

Capacidad antimicrobiana de bioconservantes utilizados en recubrimientos comestibles en nuggets de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*)

Antimicrobial capacity of bioconservatives used in edible coatings in nuggets of white cachama (*Piaractus brachypomus*)

Héctor Suárez Mahecha ^{1*}, Yenza Catherine Martínez Bastidas ²,

¹Universidad Nacional de Colombia – sede Bogotá, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA., ²Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Facultad de Ciencias de la Salud. Programa de bacteriología y laboratorio clínico. Email: myenza8@gmail.com. *Autor para correspondencia: hsuaezm@unal.edu.co

Recibo: 13.07.2018 / Aceptado: 11.12.2019

Resumen Los nuggets de pescado cachama (*Piaractus Brachypomus*) son un producto cárnico creado para todo consumidor, de fácil preparación, del cual se aprovecha el contenido nutricional del pescado y satisface el estilo de vida nutricional que se impone con el ritmo de vida actual. Sabiendo que uno de los ingredientes en la elaboración de nuggets son los conservantes químicos, este estudio implementó la utilización de conservantes naturales obtenidos de extractos etanólicos de propóleos (EPP), aceite esencial de laurel y quitosano que presentan propiedades con actividad antibacteriana. Fueron analizados cuatro tratamientos de recubrimientos comestibles (RCs) en los cuales se evaluó la capacidad antimicrobiana in vitro utilizando el método de difusión en disco en agar Mueller – Hinton con cultivos de *Salmonella enteritidis* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 13076, *E.coli* ATCC 25922, *Vibrio sp*, *Staphilococcus aureus* ATCC 25923. Posteriormente fueron evaluados nuggets tratados con RC, sin RC y nuggets prefritos con y sin RC, fueron realizados análisis para microorganismos aerobios mesófilos, psicrófilos y coliformes de origen fecal, determinación de *Salmonella sp*, *L. monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, *S. aureus* coagulasa positiva, cada 25 días por 100 días de almacenamiento bajo congelación a -18 °C. Los resultados indican que en los nuggets sin RC incrementaron los valores para microorganismos aerobios mesófilos durante el periodo de almacenamiento y en los nuggets con RC estos microorganismos disminuyeron, sin embargo, los nuggets sometidos a prefritura no presentaron carga microbiológica. Por lo tanto, los recubrimientos comestibles a base de propóleos pueden ser una alternativa para la conservación de alimentos cárnicos.

Palabras clave: bioconservación; conservantes; acuicultura; propóleos; aceite esencial

Abstract Cachama fish nuggets (*Piaractus Brachypomus*) are a meat product created for every consumer, easy to prepare, which takes advantage of the nutritional content of the fish and satisfies the nutritional lifestyle imposed by the current pace of life. Knowing that one of the ingredients in the manufacture of nuggets are chemical preservatives, this study implemented the use of natural preservatives obtained from ethanol extracts of propolis (PPE), essential oil of laurel and chitosan that have properties with antibacterial activity. Four edible coatings (RCs) treatments were analyzed in which the antimicrobial capacity was evaluated in vitro using the Mueller-Hinton agar disk diffusion method with *Salmonella enteritidis* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 13076, *E.coli* ATCC 25922 cultures. *Vibrio sp*, *Staphilococcus aureus* ATCC 25923. Subsequently, nuggets treated with RC, without RC and nuggets with and without RC were evaluated, analyzes were performed for aerobic mesophilic, psychrophilic and coliform aerobic microorganisms, determination of *Salmonella sp*, *L. monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, *S. aureus* coagulase positive, every 25 days for 100 days of storage under freezing at -18 °C. The results indicate that in the nuggets without RC increased the values for aerobic mesophilic microorganisms during the storage period and in nuggets with RC these microorganisms decreased, however, the nuggets submitted to prefriture did not show microbiological load. Therefore, edible propolis-based coatings may be an alternative for the preservation of meat foods.

Keywords: Bioconservation; preservatives; aquaculture; propolis; essential oil.

Introducción

La cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) es nativa de las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas y afluentes que corresponden a los países de Colombia, Brasil, Venezuela y Perú es considerada como la especie de mayor potencial productivo y comercial en la piscicultura extensiva, semi-intensiva e intensiva de aguas cálidas continentales de América tropical (Mesa-Granda, 2007; Mesa-Granda, 2006; FAO, 2012).

La carne de esta especie fue utilizada para elaborar nuggets de pescado con adición de bioconservantes como opción al uso de nitratos y nitritos, reconocidos como cancerígenos, además de benzoatos y parabenos con reconocidas efectos toxicológicas (Yurchenko y Mölder, 2007, Larsson et al., 2006). En este sentido han sido realizadas diversas investigaciones para desarrollar nuevas alternativas de conservación utilizando conservantes naturales que inhiban la presencia de microorganismos como *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* que podrían presentar riesgos notables para los seres humanos (Yong et al., 2015; Devatkal et al., 2004).

