



“Prototipo de alimento funcional a base de músculo de
pescado fermentado con bacterias ácido lácticas”

Tesis de grado

Alumno: Joel Eliseo Ibañez Calderón

Asesora: Dra. Marisol Vallejo

Director: Lic. Franco M. Sosa



Tabla de contenidos

Introducción	1
Producción en Argentina	1
Consumo de pescado	2
Producción de pescado y su conservación	3
Alimentos funcionales	4
Diabetes	5
Microorganismos “starter” o iniciadores	6
Las bacterias ácido lácticas como probióticos	6
Estatus GRAS y QPS	7
Propiedades funcionales y tecnológicas de las BAL	8
Alimentos fermentados	10
Generalidades	10
Beneficios para la salud	11
Pescado fermentado	11
Objetivo General	13
Objetivos Específicos	13
Materiales y métodos	14
1- Material biológico. Selección de cepas	14
2- Medios de cultivo y condiciones	14
3- Preparación del alimento funcional	14
4- Toma de muestra	14
5- Evaluación del proceso de fermentación del alimento funcional	15
5.1. Determinación del pH y viabilidad de las BAL	15
5.2. Análisis microbiológicos del alimento funcional	15
6- Actividad inhibitoria del alimento funcional	15
7- Determinación de fracciones proteicas	16
8- Actividad antioxidante	16
8.1. DPPH	16
8.2. CUPRAC	16
9- Actividad inhibitoria sobre enzimas relacionadas con la diabetes tipo 2	17
9.1. Determinación de la capacidad inhibitoria de la α -glucosidasa (EC 3.2.1.20)	17
9.2. Determinación de la capacidad inhibitoria de α -amilasa pancreática (EC 3.2.1.1)	17
10- Análisis estadístico	18
Resultados y discusiones	19
Reducción de pH durante la fermentación	19
Análisis microbiológico	20
Recuento de BAL y aerobios totales	20
Calidad microbiológica	21



Actividad antilisteria del alimento funcional	22
Determinación de fracción proteica	22
Actividad antioxidante	24
Actividad inhibitoria sobre enzimas relacionadas con la diabetes tipo 2	25
Conclusiones	28
Referencias	30

Lista de figuras y tablas

Figura 1: Mapa de distribución del pez gallo (<i>Callorhynchus callorhynchus</i>).	2
Figura 2: Evolución del pH durante el periodo de fermentación.	19
Figura 3: Fracción proteica soluble en tricloroacético y agua del alimento.	23
Figura 4: Diagramas de Lineweaver-Burk de α -amilasa y α -glucosidasa en diferentes etapas de la fermentación	27
Tabla 1: Recuento de microorganismos en el alimento.	20
Tabla 2: Capacidad antioxidante durante el periodo de fermentación.	25



Agradecimientos

Primero quisiera agradecer a mi director Franco, a mi asesora Marisol y a Rogelio, no sólo me solucionaron el trabajo de tesis en tiempo récord, sino que también me tuvieron mucha paciencia y comprensión durante la realización y la escritura de esta Tesis. No sólo aportaron conocimiento, sino su tiempo. Por ello les estoy y estaré agradecido siempre.

Mis papas, Magalis y Eliseo (Cheo), me dieron absolutamente todo para que yo pueda estudiar y formarme como persona. Mis hermanos, Jacque y Seba, que siempre que pudieron me dieron una mano y me apoyaron.

Mis amigos de secundaria, que son muchos para nombrarlos, por ser la segunda familia que elegí y estuvieron en todos los momentos.

Mis amigas y amigo de la universidad, Aylen, Azul, Evelyn, Lucia y Kevin, no sólo fueron compañeros en muchas materias, sino que siempre estuvieron para ayudarme en lo que necesitara y fueron clave en muchas cosas durante la universidad.

Un agradecimiento muy especial a Loreley, que no sólo fue una docente espectacular, sino que una persona maravillosa.

A toda la comunidad educativa, docentes, alumnos, compañeros, y demás. Todos aportaron su grano de arena para que pueda formarme personal y profesionalmente.

Y sobre todo esto, quiero agradecer a Dios que SIEMPRE estuvo conmigo, momentos malos, momentos buenos, momentos dónde no sabía donde ir o que hacer. Por más que muchas veces no estuve muy cerca de él, su contención y guía siempre estuvieron.

Lamento si me olvidé o no nombré a alguien, pero quiero que sepan que todas las personas que alguna vez se relacionaron conmigo o me invitaron un mate, todos tuvieron su aporte en este tramo de vida.

Por último, quiero dejar un lindo texto bíblico que me gustó:

¡Jamás podría escaparme de tu Espíritu! ¡Jamás podría huir de tu presencia! Si subo al cielo, allí estás tú; si desciendo a la tumba, allí estás tú. Si cabalgo sobre las alas de la mañana, si habito junto a los océanos más lejanos, aun allí me guiará tu mano y me sostendrá tu fuerza. Salmos 139:7-10



Introducción

La pesca y acuicultura son actividades que tienen un fuerte impacto tanto por su valor económico como por su valor en la sociedad, sin olvidar su impacto ecológico. En la edición del 2024 de “El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura” (FAO, 2024) se señala que la producción pesquera y acuícola mundial en 2022 ascendió a 223,2 millones de toneladas, un 4,4% más que en 2020. La producción sin precedentes de alimentos de origen acuático pone de manifiesto el potencial del sector para hacer frente a la inseguridad alimentaria y la malnutrición. Argentina no es la excepción en estas actividades; la producción total creció un 1% en el mismo periodo (FAO, 2024). Según el mencionado informe, el 89% de la producción total de animales acuáticos se destinó a consumo humano, equivalente a unos 20,7 kg per cápita en 2022. El resto se destinó a usos no alimentarios, principalmente a la producción de harina y aceite de pescado.

Según Noreen *et al.* (2025), el pescado es un alimento con alto valor nutricional, caracterizándose por una amplia variedad de macro y micronutrientes. La composición química específica varía entre especies, aunque comparten un perfil similar entre ellos:

Carbohidratos: la presencia de carbohidratos es casi nula con valores de <0,5%.

Lípidos: el contenido lipídico permite clasificar a los peces en 3 grupos: magros (<2,5%), semigrasos (2,5-6%) y grasos (6-25%). Además, poseen ácidos grasos poliinsaturados omega-3, como EPA (ácido eicosapentaenoico) y DHA (ácido docosahexanoico), y omega 6.

Proteínas: son el principal macronutriente, comprendiendo entre el 15-24% de su composición.

Vitaminas y minerales: dependiendo de la especie de pescado, se pueden encontrar una variedad de vitaminas como A, D, E y K. Mientras que los minerales que puede poseer son selenio, zinc, hierro, yodo y fósforo.

Agua: es el componente principal aportando casi la totalidad de su composición, encontrándose en un 66-81%.

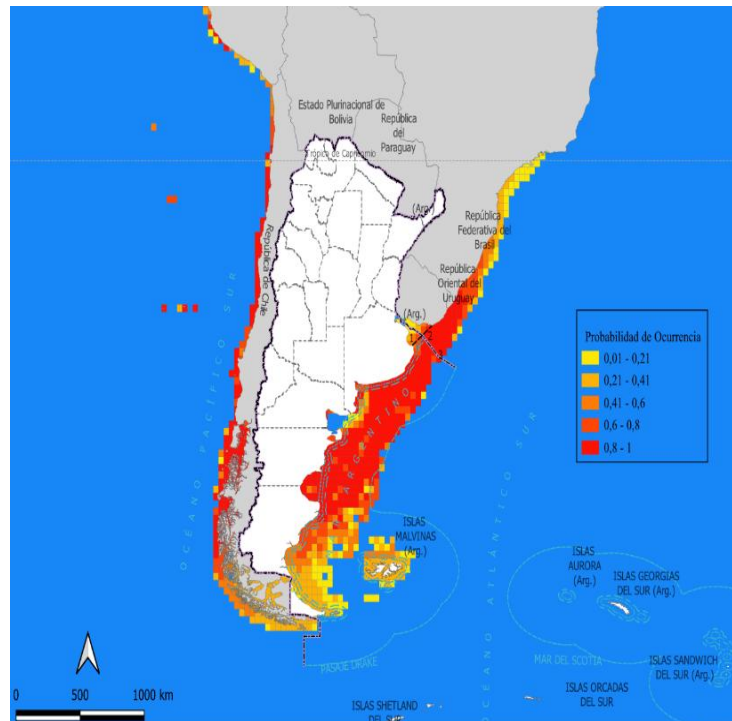
Producción en Argentina

En el año 2024, el 84% de las exportaciones de la actividad pesquera nacional correspondieron a tres especies: merluza (*Merluccius hubbsi*), calamar (*Illex argentinus*) y langostino (*Pleoticus muelleri*), siendo esta última especie la responsable del 27% del valor total de la exportación. Particularmente en la provincia de Chubut, la pesca de langostino tiene una importancia nacional destacada, con un 40% de los desembarques registrados en Puerto Madryn y un 41% en Puerto Rawson (Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca de la República Argentina, 2025).

Las flotas de la provincia de Chubut presentan una pesca enfocada en merluza y langostino utilizando técnicas de arrastre (Schulze & Góngora, 2022). Según Pettovello (2016) una consecuencia negativa de estas técnicas es su baja selectividad, provocando que varias especies capturadas de forma incidental (*bycatch*) no sean utilizadas, resultando descartadas o no aprovechadas. Una de varias especies afectadas por el *bycatch* es el pez gallo (*Callorhinchus*

callorhynchus (Linnaeus, 1758) (Bovcon *et al.*, 2013). Es un pez holocéfalo perteneciente a los condrictios, caracterizado por su hocico modificado en proboscis (trompa), las hembras alcanzan tallas de hasta 70 cm con un peso máximo de 5,5 kg, mientras que los machos alcanzan los 61 cm y 2,3 kg. Se distribuye desde el sur de Brasil hasta Perú, pasando por Uruguay, Argentina y Chile, y desde la línea de costa hasta los 200 m (Bovcon *et al.*, 2018) (Figura 1).

