicar su producción, incrementándose fuertemente el número de piscicultores que cultivan en estanques, represas, lagos, canales de riego, entre otros (Ragnar y Darryl, 2019).

De acuerdo con Fernández y colaboradores en (2007); la tilapia roja, como todo organismo acuático es susceptible de daños de carácter oxidativo, autolítico y microbiano que producen cambios significativos en su tiempo de vida útil para el consumidor y en su calidad sensorial (olor, sabor, apariencia y textura). Es así como Olafsdottir et al. (2006); analiza que a través del tiempo, se han desarrollado diversos mecanismos para la conservación del pescado que contribuyen a la inocuidad, reducen el deterioro, alargan su vida útil, dan valor agregado e influyen en las propiedades sensoriales para su distribución y comercialización alrededor del mundo; entre éstos mecanismos, se encuentran la reducción de la temperatura (enfriamiento, refrigeración y congelación), tratamiento térmico (enlatado, cocción y ahumado), reducción del agua disponible (secado, salazón, ahumado) y reducción de pH (escabechado, fermentación).

El uso de Bacterias Ácido Lácticas (BAL), es de gran importancia dentro de la industria alimentaria, sobre todo en lo que respecta a la conservación de productos y mejorador de las características sensoriales de los mismos (Bromberg et al., 2004). Por tanto, las BAL y sus metabolitos, se están usando en la producción de alimentos debido a su estabilidad en condiciones de procesamiento (pH, temperatura, salinidad, atmósfera de empaque), ya sea de manera aislada o en combinación con tratamientos fisicoquímicos, con bajas concentraciones de conservadores químicos naturales o tradicionales, con el propósito de prolongar la vida de anaquel, conservar la calidad nutricional, contribuir a características organolépticas y calidad microbiológica del alimento contra microorganismos patógenos y responsables del deterioro. La presente investigación, tiene como objetivo el de determinar el efecto del uso de bacterias ácido-lácticas en la inhibición del deterioro microbiológico de filetes de tilapia roja (*Oreochromis sp.*).

METODOLOGÍA

Localización

La presente investigación se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Zootécnicas de la Universidad Técnica de Manabí, ubicada en el kilómetro 2 ½ del sitio Ánima vía Boyacá, en el cantón Chone, provincia de Manabí. El Laboratorio de Microbiología, se localiza en las coordenadas geográficas 0,687765 X y 80,124502 Y; con un potencial de evapotranspiración de 107,04mm, una temperatura promedio anual de 25,2°C y precipitación promedio anual de 54,63mm (Cabrera, Pérez y Moreira, 2017).

Material de análisis

Para el presente trabajo de investigación, se tomaron ejemplares de tilapia roja (*Oreochromis* sp.) con un peso promedio de 550g; dichos ejemplares fueron eviscerados usando un cuchillo limpio, obteniendo un filete de 192,5g en promedio. Los filetes mantuvieron la piel con la finalidad de darle estabilidad a los mismos.

Una vez obtenidos los filetes, se les realizó cortes perpendiculares con una separación de 5mm entre cada corte para que la impregnación de estos con BAL. Las BAL (*S. termophilus* y *L. acidophilus*), fueron obtenidas en la Corporación Codan. Luego, las cepas fueron cultivadas en tubos de ensayo que contenían 10mL de caldo Man, Rogosa y Sharpe (MRS), para lo cual se disolvieron 27,63g de polvo en 500mL de agua destilada en una proporción al 10% v/v; luego se llevó a incubación por 24 horas a 35°C (Montalvo, 2014). Los tratamientos, quedaron estructurados tal como se detalla a continuación:

Factor 1: Producto impregnado, con dos géneros de BAL: Lactobacillus, Streptococcus y el respectivo control, producto sin BAL.

Factor 2: Tiempo de impregnación, con dos tiempos: 1 y 2 horas (Tabla 1).

Estos dos factores formaron la estructura factorial del sistema de parcelas completas, en tanto, que el tercer factor fue el tiempo de almacenamiento 0, 10, 20 y 30 días.

Tabla 1. Tratamientos considerados en la conservación de filetes de tilapia roja (*Oreochromis sp.*).

Tratamiento	Cultivo impregnado (Género)	Tiempo de impregnación (h)
C1	Sin cultivo (control)	1
L1	Lactobacillus	1
S1	Streptococcus	1
C2	Sin cultivo (control)	2
L2	Lactobacillus	2
S2	Streptococcus	2

Fuente. Elaboración propia.

Cada filete impregnado, fue empacado al vacío en bolsas de poliéster transparente (PET) calibre 12/60, sello U, Zipack, marca Multipack, con certificación ISO 9001:2008 (Manuli Fitasa, Brasil) y usando una cámara al vacío de acero inoxidable con bomba de vacío de alta capacidad ($20\text{m}^3 \text{h}^{-1}$), modelo VM400TE/B de 440 x 420 x 75mm y barra de sellado doble de 400 x 100mm, de marca FinTeck S.A.

Posteriormente, se almacenó a temperaturas de refrigeración a $3 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ por 30 días. Los análisis fueron realizados a los 0, 10, 20 y 30 días de almacenamiento. Los filetes fueron sometidos por triplicado a un análisis físico-químicos y sensoriales.

Parámetros físico-químicos

Análisis de pH

Este parámetro, se determinó usando un potenciómetro marca Orion A:211 (Thermo Scientific™, Estados Unidos) provisto de un electrodo de 6mm, insertando el electrodo directamente en el filete de la tilapia.

Porcentaje de pérdida de agua

A partir de la modificación de la ecuación de Roth et al. (2006); se pesaron los filetes en las fechas de análisis establecidas, determinando el peso inicial y final, de la siguiente manera:

$$\% \text{ Pérdida de agua} = \frac{W_{if} - W_{ff}}{W_{if}} * 100 \quad (1)$$

Donde, W_{if} = Peso inicial del filete; W_{ff} = Peso final del filete.