Los antimicrobianos naturales presentes en plantas, animales o microorganismos y pueden obtenerse por ejemplo del clavo, ajo, cebolla, salvia, romero, cilantro, perejil, orégano, mostaza y vainilla entre otros (Rodríguez-Sauceda, 2011) because it has been associated with consumption of poison chemical preservatives. The demand for minimally processed fresh products is increasing, and interest in natural antimicrobial agents (derived from plants. En lo referente a los de origen animal, los propóleos procedente de abejas *Apis mellifera*, se ha informado que presenta diversas actividades biológicas como antibacteriano, antiviral, antifúngico, anti-inflamatoria, antioxidante, actividad contra el cáncer, antihepatóxico (Segueni et al., 2011; BarbariĆ et al., 2011), están constituido por componentes de naturaleza fenólica. Se sabe

que los fenoles simples, ácidos fenólicos y polifenoles son agentes antimicrobianos activos principalmente flavonoides. Se ha propuesto como un conservante en los productos cárnicos y han reportado una extensión de la vida de productos de la pesca (Ali et al., 2010). Siendo una alternativa interesante a considerar en nuevas aplicaciones de la tecnología de los alimentos (Tosi et al., 2007). De otra parte, las películas (PC) y recubrimientos comestibles (RC) se definen como matrices continuadas que pueden ser formadas por tres componentes principales: polímeros, solvente, plastificante. La diferencia entre PC y RC radica en el método de elaboración y formación. Los recubrimientos se forman directamente sobre la superficie de un alimento, mientras que la película se elabora de forma separada y en algunas ocasiones tiene una función de película de soporte (Avila-Sosa y López-Malo, 2008). Según el biopolímero (proteína, polisacárido, lípido) que compone la PC o el RC se determinan sus características y funciones. Por ejemplo: puede servir como barrera en la transferencia de diferentes sustancias, luz ultravioleta (UV), estrés mecánico o permitir la transferencia o incorporación de ingredientes activos, antioxidantes, antimicrobianos y mejoradores de textura (Coma et al., 2006).

Cuando se incorporan agentes antimicrobianos a un polímero, el material limita o impide el crecimiento microbiano. Los agentes antimicrobianos pueden ser compuestos sintéticos (agregados intencionadamente a los alimentos) o de origen natural (Hernández-Ochoa, et al., 2011). Son utilizados como agentes o aditivos antimicrobianos, aceites esenciales como el de laurel (AEL) y/o extractos etanólicos de compuestos como propóleos (EEP), los cuales son de gran utilidad debido a las características antimicrobianas y antioxidantes, atribuidas a diferentes grupos funcionales característicos que poseen como terpenos, compuestos fenólicos, entre otros (Wu et al., 2013).

En este trabajo se realizó análisis microbiológico utilizando extractos etanólicos de propóleos (EEP) Aceite esencial de laurel y

quitosano en recubrimientos comestibles como una alternativa de bioconservación en nuggets de cachama (*piaractus brachipomus*).

Metodología

Fue utilizada carne de pescado Cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) para la elaboración de los nuggets según muestra la gráfica 1. Fueron evaluados los siguientes tratamientos: nuggets con recubrimiento NCR; nuggets sin recubrimiento NSR; nuggets con recubrimiento prefrito NCRF; nuggets sin recubrimiento prefrito NSRF. Fueron realizados análisis para microorganismos aerobios mesófilos, psicrofílos y coliformes de origen fecal, determinación de *Salmonella sp*, *L. monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, *S. aureus* coagulasa positiva, cada 25 días por 100 días de almacenamiento bajo congelación a -18°C .

La fuente polimérica utilizada fue quitosano marca Phytomare® (Brasil) con grado de desacetilación medio (80%) y bajo peso molecular, se utilizó glicerol marca (CIMPA - Colombia) como plastificante. El aceite esencial de laurel (*Laurus novilis*) fue obtenido mediante la técnica de arrastre de vapor y fue suministrado por Green Andina Ltda (Bogotá, Colombia). Los propóleos provienen de abejas (*Apis mellifera*) de las colmenas del Municipio de Confines a 1200 m.s.n.m en el departamento de Santander (latitud norte, $06^{\circ}22'$ longitud oeste $73^{\circ}14'$), en el corregimiento de Morario, con temperatura promedio de 22°C . En la Multiflora predominante de la zona se encuentra especialmente Guamo (*Inga heteróptera willd*), Mulato o Salvio (*Bursera simaruba*), Mastranto (*Mentha rotundifolia var. Suaveolens*) y Café (*Coffea arábica*). Los propóleos fueron cosechados por el método de raspado en el mes de mayo y los extractos fueron obtenidos mediante la mezcla con alcohol en una proporción de 1:4 (1 gramo de propóleo: 4 g de etanol al 97 % v/v grado alimentario), con agitación intermitente a 580 rpm x 40 minutos diarios durante una semana, la fracción insoluble fue separada por filtración a vacío a una presión de 6,5 Psi, la fracción

liquida fue almacenada a una temperatura de 4°C y posteriormente filtrada nuevamente para eliminar las ceras presentes en el extracto.