Figura 1: Mapa de distribución del pez gallo (*Callorhynchus callorhynchus*).



Mapa basado en datos de probabilidad de ocurrencia de Aquamaps.

Las capturas de pez gallo registradas en Chubut para el periodo 2022-2025 fueron: 167,82 t (2022), 71,97 t (2023), 75,55 t (2024), y 93,2 t (hasta noviembre de 2025). Si bien estas cantidades representan menos del 1% de la captura total anual, su relevancia radica en que continúa siendo un subproducto desaprovechado por la industria pesquera y alimenticia, cuyo destino se limita al consumo local o es tratado como descarte (Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca de la República Argentina, 2025).

Consumo de pescado

El consumo aparente mundial de alimentos derivados de animales acuáticos alcanzó los 162,5 millones de toneladas en 2021. Esta cifra ha aumentado a un ritmo casi dos veces superior al de la población mundial desde 1961, con un consumo mundial anual per cápita que ha pasado de 9,1 kg en 1961 a 20,7 kg en 2022. Según los datos de la FAO, Argentina se encuentra dentro de los primeros 30 países más productivos del mundo hasta el 2022, exportando casi el 90% de su producción en forma de productos congelados, con un bajo nivel de procesamiento y poco valor agregado. El consumo de productos pesqueros en Argentina se limita principalmente a filete de merluza, debido a la cultura y el poco conocimiento de comidas y preparaciones que



existen (Hirt-Chabbert *et al.*, 2024). El consumo de pescado en 2022 (kg per cápita por año) en Argentina (7,14) es bajo comparándolo a países sudamericanos como Uruguay (11,91), Chile (14,44), Perú (26,69), y aún más a escala global con países como Japón (44,98), Islandia (85,40) y Maldivas (80,03) (FAO, s.f).

Producción de pescado y su conservación

Según el informe de la FAO del 2024 antes mencionado, la mayor parte de la producción de pescados durante el 2022 fue destinada al consumo humano. Las preferencias en el mercado indicaron que 43% de la producción se basó en pescados vivos, frescos o refrigerados; un 35% de congelados; un 12% de preparados y conserva; un 10% de curados, que incluye prácticas como el secado, salazón, salmueras, fermentados o ahumados. Cabe resaltar que estos datos corresponden a un análisis global y que cada país, e incluso regiones, pueden variar en los hábitos de consumo, influenciados principalmente por la cultura, regulaciones sanitarias, ingresos del país y la relación PBI/capital.

Los peces son una fuente de diferentes macronutrientes y micronutrientes, junto con la combinación de la elevada cantidad de agua, el pH neutro y la presencia de múltiples microorganismos provocan que la duración de la frescura, luego de ser capturado, sea relativamente corta. Distintos procesos microbiológicos y bioquímicos deterioran el pescado, lo que perjudica la seguridad alimentaria y provoca la pérdida de nutrientes y propiedades organolépticas. Por esto mismo, se han desarrollado diferentes técnicas de conservación tradicionales y no tradicionales. Entre las tradicionales se encuentran la salazón, ahumado, secado y la utilización de salmueras, siendo el objetivo de estas técnicas la reducción del agua (actividad de agua) del pescado como factor más importante, sin embargo, algunas de esas técnicas mencionadas conducen a la pérdida de algunas propiedades organolépticas. Dentro de las no tradicionales se encuentran el enfriamiento, la congelación, hielo en suspensión, envasado al vacío, cuyo objetivo es mantener la frescura del pescado ralentizando la descomposición y la proliferación de microorganismos patógenos (Aljizani & Shafi, 2024; FAO, 2024). Estas formas de conservación de pescado pueden considerarse un valor agregado ya que permiten prolongar su frescura o aumentar su vida útil, satisfaciendo las demandas de los mercados. Las formas de preservación nombradas anteriormente no siempre son del todo exitosas, ya sea por costos asociados al equipamiento o materiales, por alteraciones indeseadas en las propiedades organolépticas o por imposibilidades debido a agentes externos (como el ambiente o factores relacionados a las buenas prácticas de manufactura) (Mohan *et al.*, 2020). Ante esto surge el método de la fermentación, capaz de darle un valor agregado superior al pescado, ya que no solo permite una mejoría en su conservación, sino que también le provee diferentes compuestos bioactivos y cambios en sus propiedades organolépticas, como sabor, textura o aromas. Uno de sus grandes valores radica en la variedad de productos resultantes, dependiendo de distintos factores: el tipo o clase de pescado y sus partes a utilizar; la variedad de condimentos empleados (principalmente NaCl); los microorganismos utilizados (ya sea de forma espontánea o agregado de cultivos específicos) y las condiciones de fermentación (Li *et al.*, 2024).

La inocuidad es uno de los elementos fundamentales durante la producción de alimentos, garantizando la seguridad del consumidor. A través de la línea productiva, los alimentos pueden ser contaminados por agentes biológicos, químicos o físicos. Los posibles contaminantes de los peces son dependientes de factores endógenos (propios del organismo) y exógenos (ambientales). Entre los principales contaminantes se encuentran una variedad de microorganismos, los cuales se disponen en diferentes órganos y tejidos de los peces vivos y



recién capturados, como son la piel, las branquias e intestinos, siendo responsables del deterioro de los peces capturados. Los músculos de peces sanos o recién capturados son estériles, luego de que ocurre la muerte los microorganismos que se encontraban en la superficie comienzan a invadir los tejidos internos, estos son responsables de la descomposición del pescado, y muchos de ellos son de interés bromatológico por ser potenciales patógenos de humanos, como *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas* spp., *Vibrio* spp., entre otros (Cortés-Sánchez *et al.*, 2024).

Alimentos funcionales

En la década del 80, el gobierno de Japón a través del Ministerio de Educación, Ciencia y Cultura, desarrolló la idea de los alimentos funcionales como un medio para mejorar la salud de dicha nación y, por lo tanto, reducir los costos asociados a la salud. Además, recomendaron que el desarrollo específico de estos alimentos sea de bajo costo, optimizando sus tierras fértiles con un valor agregado en sus productos basados en los compuestos bioactivos (Viell, 2001).

Enríquez-Estrella *et al.* (2022) definen el concepto de alimento funcional como: “Un alimento que demuestra satisfactoriamente que puede afectar beneficiosamente a una o más funciones objetivas del cuerpo humano, más allá de la nutrición adecuada. Los alimentos funcionales deben seguir siendo alimentos y deben demostrar sus efectos en cantidades que normalmente cabe esperar que se consuman en la dieta: no son pastillas ni cápsulas, sino parte de un patrón alimentario normal. Además de las características nutricionales, tienen propiedades que afectan positivamente en una o más funciones fisiológicas. Esta característica está relacionada con los componentes bioactivos y también depende de los diversos tratamientos tecnológicos aplicados a los alimentos”. Los compuestos bioactivos que se pueden encontrar en estos tipos de alimentos son: probióticos, flavonoides y carotenoides, todos ellos aportan un beneficio potencial al ser agregados o estar presentes en los alimentos.

Bajo este concepto se puede considerar al pescado como un alimento funcional *per se*, ya que además de poseer nutrientes, posee compuestos bioactivos que tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, neuroprotectoras, cardioprotectoras y hepatoprotectoras, entre otras. Aunque se han hecho diversos estudios en diferentes especies de peces, la información que se tiene sobre estos bioactivos sigue siendo escasa (Chen *et al.*, 2022; Noreen *et al.*, 2025).

La legislación sobre estos productos es compleja porque resulta difícil establecer categorías bien definidas para el amplio espectro de alimentos que se comenzaron a ofrecer en el mercado. Sin embargo, muchos países han avanzado en la idea de alimentos saludables para aquellos que relacionen sus propiedades con algún beneficio para la salud comprobado científicamente (Wang *et al.*, 2021).

Diabetes

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica degenerativa, no transmisible que se caracteriza por el aumento de la glucosa en sangre (hiperglucemia) persistente, debido a la poca o nula producción de insulina, o la resistencia a su efecto. Existen dos tipos de diabetes, la diabetes tipo 1 es una enfermedad autoinmune caracterizada por la destrucción selectiva de las células beta del páncreas productoras de insulina, y la diabetes tipo 2 caracterizada por una primera resistencia a la insulina, y una posterior y progresiva disfunción de las células beta (Jerez Fernández *et al.*, 2022). Se estima que en el mundo hay aproximadamente 588,7 millones de



personas (entre 20 y 79 años) con diabetes en 2024 representando una prevalencia del 11,1, y se espera que para 2050 haya un total de 852,5 millones, representando una prevalencia de 13%, también se estima que el 90% de los casos corresponden a casos de diabetes mellitus tipo 2. En el caso de Argentina se estima que 4,3 millones de personas entre 20 y 79 años padecen diabetes, representando un 14% de prevalencia (IDF, 2025).