Análisis de las bases volátiles totales de nitrógeno

Para llevar a cabo este análisis, se procedió a pesar 10g de filete de pescado, el mismo que se molió con 50mL de agua destilada usando un mini procesador de alimentos marca Oster; el material formado, fue transferido a un matraz de 500mL con 200mL de agua destilada. Esta mezcla, se destiló adicionando previamente 2g de MgO y para prevenir la formación de espumas se adicionó gota de silicona. El producto destilado, se dispuso en un matraz de 250mL, el cual previamente en su interior tenía una solución de ácido bórico al 3% más 0,04mL de rojo de metilo y azul de metileno como indicadores de la presencia de amonio. El destilado recogido, fue llevado a un volumen de 125mL. Cabe indicar que la solución de ácido bórico cambia a color verde cuando el destilado es alcalino producto de la presencia de bases volátiles totales de nitrógeno. A continuación, se adiciono una solución 0,1N de ácido hidroclicórico gota a gota hasta que se realizó el viraje de color del destilado a rosado (Goulas y Kontominas, 2007).

La cantidad de bases volátiles totales de nitrógeno en mg 100g⁻¹ de filete de pescado se calculó a partir del volumen de ácido hidroclicórico 0,1N adicionado, tal como se demuestra en la presente ecuación.

$$\% \text{ mg BVTN} = \frac{(V * C * 14 * 100)}{10} \quad (2)$$

Donde, V = Volumen de ácido hidroclicórico añadido; C = Concentración del ácido hidroclicórico (N); 14 = Peso molecular del N; 10 = Peso del filete tomado como muestra.

Parámetros microbiológicos

Para la realización de los ensayos microbiológicos, se procedió a pesar 10g de filete de tilapia, como muestra que se macero en 90mL de agua de peptona, con la finalidad de realizar las diluciones seriadas para cada uno de los grupos bacterianos a analizar (APHA., 1992).

Recuento de microorganismos mesófilos

Este análisis se lo realizó usando Agar Plate Count (APC) para lo cual se realizó un sembrío en estrías para posteriormente incubarlo por 48 horas a 35°C. Pasado este tiempo, se realizó un conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (log UFC g⁻¹).

Recuento de coliformes

La metodología llevada a cabo para realizar esta determinación fue la del Número más Probable (NMP g^{-1}), para lo cual se utilizaron tubos de ensayo que en su interior tenían introducidos campanas de Durham de forma invertida, posteriormente se incubaron por 48 horas a 35°C. Se tomaron como valores presuntamente positivos los tubos que presentaron turbidez o presencia de gas, luego, la presencia de coliformes se confirmó usando para tal efecto el reactivo de Kovacs, a continuación, se inocularon los tubos positivos en caldo Lactosa Bilis Verde Brillante y se incubaron por 48 horas a 35°C, en esta ocasión, los tubos de ensayo en los que se evidenció turbidez y producción de gas fueron determinados como positivos, estos fueron sembrados en Agar Eosina Azul de Metileno (EMB), luego se los sometió a incubación por 24 horas como prueba confirmatoria de la presencia o ausencia de *E. coli*.

Recuento de BAL

Este análisis se llevó a cabo, usando cajas Petri con agar selectivo Man, Rogosa y Sharpe (MRS) con azul de anilina, posteriormente, se incubó a 35°C durante 48 horas. Luego se realizó el respectivo conteo de UFC por gramo de muestra ($\log UFC g^{-1}$).

Análisis sensorial

Para la realización del análisis sensorial, se tomaron los diversos tratamientos de acuerdo a los tiempos de almacenamiento y tiempo de impregnación de BAL en los filetes de tilapia roja. Para este fin, se cortaron pequeños trozos de filete del tamaño de un bocado, luego estas porciones fueron empanadas y fritas. Posteriormente, se enfriaron a temperatura ambiente y se sirvieron en platos desechables previamente rotulados con el nombre de los tratamientos que se investigaron; además, se sirvió un vaso con agua para poder hacer las cataciones entre los diversos tratamientos. El panel sensorial, estuvo compuesto de treinta y cinco panelistas semientrenados, los cuales evaluaron los atributos de color, aroma, sabor y textura. Para este propósito, se realizó una escala hedónica de 9 puntos (Amerine *et al.*, 1965); y usada por Suárez, *et al.*, en (2008); donde la calificación de 1 es “me disgusta extremadamente” y 9 “me gusta extremadamente”: Se tomo el valor de 4 como referente mínimo de aceptabilidad.

Análisis estadístico

Para la impregnación de los filetes de tilapia roja con BAL, se organizó un diseño de parcelas divididas con tres factores 3x2x4, siendo el primero los tres niveles con Lactobacillus, Streptococcus y el control; el segundo factor fue el tiempo de impregnación de los filetes con BAL (1 y 2 horas) y el tercer factor el tiempo de almacenamiento (0, 10, 20 y 30 días), cabe indicar que el modelo se lo realizó por triplicado, lo que permitió comprobar la normalidad con el test de Shapiro-Wilks. Así mismo, se empleó la prueba de ANOVA al 95% de nivel de confianza, Por último, se llevó a cabo comparaciones múltiples utilizando la prueba de mínimas diferencias significativas (LSD). Para llevar a cabo esta investigación, se empleó el software Statgraphics. (Statistical. Graphics. Corp. Rockville, USA). (Montgomery, 2004).