Obtención de los nuggets de cachama

Para la obtención de los nuggets de cachama y aplicación de recubrimiento comestible en la planta de investigación de productos cárnicos del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimento ICTA de la Universidad Nacional se realizó el proceso que se muestran en la figura 1.

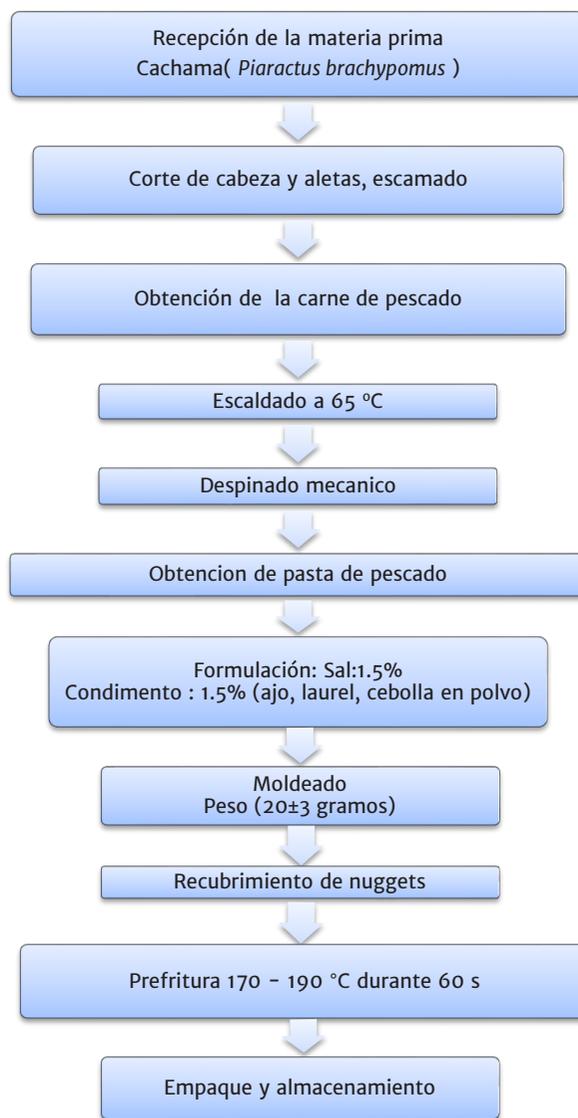


Figura 1. Proceso de obtención de nuggets de pescado

Formulación de recubrimientos comestibles (RC)

Los recubrimientos comestibles se obtuvieron a partir de 4 preparaciones como se muestra en la tabla 1. Los cuales se analizaron para comparar su comportamiento contra los microorganismos patógenos y utilizar el que presente mayor actividad inhibitoria para posteriormente aplicarlo en los nuggets de cachama. Los valores utilizados para componentes como quitosano y extractos etanólicos de propóleos fueron determinados previamente de acuerdo a la prueba microbiológica de actividad mínima inhibitoria.

Recuento de microorganismos aerobios mesófilos y psicrofilos: (Método de recuento en placa)

Fue utilizado el medio de cultivo Agar Standar Plate Count (SPC) para analizar la carga microbiana del pescado como materia prima y de la pasta de pescado, utilizando alícuotas de 1mL en cajas de petri estériles donde posteriormente se vierten 15 mL de Agar SPC fundido y mantenido a 45°C y mezclado el inóculo con el medio de cultivo fundido.

Posteriormente realizado control de esterilidad del medio e incubado a 35°C +/- 2 °C durante 48 horas para microorganismos mesófilos y a -4 °C durante 8 días para microorganismos psicrofilos (Gutiérrez-Cortés y Suarez-Mahecha, 2012).

Recuento de coliformes de origen fecal (Método de recuento en placa).

Para la determinación de coliformes de origen fecal (método de recuento placa) para la determinación del pescado como materia prima y la pasta de carne pescado, fue utilizado el medio de cultivo Agar eosina azul de metileno (EMB) y la incubación a 35°C +/- 2 °C durante 24 horas (Gutiérrez-Cortés y Suarez-Mahecha, 2012).