Ambos tipos de diabetes mellitus tienen orígenes de aparición diferentes y su progresión en el tiempo difiere, pero las complicaciones a largo plazo son similares. Las principales complicaciones que aparecen son microvasculares (retinopatías, nefropatías, neuropatías) y macrovasculares (aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares, enfermedades arteriales periféricas, derrames cerebrales), aunque también se ha comenzado a evidenciar asociación epidemiológica con otras afecciones como diferentes tipos de cáncer, infecciones, apneas de sueño, demencia, Alzheimer, entre otras. La causa principal (aunque no única) de las complicaciones se relaciona con las hiperglucemias, las cuales conducen a rutas metabólicas que culminan en la generación de productos que dañan tejidos vasculares y tisulares, como la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS “reactive oxygen species”) (Fowler, 2008; Jerez Fernández *et al.*, 2022; Tomic *et al.*, 2022). Si bien actualmente no existe una cura definitiva para la diabetes mellitus, existen tratamientos que pueden retrasar las complicaciones mencionadas, haciendo posible que las personas lleven un estilo de vida normal. El tratamiento integral de la diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2 incluye una dieta con ingesta de nutrientes de forma controlada, ejercicio físico regular y un abordaje farmacológico. En la diabetes tipo 1, el tratamiento principal consiste en la administración de insulina exógena de forma regular. En la diabetes tipo 2 el tratamiento puede variar según el paciente, basado en la administración de insulina exógena o en la administración de hipoglucemiantes no insulina, como son biguanidas, inhibidores de la dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4) y análogos del GLP-1, sulfonilureas e inhibidores del cotransportador sodio-glucosa de tipo 2 (SGLT-2) (Jerez Fernández *et al.*, 2022). Otro tipo de tratamiento es retrasar la absorción de glucosa mediante inhibidores de enzimas digestivas, como las α -amilasas o α -glucosidasas. Los fármacos más utilizados son la acarbosa, miglitol y volglibosa, aunque muchos presentan efectos secundarios en los pacientes. Por esta razón, se investigan alternativas naturales de inhibidores de enzimas digestivas con menor o sin efectos secundarios, ampliando la variedad de tratamientos (Li *et al.*, 2022).

Microorganismos “starter” o iniciadores

La producción de alimentos fermentados tradicionales involucra el uso de diferentes microorganismos obtenidos de forma espontánea, ya sea del ambiente o de productos anteriormente fermentados. Además, las distintas condiciones en las que pueden llevarse a cabo las fermentaciones permiten la generación de diversos productos, incluso a partir de las mismas materias primas. Por otro lado, la inoculación de cepas específicas y el control de las condiciones permiten regular la velocidad y el rendimiento de la fermentación, dando lugar a una fermentación controlada. De esta forma se presentan beneficios como la estandarización del proceso y del producto final, así como la inhibición o control de microorganismos indeseables (Skowron *et al.*, 2022).

Los alimentos fermentados tienen diversos beneficios para la salud, que dependen de la microbiota, del proceso de producción y de la propia materia prima. En cuanto al pescado fermentado, sus beneficios para la salud giran en torno a sus propiedades antioxidantes y anticancerígenas; así como posibles efectos sobre la salud mental y actividad antihipertensiva,



como consecuencia de los microorganismos implicados y sus metabolitos producidos durante la fermentación (Chan *et al.*, 2023).

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son los principales microorganismos de la fermentación láctica en alimentos. Las BAL son un grupo diverso de bacterias grampositivas, generalmente no motiles, no formadoras de esporas, catalasa y oxidasa negativas, tolerantes al ácido, estrictamente fermentativas y con requerimientos nutricionales complejos (Ngasotter *et al.*, 2020). En la industria alimentaria son utilizadas debido a que algunos géneros son productores de diferentes metabolitos primarios y/o secundarios o por poseer características beneficiosas para la salud humana (Castellone *et al.*, 2021).

Las bacterias ácido lácticas como probióticos

Tanto Castellone *et al.* (2021) como Maftei *et al.* (2024) abordan los beneficios en la salud de los alimentos fermentados utilizando BAL, principalmente en su rol como probióticos. Entre los géneros de BAL que se utilizan como probióticos se encuentran *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, entre otros. Los probióticos son definidos por la FAO y la OMS como “microorganismos vivos que, cuando son administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios a la salud del hospedador”. Estos beneficios están basados en la producción de compuestos bioactivos, funciones antagonistas contra patógenos, estimulación y regulación del sistema inmune, entre otros. En particular, el pasaje de cepas probióticas por el tracto digestivo genera ciertos beneficios relacionados con la colonización de la mucosa intestinal y la interacción que ocurre con la microbiota gastrointestinal. Para ello poseen diferentes mecanismos de acción, como la mejora de la función de la barrera epitelial, adhesión a la mucosa intestinal, producción de sustancias antimicrobianas, exclusión competitiva de patógenos y la modulación del sistema inmune. Para que un probiótico pueda tener efectos benéficos en el tracto gastrointestinal debe presentar las siguientes características:

- i. Resistencia a los ácidos del sistema digestivo.
- ii. Resistencia a las sales biliares.
- iii. Capacidad de colonizar las paredes intestinales.
- iv. Competir por nutrientes.
- v. Permanecer vivos en el tracto gastrointestinal. (Castellone *et al.*, 2021; Maftei *et al.*, 2024).

Estatus GRAS y QPS

Según la FDA (“*Food and Drugs Administration*”) de Estados Unidos, el estatus GRAS (“*Generally Recognized as Safe*”) es una designación dada a sustancias que son agregadas intencionalmente a alimentos en concentraciones específicas, las cuales son consideradas como seguras para la salud humana. Las sustancias pueden ser enzimas, microorganismos o derivados de microorganismos. La evaluación para obtener el estatus se basa en la evidencia científica y un consenso de expertos. Si el estatus es concedido, se emite notificación pública y la lista de sustancias es actualizada periódicamente (FAO, s.f.).

Por otro lado, la EFSA (“*European Food Safety Authority*”) posee un término similar denominado QPS (“*Qualified presumption of safety*”). Es un estatus otorgado a microorganismos agregados intencionalmente a los alimentos (destinados a dietas humanas,



como a dietas de animales de consumo) o a la cadena alimentaria, considerados seguros para el consumo humano. La evaluación del estatus QPS se basa en 4 criterios:

1. Unidad taxonómica (UT): identificación de la UT del microorganismo, en el caso de bacterias, levaduras y protistas se especifica la especie; para virus, la familia. Solo se aceptan UT biológicas inequívocamente definidas (sin ambigüedad). En el caso de bacterias la identidad taxonómica está basada en la clasificación taxonómica internacional, supervisada por el ICPS (Comité Internacional de Sistemática Procariota, en español). La nomenclatura y sus cambios se citan en la lista aprobada de nombres o publicada por IJSB (*“International Journal of Systematic Bacteriology”*), en la LPSN (*“List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature”*). La taxonomía es una disciplina dinámica y en constante cambio, por lo que las listas de organismos con estatus QPS deben ser actualizadas constantemente.
2. Suficiente información relevante para la exposición humana o animal a través del alimento, se tiene en cuenta la cantidad de literatura científica acerca de la UT. Los aspectos ecológicos del organismo son tenidos en cuenta, incluyendo su distribución en ambientes naturales. También se incluyen aspectos históricos y el uso de UT en la producción de alimentos.
3. Conocimiento de riesgos de seguridad asociados con la UT: Las UT incluidas en las listas QPS no deben representar riesgos para la salud humana o animal. En casos donde se reporten enfermedades o intoxicaciones relacionadas con una UT, se evalúa si las personas afectadas presentaron una predisposición a infecciones oportunistas. Cuando se identifica un riesgo que puede verificarse a nivel de cepa o producto, se puede añadir una “calificación” específica para excluir dicho riesgo. Entre las clasificaciones posibles se encuentran: para bacterias y levaduras, la ausencia de genes adquiridos que confieran resistencia a antimicrobianos relevantes para humanos y animales; uso exclusivo para producción, lo que implica que la UT no debe estar presente como célula viable en el producto final, aplicándose a productos como vitaminas o aminoácidos.
4. Uso final previsto: el contexto en que se utilizará el microorganismo (Allende *et al.*, 2025; Koutsoumanis *et al.*, 2020).

En el caso de las BAL, muchas especies se encuentran con ambos estatus, es decir, que tanto la FDA como la EFSA les provee un soporte para ser utilizados en alimentos.

Propiedades funcionales y tecnológicas de las BAL

Actividad proteolítica

Kieliszek *et al.* (2021) definen la actividad proteolítica como la capacidad que tienen las bacterias para degradar proteínas, es decir, hidrolizar los enlaces químicos de proteínas formando cadenas de péptidos más pequeños y/o aminoácidos. Para realizar esto las BAL llevan a cabo los siguientes procesos:

- 1- Degradación extracelular: utilizando exopeptidasas las proteínas son degradadas formando di, tri y oligopéptidos.
- 2- Transporte: una vez obtenido los péptidos, son transportados al interior celular por medio de tres sistemas con gasto de ATP:
 - a. Opp: transporta oligopéptidos



- b. DtpT: transporta di- y tripéptidos, posee una afinidad con los péptidos hidrofílicos
 - c. Dpp: transporta di-, tri- y tetrapéptidos con cadenas laterales de aminoácidos ramificados e hidrofóbicos, mostrando una mayor afinidad por los tripéptidos, aunque no se limita a ellos.
- 3- Degradación intracelular: dentro de la célula los péptidos transportados son degradados a aminoácidos por medio de endopeptidasas (rompen los enlaces de los péptidos) y aminopeptidasas (remueve los aminoácidos de las terminales C y N). Los productos de estas enzimas sirven de sustrato para las di y tripeptidasas, que finalizan la degradación de péptidos a aminoácidos.

La actividad proteolítica de las BAL es aprovechada en la industria alimentaria siendo utilizada en distintos procesos. Entre sus aplicaciones se encuentran la modificación de las propiedades organolépticas de la matriz alimentaria, a través de la formación de compuestos que cambian el color, el sabor, la textura y el aroma; la eliminación de alérgenos peptídicos presentes en diversos productos; y la formación péptidos de pequeño tamaño y aminoácidos libres más fáciles de absorber, aumentando la digestibilidad de proteínas (Kieliszek *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021).