RESULTADOS

Parámetros físico químicos de los filetes de tilapia roja (Oreochromis sp)

Análisis del pH

En la Figura 1, se observan los valores hallados en el pH de los filetes de tilapia roja analizados en el presente estudio, determinan que este parámetro fluctuó entre 6,20 a 6,54 tal como se detalla en la figura 2, en la cual se puede corroborar que existió un descenso del pH a medida que avanzaban los días; hasta que, al llegar al final del periodo de almacenamiento, se pudo distinguir que no existió diferencias estadísticas significativas entre los filetes impregnados con BAL x el tiempo de almacenamiento x tiempo de impregnación ($p > 0,05$). En cuanto al uso de BAL en la conservación de filetes de tilapia roja, el valor más bajo de pH se alcanzó con Lactobacillus 6,30, seguido de Streptococcus 6,33 y en tratamiento control con 6,35; por lo que se pudo apreciar que existió diferencias significativas entre los tratamientos al realizar la prueba LDS ($p > 0,05$).

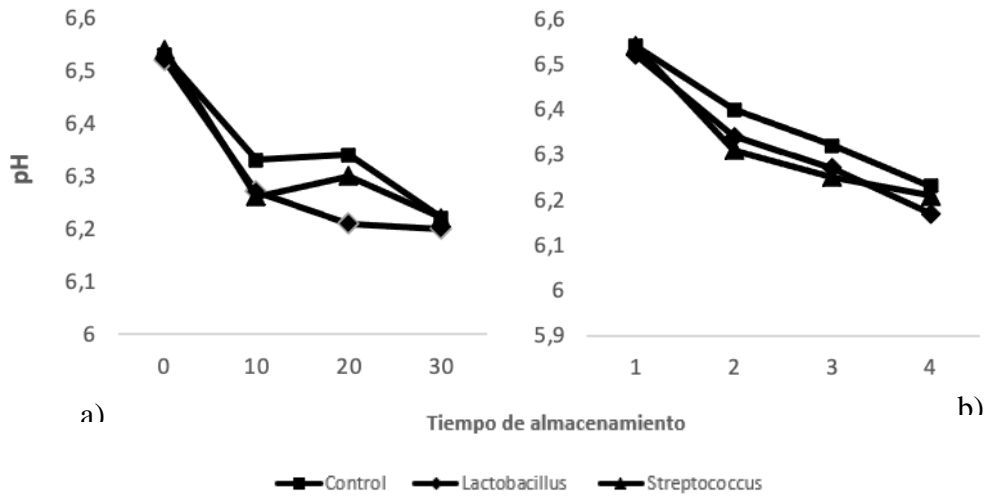


Figura 1. Valores de pH en filetes de tilapia roja (*Oreochromis sp*) conservados con bacterias lácticas (BAL), a) Impregnación de BAL 1 hora; b) Impregnación de BAL 2 horas.

Fuente. Elaboración propia.

Porcentaje de pérdida de agua

Las variaciones en la pérdida de humedad en los filetes de tilapia roja analizados en la presente investigación mostraron significancia estadística ($p > 0,05$). El tratamiento que mayormente evidencia pérdida al final del periodo de almacenamiento para los dos niveles de concentración de BAL, es el que se adicionó *Streptococcus* con 5,91% para el nivel de 1 hora y 5,35% para el nivel de 2 horas (Figura 2).

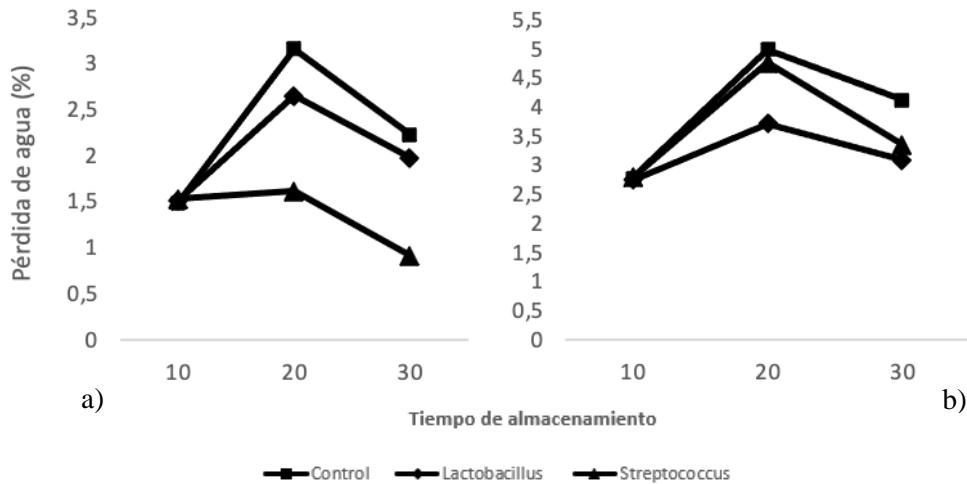


Figura 2. Valores del porcentaje de pérdida de agua en filetes de tilapia roja (*Oreochromis sp*) conservados con bacterias lácticas (BAL), a) Impregnación de BAL 1 hora; b) Impregnación de BAL 2 horas.

Fuente. Elaboración propia.

Análisis de las bases volátiles totales de nitrógeno

El comportamiento del análisis de bases volátiles totales de nitrógeno en filetes de tilapia roja conservadas al vacío con BAL; demuestra que las bases volátiles totales de nitrógeno (BVT-N), vieron incrementado su valor desde 13,99mg BVT-N 100mg⁻¹ (1 hora con BAL) y 14,68mg BVT-N 100mg⁻¹ (2 horas con BAL) en los diversos tratamientos estudiados; en promedio hasta el día 10 hubo un ligero incremento en todos los tratamientos y niveles de concentración de BAL en 19,59 y 21,10mg BVT-N 100mg⁻¹ respectivamente. Al día 20, todos los tratamientos tuvieron incrementos en el valor del BVT-N pero los controles tuvieron valores que sobrepasaron el valor normal (30mg BVN-T 100mg⁻¹). Sin embargo, se observó una disminución de los valores a partir del del día 21 hasta el final del almacenamiento y para cada nivel de concentración de BAL (Figura 3).