Determinación de *Salmonella sp*

Fueron utilizados 25 gramos de pasta que se obtuvo de la carne de pescado y se agregaron a 225 ml de agua peptona tamponada e incubado a 35 °C ±2 por 18-24 horas. Después de realizar un enriquecimiento no selectivo fue realizado el enriquecimiento selectivo en el cual se transfirió 1 mL de cultivo obtenido del enriquecimiento no selectivo en 10 mL de caldo selenito cistina y en 10 mL de caldo tetrationato con 0.2 mL de solución de Iodo y 0.1 mL de

Tabla 1. Preparaciones y formulación utilizada para la obtención de recubrimientos comestibles

Base = 1 (control)			Aplicado = 2		
Componente	%	B=25	Componente	%	B=25
Agua	93,59	23,3975	Agua	93,59	23,3975
Glicerol	2,5	0,625	Glicerol	2,5	0,625
Ácido Acético	1	0,25	Ácido Acético	1	0,25
Quitosano	2,5	0,625	Aceite esencial	0,625	2,5
			Propóleos (EEP)	0,125	0,3125
			Quitosano	2,5	0,625

EEP 0,125 = 4			AEL = 0,625 = 3		
Componente	%	B=25	Componente	%	B=25
Agua	93,59	23,3975	Agua	93,59	23,3975
Glicerol	2,5	0,625	Glicerol	2,5	0,625
Ácido Acético	1	0,25	Ácido Acético	1	0,25
Propóleos (EEP)	0,125	0,3125	Aceite esencial	0,625	0,25
Quitosano	2,5	0,625	Quitosano	2,5	0,625

solución acuosa de verde brillante 0.1 % y se incubo en baño de agua a 43 °C +/-2 durante 24 horas. Posteriormente fue sembrado en placas con agar sulfito bismuto y agar XLD, e incubado a 35°C ± 2 durante 24-48 horas (Gutiérrez-Cortés y Suarez-Mahecha, 2012).

Determinación de *Vibrio cholerae*

Para la determinación de *Vibrio cholerae* fue utilizado utilizada agua de peptona alcalina y se incubó a 35 °C +/- 2 °C, por 6-8 horas, pasado este tiempo se sembró en agar tiosulfato citrato sales biliares sacarosa (T.C.B.S) y se incubo a 35 °C +/- 2 °C por 18-24 horas (Gutiérrez-Cortés y Suarez-Mahecha, 2012).

Determinación de *Listeria monocytogenes*

Fue utilizado caldo de enriquecimiento para listeria (EB) y se incubo a 35°C +/-2 °C por 24-48 horas. Pasado este tiempo se transfirió una azada de (EB) a las placas con agar Oxford y palcam (Gutiérrez-Cortés y Suarez-Mahecha, 2012).

Determinación de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva.

Para la determinación de *S. aureus* coagulasa positiva se pesaron 11 g de pasta de la carne de pescado y adicionados 90 mL de agua destilada estéril, se homogenizo, y se transfirió 0.1 mL sobre la superficie del agar Baird Parker y se incubo a 35°C ± 2 durante 48 horas, en ausencia de colonias se expresa los resultados como estafilococo coagulasa positiva <100 UFC/g (Gutiérrez-Cortés y Suarez-Mahecha, 2012).

Análisis de la actividad antimicrobiana de los recubrimientos comestibles a base de propóleos

Para este estudio se utilizaron cepas de *Salmonella enteritidis* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 13076, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Vibrio sp*, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 del cepario del Laboratorio de Biotecnología y Control microbiológico de alimentos (ICTA-Universidad Nacional de Colombia) y *Vibrio sp* suministrada por el cerapio de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

Análisis de la actividad antimicrobiana

Fue utilizada dilución de 1.5 x 10⁴ de esta se utilizó 1ml de inóculo agar Mueller-Hinton, posteriormente para los RCs se impregnaron discos de papel filtro estériles de 6mm de diámetro con 30 µg de recubrimiento, se colocaron sobre el agar y se incubaron durante 24 horas a 37 °C, pasado este tiempo fue medido el diámetro de la zona clara alrededor del disco incluyendo el diámetro del disco y se expresa en milímetros (mm),

Resultados y discusión

Calidad microbiológica de la materia prima

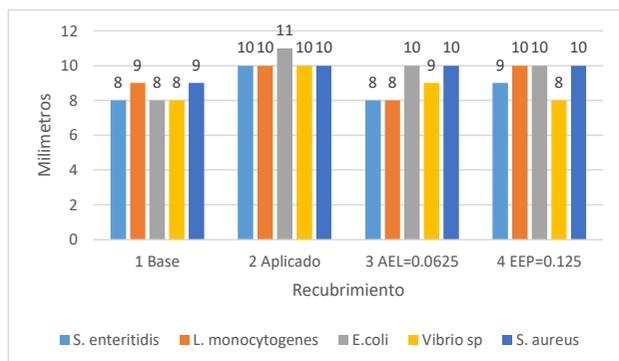
En el análisis microbiológico del pescado (cachama) y la pasta de carne de pescado se obtuvo un recuento total de aerobios mesófilos de 2.5X10⁴ UFC/g y 1X10³ UFC/g respectivamente. El análisis de psicrófilos y coliformes se obtuvo un recuento <10 UFC/g, *S. aureus* coagulasa positiva de <100 UFC/g y ausencia de *Salmonella sp*, *L. monocytogenes*, *V. cholerae* tanto en el pescado como en la pasta.