Actividad antimicrobiana

Una de las propiedades más relevantes para el uso de las BAL en la industria alimentaria es su capacidad antimicrobiana contra microorganismos potencialmente patógenos y/o deteriorantes de los productos. Algunos mecanismos de acción antimicrobiana son:

- Producción de ácido láctico: la fermentación láctica es un proceso por el cual las BAL utilizan los carbohidratos disponibles para la formación de ácido láctico como principal producto, provocando que el pH del medio se vuelva ácido (4-4,5), actuando como inhibidor de muchas bacterias y patógenos (Zapasnik *et al.*, 2022).
- Producción de bacteriocinas: las bacteriocinas son péptidos o proteínas sintetizadas por las BAL que poseen una actividad antimicrobiana contra una variedad de bacterias. Las bacteriocinas poseen diferentes mecanismos de acción, entre ellos se destaca el aumento de la permeabilidad de la membrana, la inhibición de la síntesis de la pared celular, inhibición de la síntesis de proteínas, etc. (Wang *et al.*, 2021).
- Producción de peróxido de hidrógeno: en ambientes anaeróbicos y en ausencia de las enzimas intracelulares catalasa, pseudocatalasa o peroxidasa, las BAL producen peróxido de hidrógeno (H₂O₂), el cual puede dañar la membrana celular y otras estructuras en otros microorganismos (Ibrahim *et al.*, 2021).

Actividad antioxidante

Las BAL son bacterias anaerobias aerotolerantes, lo que significa que no utilizan O₂ en la formación de ATP, y poseen mecanismos que le permiten sobrevivir a este gas. El sistema más característico es NADH oxidasa/NADH peroxidasa, en el que el O₂ es empleado como aceptor de electrones formando H₂O₂ por la NADH oxidasa (EC 1.6.3.1); luego la enzima NADH peroxidasa (EC 1.11.1.1) lo transforma en H₂O. Cuando la concentración de O₂ es elevada, la producción de H₂O₂ supera la capacidad de la enzima NADH peroxidasa, lo que conduce a un aumento en la concentración de H₂O₂ en la célula. Si bien la NADH peroxidasa es la principal enzima, existen otras con la capacidad antioxidante como la superóxido dismutasa (EC



1.15.1.1) y la catalasa (EC 1.11.1.6), entre otras. Si la concentración de H_2O_2 es muy elevada, producen otras especies reactivas de oxígeno (ROS, en inglés) como el OH^- y O_2^- . Además de las enzimas, existen compuestos antioxidantes que son sintetizados y acumulados, como glutatión (GSH) o el manganeso (II) (Bryukhanov *et al.*, 2022).

Actividad antidiabética

Los carbohidratos constituyen una de las principales fuentes de energía para el organismo. Para su digestión, se requieren enzimas capaces de hidrolizar los enlaces glucosídicos, formando monosacáridos que luego serán absorbidos en el intestino delgado. Estas enzimas pueden ser clasificadas en dos categorías principales: amilasas, las cuales hidrolizan enlaces α -1-4 del almidón formando maltosas o glucosas libres; y glucosidasas, que son un conjunto de enzimas que hidrolizan enlaces glucosídicos de oligosacáridos como maltosa, lactosa o sacarosa formando monosacáridos. En humanos la amilasa se puede encontrar en la saliva (amilasa salival) y en el intestino secretada por el páncreas (amilasa pancreática) (Elferink *et al.*, 2020).

Por medio de la inhibición de α -amilasas y α -glucosidasas se puede lograr el retraso en la digestión de carbohidratos y la absorción de glucosa, que son los tratamientos más prometedores para evitar las hiperglucemias. Los inhibidores se pueden clasificar según su método de acción:

- Inhibición competitiva de carbohidratos: carbohidratos modificados resistentes a la digestión (no pueden ser hidrolizados), funcionan como análogos en las enzimas evitando la liberación de glucosa. Diversos derivados se han propuesto, algunos inhiben amilasas, otros glucosidasas o ambos. La acarbosa, a pesar de sus efectos negativos, sigue siendo uno de los mejores inhibidores, por lo que se trata de imitar o modificar su estructura.
- Inhibición proteica: péptidos (2-20 residuos de aminoácidos) pueden actuar de diferentes maneras, como inhibidores competitivos del sustrato, o uniéndose al complejo enzima-sustrato interfiriendo con la reacción, o una combinación de ambos. Sin embargo, la cantidad de péptidos con esta función sigue siendo reducida (Li *et al.*, 2022).

Huligere *et al.* (2023) aislaron y caracterizaron BAL probióticas, provenientes de diferentes masas ácidas fermentadas semilíquidas (“fermented batters”). Posteriormente, evaluaron la capacidad inhibitoria de estas cepas sobre las enzimas α -amilasas y α -glucosidasas. Los resultados obtenidos fueron favorables, incluso superando en algunos casos a los obtenidos por la acarbosa. Estos resultados son relevantes, abriendo la posibilidad de buscar nuevas cepas o especies de BAL con efectos similares.

Alimentos fermentados

Generalidades

Se entiende la fermentación como un proceso por el cual los microorganismos transforman los carbohidratos en moléculas orgánicas para producir energía en rutas metabólicas alternativas a las utilizadas en la respiración aeróbica (aunque menos eficientes energéticamente). Dependiendo de las condiciones y de los microorganismos involucrados, los productos finales



pueden ser ácido láctico, etanol, dióxido de carbono, ácido acético o una combinación de estos, y una variedad de otros compuestos bioactivos y/o metabolitos. La industria alimentaria (industrial y artesanal) utiliza estos procesos de fermentación para la elaboración de diversos productos, modificando sus propiedades organolépticas, así como incorporándoles un valor agregado a los alimentos (Voidarou *et al.*, 2020; Praveen & Brogi, 2025).

Desde la antigüedad hasta la época actual, los alimentos fermentados han ocupado un lugar importante en la dieta de las personas, formando incluso parte de la identidad de culturas. Muchos alimentos fermentados pueden ser clasificados como funcionales, ya que el proceso de fermentación por parte de los microorganismos produce diferentes metabolitos bioactivos, además de ser una forma de conservación. Una variedad de diferentes materias primas pueden ser fermentadas, entre ellas: carnes, cereales, leche, frutas y verduras (Şanlıer *et al.*, 2017).

Beneficios para la salud

El consumo frecuente de alimentos fermentados en la dieta de las personas ha demostrado tener efectos positivos en la salud, principalmente contra enfermedades no transmisibles como anorexia nerviosa, enfermedades cardiovasculares, obesidad, algunos tipos de cáncer, inflamación intestinal, infecciones en el tracto digestivo o diabetes. El modo de acción de los alimentos fermentados se basa en el efecto que tienen sobre la modulación, modificación y protección de la microbiota del tracto digestivo y en la producción de compuestos bioactivos por parte de los microorganismos utilizados (Şanlıer *et al.*, 2017; Leeuwendaal *et al.*, 2022; Patel *et al.*, 2023).

Pescado fermentado

Existen diferentes métodos de preservación de pescado que buscan la forma de extender la conservación, reduciendo el crecimiento microbiano. Debido a las propiedades funcionales y tecnológicas de las BAL, la fermentación de pescado por parte de este grupo de bacterias (biopreservación) ofrece otra alternativa a las técnicas usadas comúnmente. La fermentación no sólo inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos y/o contaminantes, sino que también aporta diferentes beneficios y características organolépticas al producto final. Cabe resaltar que de por sí la biopreservación no reemplaza las buenas prácticas de manipulación de alimentos, sino que se debería usar en combinación (Cortés-Sánchez *et al.*, 2024).

Si bien la fermentación de pescado no es algo nuevo, el uso controlado de esta técnica se ha extendido debido al aumento en la demanda de pescado. Los microorganismos utilizados principalmente son las BAL, las cuales se pueden integrar a la producción de diferentes alimentos a partir de su presencia en el pescado (fermentación espontánea) o a partir de cultivos iniciadores (fermentación controlada), incluso en algunos casos se utilizan los productos formados por las BAL como las bacteriocinas (Ngasotter *et al.*, 2020; Cortés-Sánchez *et al.*, 2024). Según Chan *et al.* (2023), los parámetros de la fermentación incluyen:

- Proporción de sal: además de agregar un sabor adicional al pescado, la sal produce una reducción de la actividad del agua, inhibiendo el crecimiento de muchos patógenos. La concentración óptima de crecimiento para las BAL, se encuentra entre 6-7%, una concentración mayor podría favorecer a especies halófitas como *Staphylococcus spp.*



- Carbohidratos: debido al bajo porcentaje de carbohidratos que se encuentra en el pescado, es necesario agregarlos desde una fuente externa como arroz, mijo, harina, azúcares o ajo. El agregado de carbohidratos proporciona sustratos para que la fermentación por parte de las BAL pueda llevarse a cabo. La formación de ácido láctico permite un descenso en el pH, induciendo una gelificación. En este sentido, el agregado de carbohidratos influye en la textura final del producto.
- Cultivos iniciadores: el uso de cultivos iniciadores permite una fermentación más controlada y, por lo tanto, mejores resultados esperados en el producto final. El uso de cultivos puros (una sola cepa) no tiene la misma efectividad que el agregado de múltiples cepas interactuando de forma sinérgica. Esto se debe a que mientras una cepa se encarga del proceso de fermentación, la otra cepa puede sintetizar metabolitos que inhiben el crecimiento de patógenos.

Otros factores que influyen son el tiempo de fermentación, la humedad del pescado y la temperatura a la cual se lleva a cabo el proceso. También hay que tener en cuenta la materia prima que se va a utilizar, es decir, la especie de pescado, que partes de este es la que se va a fermentar y sus características bioquímicas antes de aplicarle algún proceso que pueda alterarlas.