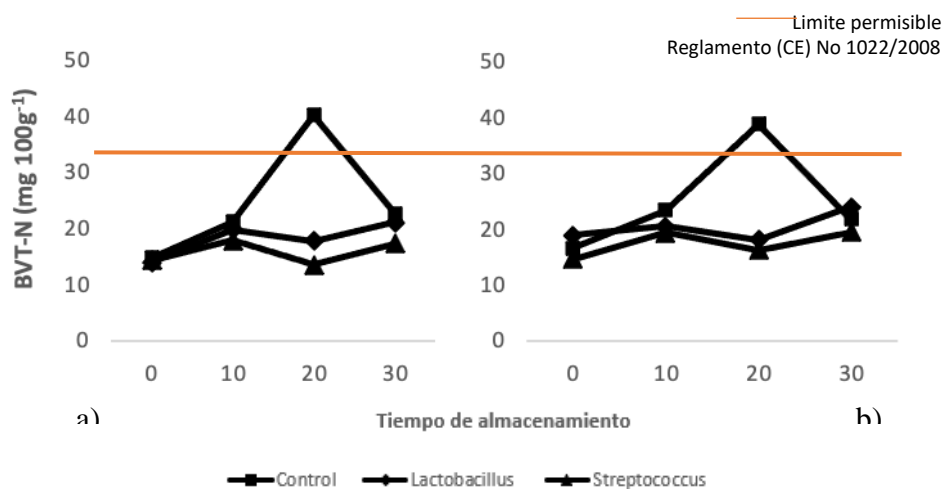


Figura 3. Valores de las bases volátiles totales del nitrógeno (BVT-N) en filetes de tilapia roja (*Oreochromis sp*) conservados con bacterias lácticas (BAL), a) Impregnación de BAL 1 hora; b) Impregnación de BAL 2 horas.

Fuente. Elaboración propia.

Parámetros microbiológicos de los filetes de tilapia roja

Recuento de microorganismos mesófilos

El conteo de microorganismos mesófilos para el día 0 reportó un valor máximo de 7,06±0,65 log UFC g⁻¹, para los tratamientos tratados con BAL, mientras tanto, los filetes de tilapia roja control no superaron las 5,50±0,38 log UFC g⁻¹. En el día 10, se determinó un crecimiento de mesófilos en los tratamientos control con 10,24±0,80 log UFC g⁻¹, en tanto que los tratamientos con BAL demuestran un ligero decrecimiento de estos

microorganismos $6,03 \pm 0,47$ log UFC g^{-1} ; hasta llegar al día 30 donde los filetes de tilapia tratados con *Lactobacillus* presentaron un valor de $5,47 \pm 0,40$ log UFC g^{-1} y para los tratados con *Streptococcus* $5,03 \pm 0,15$ log UFC g^{-1} .

La Figura 4, demuestra el crecimiento de las bacterias mesófilas durante el tiempo de almacenamiento para los seis tratamientos evaluados.

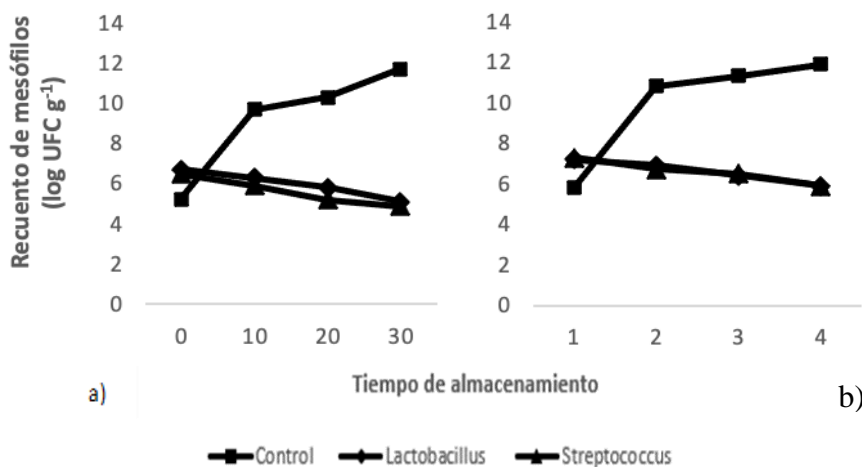


Figura 4. Recuento de microorganismos mesófilos durante el tiempo de almacenamiento de los filetes de tilapia roja (*Oreochromis sp*) conservados con bacterias lácticas (BAL), a) Impregnación de BAL 1 hora; b) Impregnación de BAL 2 horas.

Fuente. Elaboración propia.

Al realizar el análisis de varianza, se demostró que existió diferencias significativas ($p < 0,01$) entre el género de BAL impregnado en el filete de tilapia roja y el tiempo de impregnación por el tiempo de almacenamiento, por lo que se determinó que existió diferencias significativas entre los tratamientos, tal como lo reportan Castillo, *et al.*, en (2017), en una investigación sobre el detrimento microbiológico de filetes de tilapia aplicando BAL. El ANOVA, determinó la existencia de diferencias significativas ($p < 0,01$); entre los filetes de tilapia roja control y las tratadas con BAL; indicando que hay una mayor cantidad de microorganismos mesófilos en estos últimos.