Actividad inhibitoria de recubrimientos comestibles (RC)

En Figura 2. se observan los resultados de la actividad antimicrobiana de RC sobre los microorganismos utilizados, fueron encontrados los siguientes halos de inhibición medidos en milímetros (mm).

Actividad antimicrobiana de recubrimiento comestible a base de propóleos aplicado en los nuggets pescado.

El análisis de la actividad antimicrobiana del RC en los nuggets, analizado cada 25 días durante 100 días, mostro que el recuento de

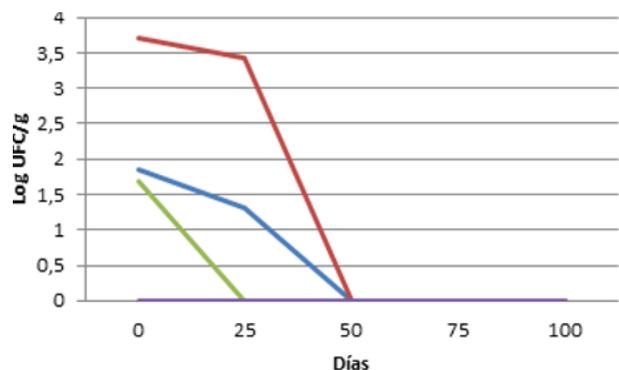


AEL: Aceite esencial de laurel, **EEP:** Extracto etanólico de propóleos

Figura 2. Halos de inhibición de recubrimientos comestibles conteniendo aceite esencial de laurel y extracto etanólico de propóleos frente a bacterias patógenas

microorganismos aerobios mesófilos presentó variaciones durante este tiempo y dependiendo del tratamiento como se muestra en la figura 3.

El recuento de psicrófilos y coliformes de origen fecal presentaron recuento de <10 UFC/g al igual que estafilococo coagulasa positiva con un recuento de <100 UFC/g y ausencia de *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae*.



NCR: nuggets con recubrimiento, **NSR:** nuggets sin recubrimiento, **NCRF:** nuggets con recubrimiento frito, **NSRF:** nuggets sin recubrimiento frito

Figura 3. Recuento de aerobios mesófilos en nuggets de cachama tratados con recubrimientos comestibles conteniendo bioconservantes

Este trabajo tuvo como propósito evaluar la calidad microbiológica de nuggets elaborados con carne de pescado empleando principalmente extractos etanólicos de propóleos (EEP) y aceite esencial de laurel como conservante,

en un recubrimiento comestible, donde se analizó también la carga microbiológica de la materia prima y la actividad antimicrobiana de 4 tratamientos de recubrimientos para probar su efectividad y obtener el que presente mayor actividad inhibitoria para ser utilizado en los nuggets de cachama, analizando la actividad antagónica frente a microorganismos como *S. enteritidis*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *Vibrio sp*, *S. aureus* para observar su comportamiento.

Utilizando el método de difusión en agar se pudo observar actividad antibacteriana contra los microorganismos analizados, aunque no en todos los recubrimientos fue utilizado EEP sino también otros compuestos con actividad antimicrobiana como aceite esencial y quitosano. El recubrimiento del tratamiento Base 1 o control fue utilizado como control negativo, ya que el quitosano aunque es una sustancia antimicrobiana natural tiene una limitación en la difusión en un medio de agar, de modo que solamente los microorganismos en contacto directo con los sitios activos de quitosano son inhibidos (Coma et al., 2006; Abdollahi et al., 2012) y podría ser necesaria la adición de otro antimicrobiano (Campos et al., 2011); en otros estudios con antimicrobianos naturales utilizan como control positivo antibióticos como tetraciclina (30 mg/disco), gentamicina (30 mg/disco) y cloranfenicol (30 mg/disco) (Azevedo et al., 2014) o ampicilina (Jayasena y Jo, 2013). En el actual trabajo la sensibilidad a los recubrimientos comestibles fue clasificada por el diámetro de los halos de inhibición de la siguiente forma: no es sensible (-) para diámetros de menos de 8 mm; sensibles (+) para diámetros de 9.14 mm; muy sensible (++) para diámetros de 15 a 19 mm; y extremadamente sensibles (+++) para diámetros mayores de 20 mm (Nedji y Loucif-Ayad, 2014), teniendo en cuenta estos estudios y que el quitosano presenta efecto bactericida para las bacterias gram-positivas, ya que en función de cargas, las moléculas de quitosano cargadas positivamente interactúan con la cadena principal de ácido teicoico con carga altamente negativa en su pared celular. Esta interacción

influye en la permeabilidad de las membranas celulares de las bacterias y causa la salida de los componentes celulares (Chung et al., 2004).