La producción de alimentos en base a fermentos de pescados puede presentarse en diferentes formas, cada uno con sus propias propiedades organolépticas y alimenticias, variando en su composición como en su fermentación. Se destacan tres variedades: los productos en los que se utiliza todo el pescado o partes de ellos, las pastas y las salsas de pescado. Algunos de los ejemplos incluyen: shidal (India); jeotgal (Korea); katsuobushi (Japón); feseekh (Egipto); surströmming (Suecia); bagoong (Filipinas), entre otros (Mondal *et al.*, 2022; Chan *et al.*, 2023).

Los pescados fermentados poseen una variedad de propiedades funcionales como cambios en su digestibilidad, además de presentar actividad antioxidante, antimutagénica, actividad antihipertensiva, anticáncer, anticoagulante, además de ser una fuente de probióticos (Ngasotter *et al.*, 2020; Yasmin *et al.*, 2022; Cortés-Sánchez *et al.*, 2024).

En los últimos años se ha generado la tendencia al consumo de alimentos naturales, libres de químicos y mínimamente procesados. Para tal fin se ha demostrado la función de las BAL en la generación, conservación e inocuidad de los alimentos a través de su crecimiento y producción de metabolitos bioactivos. Por otra parte, con el advenimiento de la medicina de precisión, existe un interés creciente en conocer los beneficios potenciales del consumo de alimentos fermentados, como una estrategia para mejorar el valor nutricional y de recibir los beneficios que poseen estos productos para la salud humana. Por lo expuesto, resulta de interés y de relevancia evaluar el potencial funcional y/o tecnológico de BAL autóctonas con el propósito de seleccionarlas para su utilización como cultivos iniciadores para la fermentación de pescado, algo novedoso para el mercado de producción de alimentos nacional.



Objetivo General

El desarrollo de alimentos fermentados responde a un doble interés: dar mayor valor agregado y favorecer el consumo de alimentos más saludables que ayuden a prevenir enfermedades de alto impacto en la salud pública. Debido a la relevancia de los probióticos para la salud humana, es importante identificar candidatos bacterianos con potencial para su uso en productos alimenticios alternativos. En este contexto, el objetivo del trabajo fue la utilización de BAL con potencial capacidad tecnológica y funcional para producir un alimento a base de músculo de pez gallo en procesos controlados, que den origen a productos de calidad estable, inocuos y con propiedades beneficiosas para la salud.

Objetivos Específicos

- Seleccionar de la colección de BAL del Laboratorio Biotecnología Bacteriana (FCNyCS, sede Trelew, Universidad Nacional de la Patagonia SJB) cepas con capacidad funcional y/o tecnológicas comprobadas en estudios anteriores.
- Establecer protocolos de fermentación controlada, combinaciones de cepas y condiciones fisicoquímicas que logren la generación de un producto de alto valor agregado, utilizando organismos de bajo interés comercial.
- Evaluar la calidad microbiológica del alimento obtenido mediante fermentación y durante su conservación a bajas temperaturas.
- Evaluar factores nutricionales como la capacidad antigluceante, producción de metabolitos con actividad antimicrobiana y aumento de la disponibilidad de compuestos bioactivos.



Materiales y métodos

1- Material biológico. Selección de cepas

Para la realización del plan de tesis se seleccionaron dos cepas de BAL pertenecientes al Cepario del Laboratorio de Biotecnología Bacteriana. La cepa *Lactococcus lactis* Tw34 (N° de acceso al Genbank: GQ845022), aislada del intestino de pejerrey (*Odonthesthes platensis*) se seleccionó sobre la base de su capacidad inhibitoria (productora de nisina Z) (Sequeiros *et al.*, 2010). La cepa *Lactiplantibacillus argenteratensis* RBTw249 (N° de acceso al Genbank: MT178441) proveniente de la fermentación espontánea de repollo blanco (*Brassica oleracea* L. ssp. *capitata* (L.) Metzg) se seleccionó por su capacidad acidificante y su actividad antilisteria (Parada, 2023).

2- Medios de cultivo y condiciones

Las cepas anteriormente mencionadas se repicaron a agar de Man, Rogosa y Sharp (MRS) (Biokar, Francia), se incubaron durante 24 h a temperatura óptima (30 °C para *L. lactis* y 35 °C para *L. argenteratensis*) y se conservaron a 4 °C hasta su posterior uso. Se realizó un primer repique a caldo MRS, se incubaron en las mismas condiciones y posteriormente se repicaron a caldo MRS para incubarse nuevamente. Los cultivos luego se centrifugaron a 4000 rpm, se descartó el sobrenadante, se realizaron dos lavados de los pellets con agua destilada estéril y por último se resuspendieron en el mismo volumen con agua destilada estéril. Las suspensiones celulares se conservaron a 4 °C hasta su uso.

3- Preparación del alimento funcional

Para el prototipo del alimento se utilizó pez gallo (*Callorhinchus callorhynchus*), quitándole la cabeza, cola, aletas y vísceras, quedando solamente el tronco sin tegumento. Posteriormente, el músculo se calentó en agua a 100 °C durante 15 min, se dejó enfriar y se procesó con un mixer de 400 W de potencia (Atma LM 852, China) hasta obtener una pasta homogénea. A la pasta se le agregó NaCl de grado alimentario al 3%, 1% de glucosa, 1% de sacarosa, 0,1% de pimienta, 0,05% de cardamomo, 0,5% de alginato de sodio de grado alimentario, 0,5% de CaCl₂, 0,1% de sorbato de potasio y 16,6% de agua, según las recomendaciones de Xia *et al.* (2011). Posteriormente, se inoculó con 1% de las suspensiones de cada una de las cepas seleccionadas y se homogeneizó. Finalmente, se llevó a cabo la fermentación a 22 °C durante 72 h.

4- Toma de muestra

Los ensayos posteriores se realizaron a partir del alimento funcional. Para tal fin, se tomaron muestras el día 0 (T0) de la fermentación, al día 1 (T1), al día 2 (T2) y al día 3 (T3). Posteriormente se tomaron muestras del alimento conservado a -35 °C para evaluar la calidad microbiológica, recuento de BAL y aerobios, luego de 30, 60 y 90 días.



5- Evaluación del proceso de fermentación del alimento funcional

5.1. Determinación del pH y viabilidad de las BAL

El monitoreo de la evolución de la fermentación se llevó a cabo determinando la disminución del pH durante los 3 días de la fermentación, utilizando un pH-metro calibrado Orion 410A con un electrodo de sólidos Orion 8135BN. En paralelo, se evaluó la viabilidad de las BAL durante el proceso de fermentación. Se tomaron muestras en tubos falcon estériles y se homogeneizó con agua peptonada (0,1% m/v) (Biokar, Francia). Posteriormente, los tubos se homogeneizaron durante 1 min con vortex, y se realizaron diluciones seriadas con agua peptonada estéril y se sembraron agar MRS suplementado con ácido nalidíxico (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y nistatina (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), como inhibidores de bacterias Gram negativas y hongos/levaduras, respectivamente. La siembra se realizó en superficie y las placas se incubaron durante 48 h a 37 °C. Posteriormente se realizó un recuento de BAL, expresando los resultados como unidades formadoras de colonias por gramo del producto fermentado (UFC/g).

5.2. Análisis microbiológicos del alimento funcional

Por otra parte, se llevó a cabo la determinación de mesófilos, *E. coli*, *Listeria* spp., hongos y levaduras mediante recuento en placa al inicio del ensayo, luego del periodo de fermentación (3 días), luego de su conservación a -35 °C a los 30, 60 y 90 días.

El recuento de aerobios totales se realizó en medio PCA (por su sigla en inglés Plate Count Agar) (Biokar, Francia) mediante siembra en superficie y las placas se incubaron durante 48 h a 30 °C. Se utilizó agar Sabouraud suplementado con cloranfenicol (Biokar, Francia) para el recuento de hongos y levaduras; la siembra se realizó en superficie y las placas se incubaron durante 5 días a 25 °C. Para el recuento de *Listeria* se utilizó agar PALCAM (Britania, Argentina), la siembra se realizó en superficie y las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. Por último, la determinación de *E. coli* se realizó en agar violeta rojo bilis (VRBL) (Biokar, Francia) mediante la siembra en superficie y las placas se incubaron durante 24 h a 37 °C. Los resultados se expresaron como log UFC/g.

6- Actividad inhibitoria del alimento funcional

Se tomaron 1 g de muestra al inicio y durante los siguientes 3 días de la fermentación para determinar la actividad inhibitoria sobre *Listeria monocytogenes* Scott A. Se realizó una dilución 1:2 con agua destilada estéril, se mezcló mediante vortex y posteriormente se efectuaron diluciones al medio. El ensayo de inhibición se realizó mediante el método de difusión en placa según las recomendaciones de Vallejo *et al.* (2013). Para tal fin, se colocaron 50 μL de las diluciones en pocillos practicados en placas de tripticasa soya (TS) suplementadas con 1,2% de agar (Britania, Argentina) sembrados previamente con 50 μL de un cultivo overnight (0.5 de la escala Mc Farland) de la cepa indicadora. Las placas se incubaron durante 24 h a 37 °C y la actividad inhibitoria se expresó como unidades arbitrarias/mL. Las unidades arbitrarias (UA) equivalen a la inversa de la mayor dilución con actividad antimicrobiana (halo de inhibición), dividida por los mililitros de sobrenadante sembrados (UA=1/dilución/mL sembrados).