Recuento de *Escherichia coli*

En la presente investigación, se determinó un desarrollo de las UFC de *E. coli*; a los 10 días de almacenamiento de los filetes de tilapia roja, hallándose altos valores de $4,48 \pm 0,36$ y $4,82 \pm 0,10$ log UFC g^{-1} , en tanto que los filetes tratados con BAL los valores fueron

inferiores a las $2,50 \pm 0,04 \log \text{ UFC g}^{-1}$. Para el día 20 hasta el 30 se evidenció un pequeño incremento en todos los tratamientos analizados presentando las siguientes UFC para los filetes control 1 y control 2 ($6,87 \pm 0,16 \log \text{ UFC g}^{-1}$ y $6,7 \pm 0,40 \log \text{ UFC g}^{-1}$ correspondientemente) y los filetes tratados con BAL, concluyeron el análisis con un promedio de $5,17 \pm 0,09 \log \text{ UFC g}^{-1}$ y $3,42 \pm 0,21 \log \text{ UFC g}^{-1}$ para cada uno de los tiempos de inmersión (Figura 5).

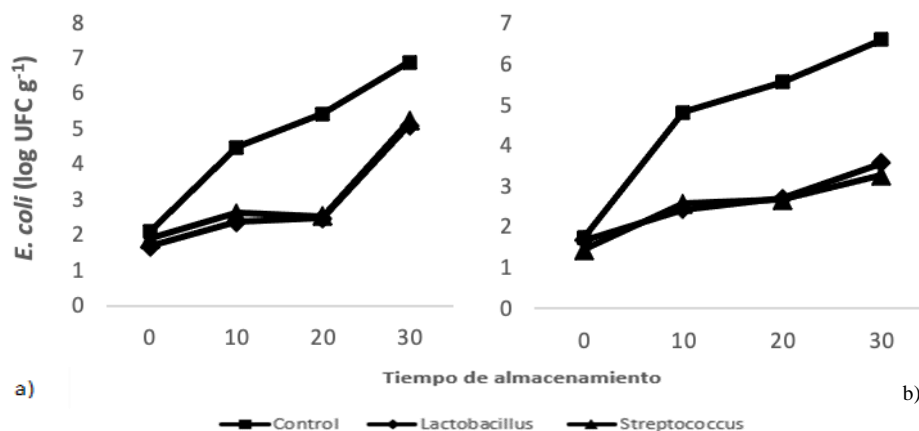


Figura 5. Recuento de *E. coli.*, durante el tiempo de almacenamiento de los filetes de tilapia roja (*Oreochromis sp*) conservados con bacterias lácticas (BAL), a) Impregnación de BAL 1 hora; b) Impregnación de BAL 2 horas.

Fuente. Elaboración propia.

Recuento de bacterias ácido lácticas (BAL)

El recuento de las BAL, presentó un valor inicial de $3,07 \pm 0,03 \log \text{ UFC g}^{-1}$ en el tratamiento control, mientras que los tratamientos con BAL tuvieron en promedio $5,91 \pm 0,04 \log \text{ UFC g}^{-1}$. Avanzando al día 10, se presentó un incremento en la presencia de filetes de tilapia roja tratados con BAL de $9,03 \pm 0,02$ y $8,95 \pm 0,04 \log \text{ UFC g}^{-1}$ para el tiempo de impregnación de 1 hora y los géneros de BAL respectivos; mientras que el control 1 presento una disminución de UFC en $1,93 \pm 0,03 \log \text{ UFC g}^{-1}$. Ya para el día 30 el sistema de impregnación de 1 hora se estabilizó con los siguientes valores para el control con $1,74 \pm 0,03 \log \text{ UFC g}^{-1}$ y para los tratamientos con BAL se presentó con un promedio de $7,99 \pm 0,04$ y $7,04 \pm 0,05 \log \text{ UFC g}^{-1}$ para Lactobacillus y Streptococcus respectivamente. En lo que respecta a los tratamientos de tiempo de impregnación de 2 horas tenemos que para el día 0 el control presentó una cantidad de UFC de $2,96 \pm 0,03 \log \text{ UFC g}^{-1}$, en tanto

que los tratamientos con BAL tuvieron en promedio $5,93 \pm 0,02 \log \text{ UFC g}^{-1}$. Para el día 10 el tratamiento control presentó $1,88 \pm 0,03 \log \text{ UFC g}^{-1}$; en tanto que para los tratamientos con Lactobacillus y Streptococcus tenemos $9,11 \pm 0,02$ y $9,46 \pm 0,03 \log \text{ UFC g}^{-1}$ respectivamente. Así mismo, ya para el día 30 tenemos que el tratamiento control presentó una baja en la cantidad de UFC de $1,31 \pm 0,02 \log \text{ UFC g}^{-1}$; mientras que los tratamientos con BAL demostraron una mayor cantidad de estas con una cantidad de $8,04 \pm 0,04 \log \text{ UFC g}^{-1}$ para Lactobacillus, mientras que para Streptococcus $7,90 \pm 0,03 \log \text{ UFC g}^{-1}$ (Figura 6).

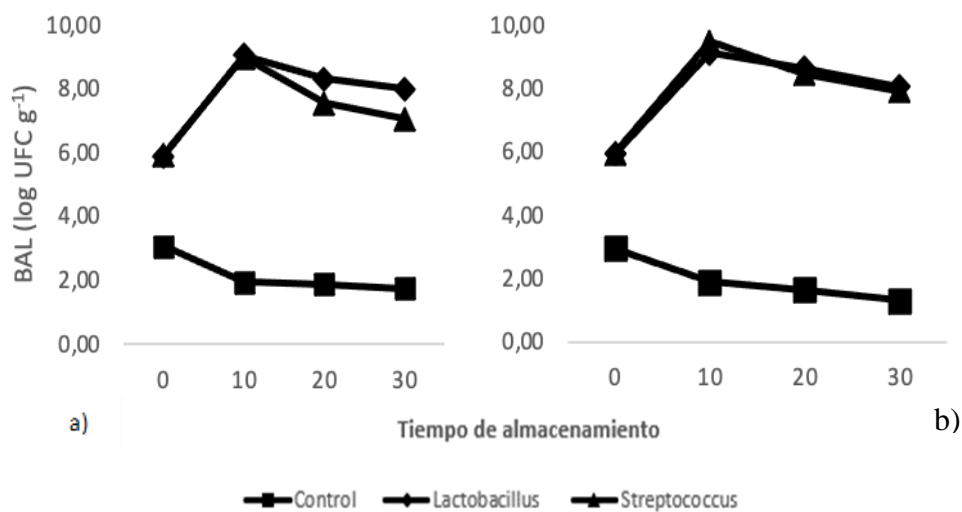


Figura 6. Recuento de BAL durante el tiempo de almacenamiento de los filetes de tilapia roja (*Oreochromis sp*) conservados con bacterias lácticas (BAL), a) Impregnación de BAL 1 hora; b) Impregnación de BAL 2 horas.