El recubrimiento utilizado para los nuggets de cachama fue el tratamiento denominado aplicado 2, el cual contiene en su formulación componentes antimicrobianos como aceite esencial, propóleos y quitosano (Tabla 1) y fue el que presentó mayor tamaño de los halos (Figura 2) contra todos los microorganismos utilizados, ya que principalmente los propóleos han mostrado actividad antibacteriana contra bacterias gram positivas como gram negativas (Chung et al., 2004). Los resultados indican que para *E.coli* presentó un halo de inhibición mayor que para los otros microorganismos utilizados, lo cual indica que los propóleos pueden inhibir con éxito el desarrollo de este microorganismo (Gutierrez y Suarez, 2012; Gutierrez y Suarez 2014; Tosi et al., 2007), al igual que el aceite esencial de laurel, el cual tiene la capacidad de inhibir algunas bacterias gram positivas como gram negativas entre las que se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* que son más susceptibles a los aceites esenciales que las bacterias Gram-negativas tales como *E. coli* y *Salmonella Enteritidis* (Chorianopoulos et al., 2004) las cuales fueron utilizadas en este estudio. Otro componente utilizado en los recubrimientos comestibles fue el quitosano, que generalmente tiene fuertes efectos bactericidas contra bacterias gram-positivas que para bacterias gram-negativas en concentraciones de 0,1% (No et al., 2002; Jeon et al., 2001) pero en este estudio fue utilizado 2.5 % lo cual puede aumentar su efectividad, sin embargo el objetivo en este trabajo fue aprovechar las características para formar red polimérica en el recubrimiento comestible. De todas formas, la interacción con el aceite esencial de laurel, el quitosano y extractos etanólicos de propóleos forman un efecto sinérgico contra los microorganismos utilizados. En otros estudios anteriores ha sido reportado que los EEP disminuyeron la resistencia de la pared bacteriana a los antibióticos (Orsi et al., 2006), además *in vitro* puede crear sinergismo con otras

sustancias antimicrobianas que actúan sobre la pared bacteriana y, y contra microorganismos incluyendo bacterias Gram-negativas como *E. coli* y *Salmonella sp* (Orsi et al., 2006).

Algo similar, se pudo observar en los resultados del tratamiento 2 (Figura 2) en el cual los antimicrobianos utilizados como aceite esencial de laurel, EEP y quitosano actúan de forma sinérgica (Campos et al., 2011). También se observó mayor inhibición contra *E. coli*, *Vibrio sp*, *S. aureus*, estos resultados pueden presentarse por un sinergismo entre estos componentes como es ratificado en estudios anteriores donde la presencia de quitosano, cera de abeja y aceite esencial de limón en un recubrimiento, presentó efecto sinérgico mayor, que la suma de los efectos individuales (Ramos-García et al., 2012).

En el tratamiento 4 (EEP=0.125) en el que se utilizó propóleos y quitosano también presenta halos de inhibición significativos, presentando mayor inhibición contra *L. monocytogenes*, *E.coli*, *S. aureus*, esto puede atribuirse al efecto sinérgico entre el quitosano y EEP, coincidiendo con otros autores (Torlak y Sert, 2013).

En el análisis microbiológico de los nuggets se obtuvo un máximo de mesófilos aerobios de 5100 UFC/g y 2740 UFC/g en nuggets sin RC en el día 0 y 25, por el contrario, los nuggets con RC obtuvieron 70 UFC/g y 20 UFC/g en el día 0 y 25 como se observa en la figura 3. esto pudo darse al principio por la carga microbiológica de la materia prima y más adelante el recubrimiento comestible cumplió con su efecto antimicrobiano junto a la temperatura de congelación en el almacenamiento. Aunque el recuento de mesófilos aerobios no se encuentra contemplado en la norma, puede ser utilizado para un control de contaminación.

Con respecto a Norma Técnica Colombiana (NTC) 4348 (Productos de la pesca y acuicultura. Barritas, porciones y filetes de pescado empanados o rebozados congelados) las especificaciones sanitarias señalan ausencia de *Salmonella spp*, *Vibrio spp*, *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva <100 UFC/g, *E.coli* <10

UFC/g (Tabla 3), en este trabajo se cumplió lo contemplado en la norma y se realizó un análisis adicional el cual incluye determinación de *L. monocytogenes* la cual fue ausente.