7- Determinación de fracciones proteicas

La evaluación de la actividad proteolítica en el alimento se llevó a cabo mediante la determinación de las fracciones proteicas solubles en agua y en ácido tricloroacético utilizando la técnica descrita por Marguet *et al.* (2017), al inicio y durante los 3 días de fermentación. Para ambos tratamientos las muestras (1 g) se mezclaron con 10 mL de agua destilada estéril, obteniendo una concentración 0,1 g/mL. Las diluciones se conservaron a 4 °C durante 24 h, posteriormente se centrifugaron a 3000 g durante 2 min. Se utilizó la técnica del o-ftalaldehido (OPA) para evaluar la concentración de péptidos solubles en el sobrenadante (Church *et al.*, 1983).

Fracción proteica soluble en agua (FSA): para cada muestra se tomaron alícuotas de 50 µL del sobrenadante, se agregaron 2 mL del reactivo OPA y se incubaron durante 5 min.

Fracción proteica soluble en tricloroacético (FST): para cada muestra se tomaron 500 uL del sobrenadante y se le agregó la misma cantidad de ácido tricloroacético (24%), luego se homogeneizaron utilizando vortex y se dejaron reposar durante 10 min. Finalmente se tomaron alícuotas de 100 µL, se agregaron 2 mL del reactivo OPA y se incubaron durante 5 min.

Para ambas determinaciones (FSA y FST) la lectura se realizó a 340 nm en cubeta de vidrio en un espectrofotómetro Jenway 6405 UV/vis, teniendo como referencia una curva patrón de leucina. Los resultados se expresaron en mg de leucina/100 g de alimento.

8- Actividad antioxidante

Para evaluar la actividad antioxidante del alimento funcional se utilizaron 2 ensayos: DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y CUPRAC (CUPric Reducing Antioxidant Capacity, en inglés).

8.1. DPPH

El ensayo se realizó siguiendo la metodología propuesta por Zhang *et al.* (2013). Para tal fin, primero se tomaron 100 µL de las muestras (concentración 0,1 g/mL), y se adicionaron a 1 mL de reactivo de DPPH (0,05 mM) y se incubaron 30 min a 37 °C en oscuridad. Se realizaron las lecturas a 517 nm, y se utilizó una curva patrón de ácido ascórbico. Los resultados se expresaron en mmol de ácido ascórbico equivalente por mL de extracto.

8.2. CUPRAC

El ensayo se realizó siguiendo las recomendaciones de Apak *et al.* (2004). La solución de CUPRAC se preparó con 1 mL de neocuproina (1mg/mL de etanol), 0,5 mL de CuCl₂ (0,01M), y 1,5 mL de buffer acetato de sodio (0,05M, pH 6,0). Las muestras se prepararon según lo detallado en la sección “Determinación de fracciones proteicas”.

Para el ensayo se adicionaron 100 µL de cada muestra a 900 µL de reactivo CUPRAC y se incubaron durante 1 h a 37 °C. Luego se realizaron lecturas a 450 nm, utilizando una curva de ácido ascórbico como patrón. Los resultados se expresaron en mmoles de ácido ascórbico equivalente por mL de extracto.



9- Actividad inhibitoria sobre enzimas relacionadas con la diabetes tipo 2

Se evaluó la inhibición de enzimas relacionadas con la diabetes tipo 2: α -glucosidasa y α -amilasa pancreática, utilizando las muestras del inicio y final de la fermentación.

9.1. Determinación de la capacidad inhibitoria de la α -glucosidasa (EC 3.2.1.20)

Se determinó la capacidad inhibitoria de la α -glucosidasa (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) siguiendo las recomendaciones de Konrad *et al.* (2014). Los tratamientos de inhibición se llevaron a cabo adicionando 100 μ L de una dilución 1/10 (0,1 g/mL) en agua destilada esteril de las muestras inicial y final de la fermentación a 1 mL de α -glucosidasa de *Saccharomyces cerevisiae* incubada durante 1 h a 36 °C. En paralelo, se realizó un tratamiento control con 1 mL de α -glucosidasa incubada durante 1 h a 36 °C. Posteriormente, se incubaron a 36 °C durante 1 h 100 μ L de los tratamientos anteriormente mencionados con 100 μ L de cinco diluciones seriadas de una solución madre de maltosa (Mallinckrodt, Estados Unidos) en buffer Z¹ (concentraciones finales 8, 4, 2, 1, 0,5 mM). Finalmente, la concentración de glucosa resultante de la actividad enzimática se determinó por la técnica de la glucosa oxidasa-peroxidasa (GOD-POD) (Wiener, Argentina). Se utilizó una curva de glucosa como patrón. La inhibición de la α -glucosidasa se evaluó mediante la comparación de curvas de Lineweaver-Burk entre el control y las muestras.

9.2. Determinación de la capacidad inhibitoria de α -amilasa pancreática (EC 3.2.1.1)

Se determinó la capacidad inhibitoria de la α -amilasa pancreática (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) siguiendo las recomendaciones de Admassu *et al.* (2018). Los tratamientos de inhibición se llevaron a cabo adicionando 100 μ L de una dilución 1/10 (0,1 g/mL) en agua destilada estéril de las muestras inicial y final de la fermentación a 1 mL de α -amilasa pancreática de cerdo (6 mg/mL), incubada durante 1 h. Se realizó un tratamiento control con 1 mL de α -amilasa pancreática (6 mg/mL) incubada durante 1 h a 36 °C. Posteriormente, se incubaron a 40 °C durante 15 min 100 μ L de los tratamientos anteriormente mencionados con 100 μ L de cinco diluciones seriadas de una solución madre de almidón soluble en buffer Z (concentraciones finales 8, 4, 2, 1, 0,5 mM). Finalmente, la concentración de maltosa resultante de la actividad enzimática se determinó por la técnica de la glucosa oxidasa-peroxidasa (GOD-POD) a 505 nm (Visvanathan *et al.*, 2019). Se utilizó una curva de maltosa como patrón. Los parámetros cinéticos de la inhibición de la α -amilasa pancreática se determinaron mediante las curvas de Lineweaver-Burk para el control y las muestras de fermentación.

10- Análisis estadístico

Todos los ensayos se realizaron de forma independiente y por triplicado. Los cálculos del promedio, desvío estándar y el análisis de la varianza (ANOVA) se realizaron con el lenguaje de programación R en Windows, al igual que el análisis estadístico *ad hoc* Tukey HSD con un nivel de $p < 0,05$.

¹ 100 mM Na₂HPO₄; 10 mM KCl; 1,6 mM MgSO₄, pH=6,8

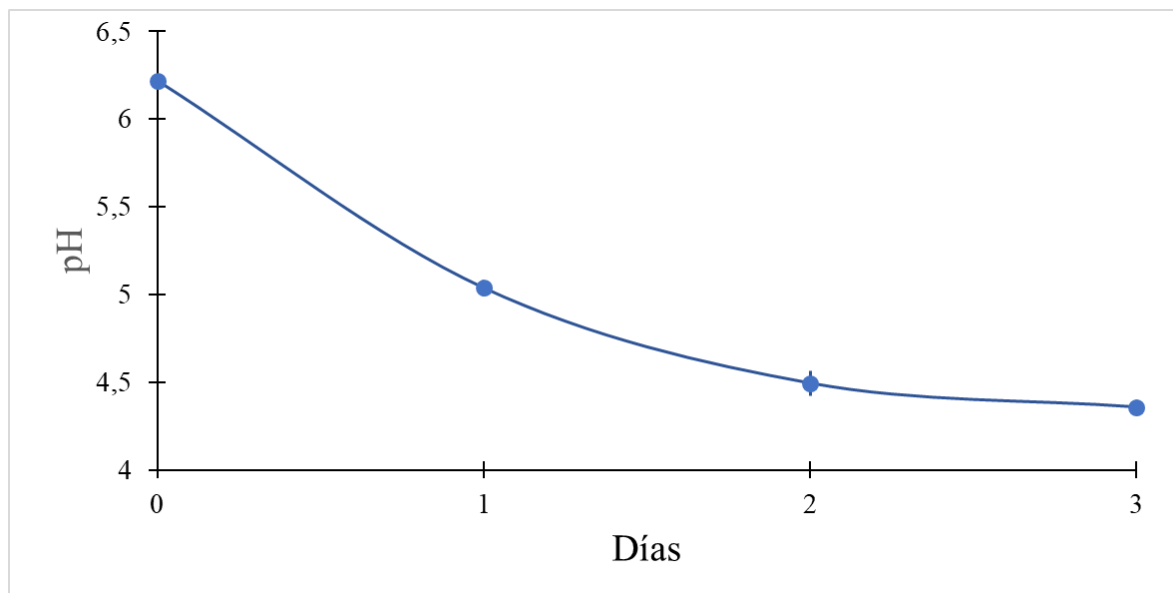
Resultados y discusiones

Reducción de pH durante la fermentación

La cantidad de carbohidratos presentes en el músculo de pescado es muy baja ($<0,5\%$), comparado a matrices vegetales cuyos jugos fermentados, sin incluir el vegetal entero, pueden contener $\sim 0,5-0,7\%$ de glucosa y otros azúcares (Valence *et al.*, 2025), o matrices frutales que pueden contener $\sim 30-80\%$ de carbohidratos, dependiendo de la fruta y la parte utilizada ya se la cáscara o la pulpa (Ngouémnam *et al.*, 2021; Costa *et al.*, 2024). Según Zang *et al.* (2019) en los alimentos fermentados a base de pescado se utilizan fuentes externas de carbohidratos, entre las más comunes se encuentran el arroz, el mijo, harinas, jarabe o azúcar, esto no solo permite una acidificación más rápida sino también un sabor característico.

Al inicio de la experiencia, el alimento presentó un pH de $6,22 \pm 0,03$, luego de un día de fermentación se observó un descenso significativo del pH a $5,04 \pm 0,06$. Al finalizar el proceso, el alimento presentaba un pH de $4,36 \pm 0,05$ (Figura 2). Este rápido descenso en el pH es importante en este tipo de alimentos fermentados, ya que permite la inhibición del crecimiento de microorganismos no deseados o patógenos (Chrun *et al.*, 2020).