Fuente. Elaboración propia.

Análisis sensorial

En la Tabla 2, se puede determinar el comportamiento de los filetes de tilapia roja conservadas con BAL con dos tiempos de impregnación y dos géneros de BAL como conservantes durante 30 días de almacenamiento a temperatura de 4° Celsius. Se puede incidir que a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento, los filetes conservados con BAL tuvieron mejores resultados que los tratamientos control. Los caracteres sensoriales que fueron considerados cada 10 días fueron: apariencia, color, aroma y sabor.

Tabla 2. Atributos sensoriales de los filetes de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) conservados con bacterias lácticas (BAL), a) Impregnación de BAL 1 hora; b) Impregnación de BAL 2 horas.

Atributo	Tratamiento	Día 0	Día 10	Día 20	Día 30
Color	C1	8,7±0,3a	7,2±0,5a	6,7±0,4 ^a , b	5,3±0,6b
	L1	8,8±0,2a	7,9±0,4b	7,2±0,5b, c	6,5±0,5c
	S1	9±0,0a	7,8±0,4b	6,7±0,6c	6,4±0,5c
	C2	8,9±0,1a	7,7±0,4b	6,9±0,4b	4,5±0,3c
	L2	8,5±0,4a	7,9±0,5a	7,1±0,6a	6,7±0,5a
	S2	8,7±0,3a	8±0,0b	6,9±0,5c	5,7±0,5d
Aroma	C1	8,7±0,3a	6,8±0,7b	4,6±0,3c	3,4±0,2b
	L1	8,9±0,1a	7,4±0,4b	6,5±0,6b	5,2±0,5c
	S1	8,4±0,3a	7,9±0,4a	7±0,0b	4,8±0,4c
	C2	8,5±0,4a	7,3±0,4b	4,8±0,5c	3,7±0,3d
	L2	8,7±0,2a	7,9±0,4b	6,5±0,4c	5,4±0,5d
	S2	8,5±0,3a	7,7±0,3b	7±0,0c	6±0,0c
Sabor	C1	8,7±0,2a	6,9±0,4b	5±0,0c	3,1±0,4d
	L1	8,6±0,4a	7,5±0,4b	6,7±0,3c	5,8±0,4d
	S1	8,5±0,3a	7±0,0b	6,9±0,3b, c	4,5±0,5c
	C2	8,3±0,5a	6,9±0,5b	5,2±0,4c	3,4±0,5d
	L2	8,4±0,5a	7,3±0,5b	6,9±0,3b	5,6±0,4c
	S2	8,5±0,4a	7,5±0,4b	7,4±0,3b	5,9±0,4c
Textura	C1	7,9±0,4a	6,5±0,5b	5,4±0,5c	4,1±0,5d
	L1	8,2±0,3a	7,3±0,5b	6,8±0,5b, c	5,8±0,5c
	S1	7,9±0,4a	7,2±0,4a	7,4±0,4a	5,1±0,4b
	C2	8±0,5a	6,1±0,5b	5,1±0,5b	3,3±0,4c
	L2	8±0,4a	7,9±0,3a	6,6±0,3b	5,9±0,3c
	S2	8,3±0,5a	7,4±0,5a	6,2±0,5b	6±0,0b

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, según la Prueba de mínimas diferencias significativas (LSD) al 95% de nivel de confianza.

Fuente. Elaboración propia.

Es así como se nota, que los menores puntajes se obtuvieron para los atributos aroma y sabor, al final del periodo de almacenamiento (30 días), aunque es importante también destacar que los valores reportados siempre estuvieron por encima del límite de aceptabilidad establecido para el presente estudio que fue 4. Sin embargo, los tratamientos con *Streptococcus* por lo general tuvieron mayor aceptación por parte de los catadores ($p < 0,05$). En ninguno de los casos los tratamientos denominados control pasaron las pruebas ya que registraron valores muchas veces por debajo del límite determinado para la aceptabilidad del producto ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

Cabe mencionar, que el valor del pH inicial de los filetes de tilapia roja está acorde a los reportados por Lyhs et al. (2001); en trabajos realizados con trucha arco iris. Es importante destacar, que los valores de pH obtenidos en el presente estudio incluyendo BAL en filetes de tilapia roja, se encuentran dentro de lo establecido en la norma técnica ecuatoriana NTE-INEN 183-1974-04; la misma que establece que el pH que debe presentar un producto bioacuático es de 6,5 en la parte interna del músculo y de 6,8 en la parte externa del mismo. por lo que se determinó que estos valores están dentro de los reportados así mismo por Suárez et al. (2008), en un estudio sobre calidad físico-química de filetes de cachama.