Tabla 2. Requisitos microbiológicos de las barritas, porciones y filetes de pescado empanados o rebozados congelados precocidos.

Requisito	n	m	M	C
Detección de <i>E. coli</i> , UFC/g	5	10	100	2
Detección de <i>Salmonella spp</i> /25g	5	Ausente	-	0
Detección de <i>Vibrio cholerae</i> /25g	5	Ausencia	-	0
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positiva, UFC/g	5	100	1000	2

En donde:

n = número de muestras que se van a examinar

c = número de muestras permitidas con resultado entre m y M

m = índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad

M = índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad

En cuanto a calidad microbiológica los nuggets de pescado a los 100 días de almacenamiento aun presenta condiciones microbiológicas optimas, otros autores reportan para nuggets de pescado vida útil de 120 días a temperatura de -18 °C y de pollo igualmente, sin embargo mediante la utilización de conservantes químicos (Duman y Özpolat, 2014; Acevedo-Hernández, 2004).

Referencias

- Abdollahi, M.; Rezaei, M.; Farzi, G. (2012). A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *J Food Eng.* 111(2), 343-350. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.02.012>
- Acevedo-Hernández, C.J. (2004). *Desarrollo, optimización y estudio de vida útil de nugget de pollo liviano en calorías y con calcio.* (Tesis de pregrado). Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile. http://www.tesis.uchile.cl/tesis/uchile/2004/acevedo_cj/sources/acevedo_cj.pdf
- Ali, F.H.; Kassem, G.M.; Atta-Alla, O.A. (2010). Propolis as a natural decontaminant and antioxidant in fresh oriental sausage. *Vet Ital.* 46(2):167-172. http://www.izs.it/vet_italiana/2010/46_2/167.pdf
- Avila-Sosa, R; López-Malo, A. (2008). Aplicacion de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos.* 2(2):4-13. [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-2/TSIA-2\(2\)-Avila-Sosa-et-al-2008a.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-2/TSIA-2(2)-Avila-Sosa-et-al-2008a.pdf)
- Azevedo, A.N.; Buarque, P.R.; Cruz, E.M.O.; Blank, A.F.; Alves, P.B.; Nunes, M.L.; de Aquino-Santana, L.C. (2014). Response surface methodology for optimisation of edible chitosan coating formulations incorporating essential oil against several foodborne pathogenic bacteria. *Food Control.* 43:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.02.033>.
- Barbarić, M.; Mišković, K.; Bojić, M.; Lončar, M.B.; Smolčić-Bubalo, A.; Debeljak, Z.; Medić-Sarića, M. (2011). Chemical composition of the ethanolic propolis extracts and its effect on HeLa cells. *J Ethnopharmacol.* 135(3):772-778. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.04.015>
- Campos, C. A.; Gerschenson, L.N.; Flores, S.K. (2011). Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology.* 4(6):849-875. http://hdl.handle.net/20.500.12110/paper_19355130_v4_n6_p849_Campos
- Coma, V.; Martial-Gros, A.; Garreau, S.; Copinet, A.; Salin, F.; Deschamps, A. (2006). Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *J Food Sci.* 67(3):1162-1169. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09470.x>
- Chung, Y.C.; Su, Y.P.; Chen, C.C.; Jia, G.; Wang, H.L.; Wu, J.C.; Lin, J.G. (2004). Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. *Acta Pharmacol Sin.* 25(7):932-936. <http://www.chinaphar.com/article/view/8295/8859>
- Chorianopoulos, N.; Kalpoutzakis, E.; Aliogiannis, N.; Mitaku, S.; Nychas, G.J.; Haroutounia, S. A. (2004). Essential oils of Satureja, Origanum, and Thymus species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. *J Agric Food Chem.* 52(26):8261-7. <https://doi.org/10.1021/jf049113i>
- Devatkal, S.; Mendiratta, S.K.; Kondaiah, N.; Sharma, M.C.; Anjaneyulu, A.S.R. (2004). Physicochemical, functional and microbiological quality of buffalo liver. *Meat Sci.* 68(1):79-86. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.02.006>
- Duman, M.; Özpolat, E. (2014). Effects of water extract of propolis on fresh shibuta (*Barbus grypus*) fillets during chilled storage. *Food Chem.* 189:80-5. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.091>
- FAO (2014). *Examen mundial de la pesca y la acuicultura.* En: *El estado mundial de la pesca y acuicultura.* Roma. 253 páginas. <http://www.fao.org/3/a-13720s.pdf>
- Gutiérrez-Cortés, C.; Suarez-Mahecha, H. (2012). Efecto conservante de propóleos en chorizos. *Vitae.*19(Supl. 1):S159-S61. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169823914044>
- Gutiérrez-Cortés, C.; Suarez-Mahecha, H. (2014). Actividad antimicrobiana del propóleos y efecto en las características fisicoquímicas y sensoriales en chorizos. *Vitae.* 21(2):90-6. <http://www.scielo.org>