Figura 2: Evolución del pH durante el periodo de fermentación.



Cambio de pH durante la fermentación del alimento. Los datos son presentados como el promedio de las muestras tomadas ($n=3$), las barras indican la desviación estándar.

Speranza *et al.* (2020) describen que agregando una concentración de sacarosa al 4% y utilizando una temperatura de fermentación de $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ en una matriz de pescado, les permitió alcanzar un pH de 4,4 luego de dos días de fermentación. En este estudio se utilizaron como fuentes externas de hidratos de carbono glucosa (1%), sacarosa (1%), y la fermentación se realizó a $22\text{ }^{\circ}\text{C}$. Si bien la temperatura fue inferior al mencionado trabajo, la cantidad de carbohidratos fue distinta y la cantidad de inóculo fue menor ($7,2\text{ log UFC/g}$). Sin embargo, se alcanzó un pH similar en el mismo periodo de fermentación.

La rápida acidificación puede ser explicada por la cepa *L. lactis* Tw34 utilizada en la producción del alimento. En el trabajo previo de Marguet *et al.* (2017) utilizando una matriz compuesta principalmente por residuos de merluza (*Merluccius hubbsi*) y suplementada con harina de cebada en un 25% como fuente de carbono, se observó un descenso similar en el pH por parte de la mencionada cepa. Además, según Saithong *et al.* (2010) la utilización de dos cepas, en este caso *L. lactis* Tw34 y *L. argenteratensis* RBTw249, podría haber tenido un efecto sinérgico en la acidificación.

Análisis microbiológico

Recuento de BAL y aerobios totales

Tabla 1: Recuento de microorganismos en el alimento.

	Días				
	0	3	30	60	90
BAL	7,21±0,07	11,29±0,14	10,63±0,16	9,85±0,10	8,62±0,09
Aerobios Totales	7,35±0,15	12,38±0,11	11,50±0,10	10,96±0,28	8,81±0,08

Recuento de microorganismos expresados en log UFC/g de alimento. BAL: bacterias ácido lácticas. Los días 0 y 3 corresponden al inicio y fin de la fermentación. Los días 30, 60 y 90 corresponden a los días que el alimento estuvo conservado a -35°C.

La tabla 1 muestra los resultados del recuento de BAL y de aerobios totales en el alimento durante su fermentación y almacenamiento. Se observó un incremento significativo en los recuentos luego de 3 días de fermentación, acompañado de un descenso de pH como se mencionó anteriormente. Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que no solo se produjo un aumento de la población de BAL durante el proceso de fermentación, sino que también se mantuvieron viables durante su conservación bajo cero. Según el artículo 1389 del Código Alimentario Argentino, para que un alimento sea considerado como “Alimento con probióticos” debe presentar una carga de células viables entre 6 y 9 log UFC/g, por lo que este producto contiene una cantidad adecuada de microorganismos con potencial probiótico. Los valores obtenidos de células viables son superiores, si los comparamos con el trabajo de Speranza *et al.* (2020), quienes describen que utilizando tres cepas (por separado) de *L. plantarum* sobre una matriz de pescado con una concentración de sacarosa al 4% y utilizando una temperatura de fermentación de 30 °C, obtuvieron un recuento final de 7 log UFC/g.

Los recuentos de aerobios totales mostraron una tendencia similar a las BAL, lo cual se atribuyó a que la población de BAL conformó la mayor parte de la microbiota aerobia del alimento.

Calidad microbiológica

Se evaluó la calidad microbiológica del alimento durante el periodo de fermentación, así como en el periodo de conservación a -35 °C a los 30, 60 y 90 días, no determinándose la presencia de *E. coli*, *Listeria* spp., levaduras y hongos.

Las levaduras son microorganismos utilizados en la fermentación de una gran variedad de alimentos, aunque muchas otras veces aparecen como contaminantes o posibles patógenos. Pueden afectar la calidad organoléptica del alimento, otorgándole un sabor “a levaduras”



(yeasty), alcohólico o generando sabores y olores no deseados. Además, la formación de gas (CO₂) como producto de su metabolismo puede provocar la hinchazón, deformación e incluso ruptura de los envases por acumulación de presión (Fleet, 2011). Por estas razones, resulta fundamental inhibir el crecimiento de levaduras en alimentos donde su presencia no es deseada.

La ausencia de crecimiento de levaduras que se observó durante todo el proceso podría explicarse por la acción en conjunto de las BAL junto con el sorbato de potasio (0,1%) agregado a la pasta de pescado. Las BAL poseen actividad antifúngica, atribuida a la producción e interacción de compuestos como ácido láctico, ácido acético, ácido ascórbico, peróxido de hidrógeno, entre otras sustancias generadas durante la fermentación (Riesute *et al.*, 2021). Por otro lado, el sorbato de potasio es un conservante conocido por su capacidad inhibitoria contra levaduras. Emara *et al.* (2025) reportaron efectos inhibitorios, sinérgicos o aditivos contra hongos a concentraciones entre 0,21% y 0,31% en combinación con sustancias producidas por bacterias del género *Lactobacillus*.

Las enterobacterias (Familia Enterobacteriaceae) son un gran y diverso grupo de bacilos gram negativos que habitan normalmente el tracto intestinal de animales y son utilizados como indicadores de higiene y contaminación durante la producción de alimentos. (Halkman & Halkman, 2014). Su detección es de suma importancia ya que incluye géneros y especies patógenas, entre los más comunes podemos mencionar a *Escherichia coli*, dentro de esta especie se encuentran cepas causantes de enfermedades intestinales con diferentes grados de afección y mecanismos de acción, como diarreas aguda y crónicas, diarreas con sangre, disentería, entre otros, además de ser causante del síndrome urémico hemolítico (cepa *E. coli* O157:H7). Otros representantes del grupo son: *Salmonella* spp., entre las que se encuentran *S. typhi/paratyphi*, causantes de la fiebre tifoidea o entérica, y el resto de especies causantes de salmonelosis; *Shigella* spp., causantes de la shigelosis, la cual provoca diarreas, fiebres altas, tenesmo y diarreas (ILSI Europe, 2011). Se sabe que las enterobacterias presentan inhibición frente a pH ácidos, en particular si son ácidos orgánicos como el ácido láctico (Porto-Figueira *et al.*, 2023).

Al inicio de la fermentación, no se detectaron enterobacterias debido a la cocción del músculo de pescado a 100 °C y al cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura durante la preparación del alimento. Luego del período de fermentación (3 días) no se detectó la presencia de este grupo microbiano, probablemente debido a la rápida acidificación, evitando así el desarrollo de condiciones favorables para el crecimiento bacteriano a pesar de la disponibilidad de carbohidratos y una temperatura adecuada. El efecto inhibitorio se extendió durante los 90 días de conservación, atribuido al efecto de la temperatura (-35 °C) y al efecto de las BAL.

Listeria monocytogenes es una bacteria gram positiva de transmisión alimentaria, que causa la listeriosis, una enfermedad grave y potencialmente mortal en: embarazadas, recién nacidos, adultos mayores y personas inmunocomprometidas. Su infección comienza con el ingreso al cuerpo humano a través del epitelio intestinal debido a la ingesta de comida contaminada, para luego infectar células y órganos (Radoshevich & Cossart, 2017). Su alta peligrosidad radica en su resistencia a condiciones de estrés utilizadas normalmente en la industria alimentaria como pH ácidos, altas concentraciones de sal, temperaturas altas y bajas, radiación UV, entre otras (Bucur *et al.*, 2018). A pesar de las resistencias que presenta la especie, no se determinó su presencia en ninguna de las etapas del proceso.



Actividad antilisteria del alimento funcional

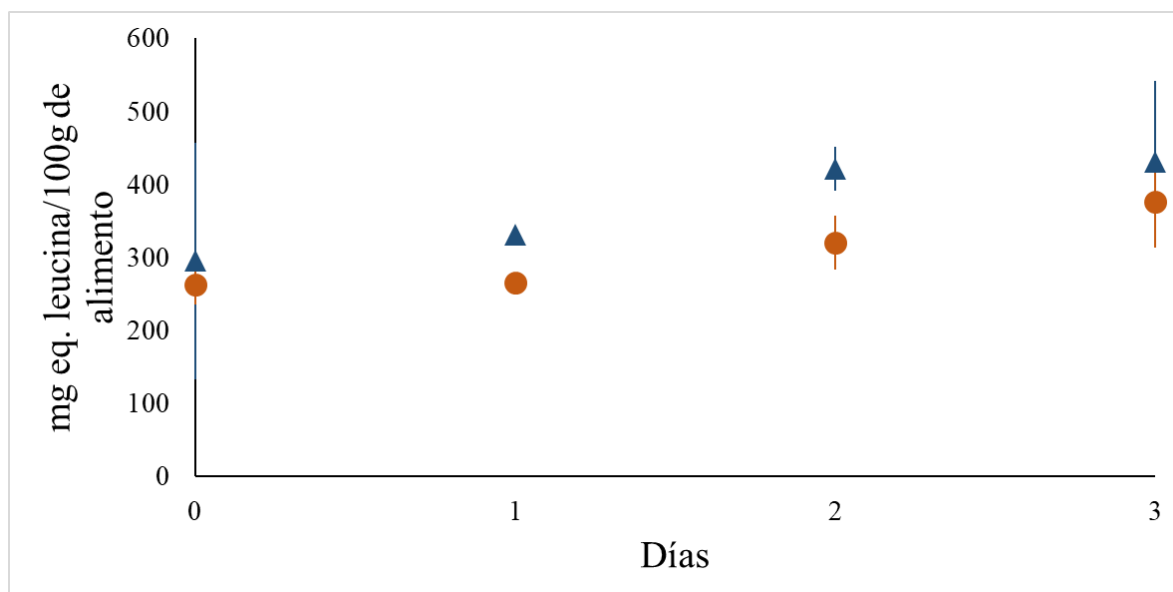
Previo a la elaboración del prototipo de alimento funcional, se determinó la actividad inhibitoria de las cepas inoculadas, utilizando *L. monocytogenes* Scott A como microorganismo blanco. Además, se evaluó la actividad antilisteria del alimento durante los 3 días de fermentación, utilizando la misma cepa. La cepa *L. lactis* Tw34 exhibió resultados positivos (40.960 UA/mL), mientras que *L. argentoratensis* RBTw249 no presentó inhibición contra la cepa objetivo. A partir de extractos del alimento se observó inhibición constante durante los 2 primeros días de fermentación de 1.280 UA/mL, con la máxima capacidad de 5.120 UA/mL en el tercer día.