Los valores reportados en torno a este parámetro, tienen relación a un estudio obtenido por Suárez et al. (2008), analizaron las características físico-químicas y sensoriales de filetes de cachama (*Piaractus brachypomus*). Por otra parte, Randell et al. (1997) determinaron que las pérdidas de humedad menores de 3 a 5% no intervienen de manera significativa en la jugosidad del filete de pescado. En este orden de cosas, Silva et al. (2017), determinan que los rangos de pérdida de humedad entre 3 y 5% ayudan a mantener la calidad del pescado y sus propiedades nutricionales; evitando a su vez el deterioro proteolítico del músculo. De acuerdo, con la Comunidad Europea en (2008), un filete de pescado es considerado apto para el consumo humano cuando su contenido de nitrógeno no sobrepasa los $125\text{mg } 100\text{g}^{-1}$. Las muestras en este estudio presentaron valores entre 17,29 y $23,98\text{mg } 100\text{g}^{-1}$. Los incrementos determinados a lo largo del tiempo de almacenamiento de los filetes de tilapia roja podrían estar influenciados por la interrelación entre las bacterias propias del pescado y las bacterias lácticas originadas por los empaques al vacío, tal como lo sugiere en estudio

previo Joffraud et al. (2006). Se pudo determinar que los filetes de tilapia roja conservados con BAL, inhibieron en gran parte el crecimiento de bacterias proteolíticas, tal como lo reporto Basiri et al. (2015) sobre un estudio de conservas de mariscos en especial de camarón.

Los tratamientos control tuvieron un incremento hasta el día 30 de bacterias mesófilas de $11,60 \pm 0,01 \log \text{ UFC g}^{-1}$. Estos valores, están acordes a lo manifestado por Fernandez et al. (2007), quienes determinan que un valor de $6 \log \text{ UFC g}^{-1}$, es considerado como indicador de deterioro; al igual que lo que establece la norma técnica ecuatoriana NTE-INEN 183-2013; donde los rangos aceptables son entre 5,70 a $6 \log \text{ UFC g}^{-1}$. Por lo tanto, se puede determinar que los filetes de tilapia roja sin impregnación de BAL no pasaron la prueba, mientras que los filetes que si fueron impregnados si se establecieron dentro de los rangos que determina la NTE-INEN 183-2013.

Estos valores, tienen relación con los obtenidos por Iriarte y Torres en el (2013), en donde determinan el valor de coliformes, entre ellas *E. coli.*; en filetes, ruedas y trozos de pescado. Cabe destacar, que la normativa técnica ecuatoriana NTE-INEN 183-2013, establece que los límites permisibles van desde $1 \log \text{ UFC g}^{-1}$ hasta $2,70 \log \text{ UFC g}^{-1}$; por lo que en el presente estudio, en los filetes de tilapia roja impregnados con BAL durante 1 hora se estableció un valor de $2,5 \pm 0,04 \log \text{ UFC g}^{-1}$ hasta el día 20, mientras que para los filetes de tilapia impregnados con BAL durante 2 horas el valor fue de $2,69 \pm 0,02 \log \text{ UFC g}^{-1}$ así mismo hasta el día 20. Por lo que es importante destacar que hasta el día 20 de almacenamiento los filetes de tilapia cumplen con dicha normativa técnica

Los valores que se muestran en la presente investigación, tienen relación con los reportados por Castillo et al. (2017) donde estipulan que en filetes de tilapia se hallaron valores de BAL usadas como conservantes entre $5,94 \pm 0,54$ a $8,98 \pm 1,04 \log \text{ UFC g}^{-1}$. A continuación se muestra en detalle el desarrollo de UFC de las BAL en el espacio de tiempo del almacenamiento de los filetes de tilapia roja conservados con BAL y selladas al vacío.

Es importante determinar, que los valores reportados en la presente investigación, están acordes a lo determinado por estudios previos realizados por Valls y Paredes en (2004), sobre la evaluación sensorial de filetes de sardina (*Sardinella aurita* V.) empacados al vacío y congelados a -18°C . Otro de los estudios donde se guarda concordancia con esto valores es el realizado por Alvarado en (2019) donde determina los atributos sensoriales de los filetes

de tilapia sometidos a un sistema de envasado. Otro de los estudios, con el que se guarda relación directa es el Pilet et al. (2005) quienes usaron salmón ahumado y probaron como preservante un extracto crudo de bacteriocinas producidas por *C. divergens* V41; por lo que los resultados de los atributos sensoriales obtenidos en esta investigación tienen un beneficio para la comercialización de tilapia roja.

CONCLUSIONES

El presente trabajo demostró que la utilización de BAL (*Streptococcus termophilus* y *Lactobacillus acidophilus*) como biopreservantes, se vislumbra como una alternativa de uso de estas bacterias dentro de la industria alimentaria habida de impulsar alimentos orgánicos y de procesos saludables para el consumo humano.

Al evaluar el efecto del uso de dos cepas de BAL (*Streptococcus termophilus* y *Lactobacillus acidophilus*) como agente conservante en la conservación de filetes de tilapia roja (*Oreochromis* sp.); se puede determinar que estas BAL son capaces de inhibir el crecimiento bacteriano de especies que intervienen directamente en el deterioro proteolítico del musculo de los pescados, llegando a conservarlos por más tiempo.

La calidad físico-química y microbiológica de los filetes de tilapia impregnados con BAL, permite mantener este producto dentro de lo establecido por la norma técnica ecuatoriana NTE-INEN 183-1974-04 y en lo que respecta a los valores de las bases volátiles totales del nitrógeno (BVT-N), estos valores también se encuentran dentro del rango establecido por el Reglamento de la Comunidad Europea (CE) N° 1022/2008.

Al realizar el análisis sensorial con un panel semi entrenado de los filetes de tilapia roja (*Oreochromis* sp.), se pudo evidenciar que el uso de las BAL como conservante permite mantener en el tiempo (30 días) la calidad de los atributos sensoriales aquí descritos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarado, J.; Ruíz, W.; & Moncayo, E. (2016). Offshore Aquaculture Development in Ecuador. *International Journal of Research and Education 1: 1.6*
- Alvarado, V. (2019). *Mejora del proceso de conservación de los filetes de tilapia refrigerados utilizando un sistema de envasado para la comercialización en los supermercados*. Lima- Perú: Universidad Ricardo Palma Escuela de Posgrado

Maestría en Sistemas de Gestión de la Calidad e inocuidad en la Industria Alimentaria.