- org.co/pdf/vitae/v21n2/v21n2a3.pdf
- Hernández-Ochoa, L.; Gonzales-Gonzales, A.; Gutiérrez-Mendez, N.; Muñoz-Castellanos L. N.; Quintero-Ramos, A. (2011). Estudio de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a diferentes pesos moleculares incorporando aceites esenciales y extractos de especias como agentes antimicrobianos. *Rev Mex Ing Quim.* 10(3):455-463. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v10n3/v10n3a11.pdf>
- Jayasena, D.D.; Jo, C. (2013). Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends Food Sci Technol.* 34(2):96-108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2013.09.002>
- Jeon, Y.J.; Park, P.J.; Kim, S.K. (2001). Antimicrobial effect of chitoooligosaccharides produced by bioreactor. *Carbohydrate Polymers.* 44(1):71-6. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861700002009>
- Larsson, S.C.; Bergkvist, L.; Wolk, A. (2006). Processed meat consumption, dietary nitrosamines and stomach cancer risk in a cohort of Swedish women. *Int J Cancer.* 119(4):915-9. <https://doi.org/10.1002/ijc.21925>
- Mesa-Granda, M.N; Botero-Aguirre, M.C. (2007). La cachama blanca (*Piaractus Brachypomus*), una Especie Potencial para el Mejoramiento Genético. *Rev Colom Cienc Pecu.* 20(1):79-86. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902007000100010
- Mesa-Granda, M.N; Botero-Aguirre, M.C. (2006). Estudio fenotípico de la cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). *Revista Electrónica de Ingeniería en Producción Acuicola.* 2(2):1-6. <https://revistas.udenar.edu.co/index.php/reipa/article/view/1605>
- Nedji, N.; Loucif-Ayad, W. (2014). Antimicrobial activity of Algerian propolis in foodborne pathogens and its quantitative chemical composition. *Asian Pacific J Trop Dis.* 4(6):433-7. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60601-0](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60601-0)
- No, H. K.; Young-Park, N., Ho-Lee, S.; Meyers, S.P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int J Food Microbiol.* 74(1-2):65-72. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00717-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00717-6)
- Tosi, E.; Ré, E.; Ortega, M.E.; Cazzoli, A.F. (2007). Food preservative based on propolis: Bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*. *Food Chem.* 104(3):1025-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.011>
- Orsi R. D. O.; Sforcin, J. M.; Cunha-Funari, S.R.; Fernandes, A.; Bankova, V. (2006) Synergistic effect of propolis and antibiotics on the *Salmonella typhi*. *Brazilian J Microbiol.* 37(2):108-12. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000200002>
- Ramos-García, M.; Bosquez-Molina, E.; Hernández-Romano, J.; Zavala-Padilla, G.; Terrés-Rojas, E.; Alja-Tejacal, I.; Barrera-Necha, L.; Hernandez-López, M.; Bautista-Baños, S. (2012). Use of chitosan-based edible coatings in combination with other natural compounds, to control *Rhizopus stolonifer* and *Escherichia coli* DH5a in fresh tomatoes. *Crop Prot.* 38:1-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2012.02.016>
- Rodríguez-Sauceda, E. N. (2011). Uso de agentes naturales antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai.* 7(1):153-70. <http://www.revistas.unam.mx/index.php/rxm/article/view/26675/24991>
- Segueni, N.; Zellagui, A.; Moussaoui, F.; Lahouel, M.; Rhouati, S. (2011). Flavonoids from Algerian propolis. *Arab J Chem.* 9(Supl.1):S425-S428. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.05.013>
- Torlak, E.; Sert, D. (2013). Antibacterial effectiveness of chitosan-propolis coated polypropylene films against foodborne pathogens. *Int J Biol Macromol.* 60:52-5. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.05.013>
- Wu, T.; He, M.; Zang, X.; Zhou, Y.; Qiu, T.; Pan, S.; Xu, X. (2013). A structure-activity relationship study of flavonoids as inhibitors of *E. coli* by membrane interaction effect. *Biochim Biophys Acta* 1828(11):2751-6. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.07.029>
- Yong, H.I.; Kim, H.; Nam, K.C.; Kwon, J. H.; Jo, C. (2015). Radiation sensitivity of foodborne pathogens in meat byproducts with different packaging. *Radiat Phys Chem.* 115:153-157. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2015.06.023>
- Yurchenko, S.; Mölder, U. (2007). The occurrence of volatile N-nitrosamines in Estonian meat products. *Food Chem.* 100(4):1713-21. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.017>