- Amerine, M.; Pongborn, R.; & Roescler, E. (1965). *Principles of sensory evaluation of food*. New York: Academic Press.
- Anderson, J.; Asche, F.; Garlock, T.; & Chu, J. (2017). Aquaculture: Its role in the future of food. In *Frontiers of Economics and Globalization*; Emerald Publishing Limited. Bradford, UK, Volume 17, 159-173.
- APHA. (1992). *Standard methods for the examination for dairy products*. Washington D. C.: RT Marshall. XVI Edición.
- Basiri, S.; Shekarforoush, S.; Aminlari, M.; & Akbari, S. (2015). The effect of pomegranate peel extract (PPE) on the polyphenol oxidase (PPO) and quality of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during refrigerated storage. *Food Science and Technology*, 60(2), 1025 - 1033.
- Bromberg, R.; Moreno, C.; Lopes, Z.; & Delboni, R. (2004). Isolation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from meat and meat products and its spectrum of inhibitory activity. *Braz J Microbiol.* (35), 137-144.
- Cabrera, E.; Pérez, R.; & Moreira, J. (2017). Régimen de precipitaciones y evaporación para riego en el Multipropósito Chone, Ecuador. *Riemat 2* (2), 1-10.
- Castillo, A.; Montalvo, C.; Ramírez, C.; & Bolívar, G. (2017). Controle de Deterioração Microbiológica da Tilápia Arquivo Através da Aplicação de Bactérias Lácticas. *Orinoquia*. Vol. 21 # 2, 30-37.
- C.E. (2008). *Reglamento (CE) no 2074/2005 en lo que respecta a los valores límite de nitrógeno básico volátil total (NBVT)*. Bruselas: Reglamento Comunidad Europea (CE) No 1022/2008.
- FAO. (2016). *Food Outlook, Biannual Report on Global Food Markets*. FAO.
- FAO. (2018). *The State of World Fisheries and Aquaculture-Meeting the Sustainable Development Goals*. Rome-Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fernandez, I.; Escriche, I.; Fuentes, A.; & Sera, A. (2007). Microbial and sensory changes during refrigerated storage of desalted cod (*Gadus morhua*) preserved by combined methods. *J Food Microbiol.* 116, 64-72.

- Golden, C.; Allison, E.; Cheung, W.; Dey, M.; Halpern, B.; McCauley, D.; Myers, S. (2016). Nutrition: Fall in fish catch threatens human health. *Nature*, 534, 317-320.
- Goulas, E.; & Kontominas, M. (2007). Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry* 100, 287-296.
- INFOPECSA. (2006). *VI Reunión del Comité Ejecutivo de INFOPECSA*. Santiago de Compostela, España: InfoPesca.
- Iriarte, M.; & Torres, M. (2013). Incidence histamine and hygienic quality indicators's bacteria in fillets, slice and pieces pelagic fish's marketing in one fish's market of Margarita's Island (Venezuela). *Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" Vol 44, N° 1*, 15-23.
- Joffraud, J.; Cardinal, M.; Cornet, J.; Chasles, S.; & León, S. (2006). Effect of bacterial interactions on the spoilage of coldsmoked salmon. *Inter J Food Microbiol: 112*, 51 - 61
- Lyhs, U.; Latineen, J.; Fredriksson, M.; Hyytia, E.; & Elfing, K. (2001). Microbiological quality and shelf-life of vacuum-packaged "gravad" rainbow trout stored at 3 and 8°C. *Int. J. Food Microbiol* 70, 221-230.
- Montalvo, C. (2014). *Impregnación al vacío de filetes de tilapia (Oreochromis spp.) con bacterias con bacterias ácido lácticas y su efecto sobre las características de calidad en almacenamiento refrigerado*. Colombia: Doctorado in Ingeniería. Universidad del Valle .
- Montgomery, D. (2004). *Diseño y Análisis de Experimentos*. México: Iberoamericana.
- INEN (2013). *Pescado fresco refrigerado o congelado*. Norma Técnica Ecuatoriana, NTE INEN 183:2013. Primera edición.
- Pilet, B.; Prevost, H.; Cardinal, M.; & Leroi, F. (2005). Effect of inoculation of *Carnobacterium divergens* V41, a biopreservative strain against *Listeria monocytogenes* risk, on the microbiological, chemical and sensory quality of coldsmoked salmon.

- Ragnar, N.; & Darryl, J. (2019). *Revisión y pronóstico de la producción mundial de peces Meta 2020*. Chennai-India: Global Aquaculture Alliance.
- Randell, K.; Hattula, T.; & Ahvenainen, R. (1997). Effect of packaging method on the quality of rainbow trout and Baltic herring fillets. *Lebenson Wiss Technol.* 30, 56 - 61.
- Roth, B.; Slinde, E.; & Arildsen, J. (2006). Pre o post mortem muscle activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). The effect on rigor mortis and the physical properties of flesh. *Aquaculture* 257, 504-510.
- Silva, A.; Rocha, P.; Fonseca, F.; Costa, C.; dos Santos, J.; & Carvalho, N. (2017). Alterações microbianas dos produtos de pescados curados. *Revisão. PUBVET* 11, 646 - 743.
- Suárez, H.; Pardo, S.; & Cortés, M. (2008). Physical-chemical quality and sensory attributes of cut bio-preserved cachama fillets vacuum packaging under refrigeration. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.* 2008; 21, 330 - 339.
- Valls, J.; & Paredes, A. (2010). Physical and Chemical Characterization of the Sardine (*Sardinella aurita*). *Rev. cient. (Maracaibo)* v.20 n.5.