Como se mencionó anteriormente, *L. monocytogenes* puede adaptarse y sobrevivir a pH ácidos ($\leq 4,5$) y ante la presencia de ácido láctico, en este caso su inhibición se debe a la acción de la nisina Z producida por la cepa *L. lactis* Tw34 (Sequeiros et al., 2014), una bacteriocina capaz de formar poros en la membrana, la cual está aprobada por la FDA para ser usada en alimentos. Contrariamente, la cepa *L. argentoratensis* RBTw249 no exhibió actividad antagónica frente a *L. monocytogenes* Scott A. Sin embargo, según lo observado por Sánchez Cabrera (2023), la cepa mencionada posee actividad inhibitoria frente a otras cepas de *Listeria*.

Determinación de fracción proteica

Uno de los cambios post mortem de los pescados es la degradación del músculo por parte de enzimas endógenas, como son las catepsinas y las calpaínas. Ambas son liberadas en los músculos y comienzan un proceso de degradación, formando polipéptidos y oligopéptidos de tamaño mediano a grande (Ahmed *et al.*, 2015). En materiales crudos fermentados como los ensilados, la presencia y actividad de estas enzimas son detectadas por el aumento constante en la producción de péptidos medianos a grandes solubles en agua (Marguet *et al.*, 2017; Sosa *et al.*, 2025). Durante la preparación del alimento, se le realizó un pretratamiento térmico (cocinarlo a 100 °C por 15 minutos), esto produjo que las enzimas como las catepsinas y calpaínas perdieran su función. Esto se refleja en un aumento no significativo ($p > 0,05$) de la FSA durante la fermentación por acción del sistema proteolítico de las BAL, las cuales degradan las proteínas musculares del pescado. (Figura 3).

Figura 3: Fracción proteica soluble en tricloroacético y agua del alimento



Fracción proteica promedio (n=3), con sus desvíos estándar, durante los días de fermentación. Los resultados se expresan en mg eq. de leucina/100g de alimento. ▲: Fracción soluble en agua (FSA) ●: Fracción soluble en tricloroacético (FST).

Si bien el aumento en la FST es estadísticamente no significativo ($p > 0,05$), gráficamente se puede observar un aumento durante el periodo de fermentación (Figura 3). Esta discrepancia puede ser atribuida al bajo tamaño de la muestra ($n = 3$) y a la dispersión de los datos. Sin embargo, el aumento observado en el gráfico sugiere que el sistema proteolítico de las BAL se encontró en funcionamiento durante la fermentación, provocando una degradación de las proteínas a péptidos pequeños a medianos. En trabajos previos sobre ensilados biológicos, como los de Marguet et al. (2017) y Sosa et al. (2025), se empleó una matriz de fermentación similar al de este trabajo. Las diferencias observadas en los valores podrían atribuirse a la acción conjunta de catepsinas y calpaínas, que degradan proteínas en péptidos medianos a grandes, los cuales son posteriormente hidrolizados a péptidos pequeños por el sistema proteolítico de las BAL. Al inhibir las enzimas endógenas del músculo de pescado, las BAL no tuvieron disponible un sustrato inicial como péptidos medianos a grandes para hidrolizar, limitando la cantidad y velocidad de formación de péptidos pequeños. En consecuencia, lo que se observa es producto de esa actividad durante la fermentación depende únicamente del sistema proteolítico de las BAL. A pesar de no haber tenido disponible un sustrato inicial adecuado, estas bacterias lograron hidrolizar proteínas musculares obteniendo péptidos pequeños. Este proceso permitió la obtención de propiedades organolépticas características (como cambios en la textura y sabor), además de aportar una mayor digestibilidad y biodisponibilidad de péptidos pequeños, mejorando el valor nutricional del alimento.

Actividad antioxidante

A partir de los extractos obtenidos durante la fermentación, se evaluó la capacidad antioxidante *in vitro* del alimento mediante los ensayos de CUPRAC y DPPH.



El ensayo CUPRAC es un método utilizado para el análisis de la actividad antioxidante de matrices alimentarias y extractos biológicos. Está basado en una transferencia simple de electrones y mide el poder reductor de los compuestos antioxidantes para convertir los iones Cu^{2+} en Cu^+ . Este ensayo se considera una variación del FRAP, el cual se basa en la reducción de Fe^{+3} a Fe^{+2} , aunque sus resultados no son comparables debido a las condiciones en las que se realizan las determinaciones, como por ejemplo el pH (3,6 en FRAP y 7 en CUPRAC) e iones utilizados (Fe^{3+} y Cu^{2+}) (Apak, 2017). El ensayo de CUPRAC podría simular de mejor manera la acción fisiológica de la actividad antioxidante (Sosa *et al.*, 2023).

La actividad antioxidante evaluada mediante el ensayo de CUPRAC exhibió un aumento significativo ($p < 0,05$) durante el proceso de fermentación. Inicialmente, la capacidad fue de $1,47 \pm 0,19$ mM equivalentes de ácido ascórbico/g de alimento, finalizando con $3,29 \pm 0,65$ mM equivalentes de ácido ascórbico/g de alimento (Tabla 2). Los resultados obtenidos en este estudio son comparables a los observados en el trabajo de Çakmakçi *et al.* (2019), en donde se evaluó la capacidad reductora de iones cúpricos en yogures fermentados con *Lactobacillus acidophilus*, mostrando una tendencia similar.

La evidencia de actividad antioxidante por el método de DPPH se observa por medio de la interacción de radicales libres con compuestos de carácter antioxidante donantes de protones, que ocasiona un descenso en la absorbancia con respecto al control (Bhagwat & Annapure, 2019). En contraste, el ensayo de DPPH mostró resultados de actividad más estables durante la fermentación, registrándose valores de $0,98 \pm 0,19$ y $0,73 \pm 0,04$ mM equivalentes de ácido ascórbico/g de alimento al inicio y final del proceso, respectivamente, no existiendo una diferencia significativa ($p > 0,05$) (Tabla 2).

La capacidad antioxidante puede estar relacionada con la producción de metabolitos y/o la presencia de componentes en la superficie celular (ej. exopolisacáridos) de los microorganismos que conforman el cultivo iniciador. Los exopolisacáridos (EPS) son un grupo de polímeros que cumplen un rol importante en la formación de biofilms y en la adherencia de las cepas probióticas, además de aportar beneficios en seres humanos como la regulación de la barrera intestinal y la regulación del sistema inmune (Nguyen *et al.*, 2020). Las BAL son capaces de sintetizar EPS de forma intracelular y liberarlos al exterior, o bien secretar enzimas al medio para utilizar los compuestos externos. Los EPS se forman durante la fase exponencial de crecimiento y tienen un efecto en la protección de las bacterias ante condiciones de estrés como la deshidratación, temperaturas extremas, antibióticos, fagocitosis o acidificación, para ello se asocian a la membrana celular formando una barrera física (Nguyen *et al.*, 2020). En el caso particular de pH bajos, los EPS forman enlaces aniónicos con los grupos fosfato cargándose negativamente; esto permite la restricción del ingreso de los ácidos. A su vez se ha descrito que los EPS tienen la capacidad de neutralizar radicales libres oxidativos (Nguyen *et al.*, 2020; Jurášková *et al.*, 2022). Ensayos *in vivo* e *in vitro*, demuestran la capacidad antioxidante de los EPS, mediante el secuestro de radicales libres y la quelación de metales, siendo estos efectos dependientes de la concentración (Feng & Wang, 2020).

Tabla 2: Capacidad antioxidante durante el periodo de fermentación

Capacidad antioxidante (mM eq.
de ácido ascórbico/g de alimento)

	CUPRAC	DPPH
Día 0	1,47±0,19	0,98±0,19
Día 1	1,73±0,27	1,07±0,21
Día 2	1,90±0,44	0,89±0,25
Día 3	3,29±0,65	0,73±0,04

Los valores promedio (n=3), junto con sus desvíos estándar, de los ensayos de CUPRAC y DPPH, se encuentran expresados en mM de eq. de ácido ascórbico/g de alimento.

Las reacciones en cadena de radicales son un mecanismo común de la autooxidación y la peroxidación lipídica, tanto en alimentos como en los humanos. Estos procesos pueden ser inhibidos por antioxidantes con capacidad secuestradora de ROS, neutralizando radicales peróxidos ($\text{ROO}\cdot$) e interrumpiendo la propagación del daño oxidativo. Con esto, no sólo mejoran la estabilidad y calidad de los alimentos, sino que también contribuyen a reducir el riesgo de enfermedades asociadas al estrés oxidativo en las personas (Gulcin & Alwasel, 2023).

La diferencia observada entre los valores de los ensayos de DPPH y CUPRAC, podría evidenciar el mecanismo de acción de los EPS, siendo capaces de transferir un solo electrón capaz de reducir los iones metálicos. Además, se puede deducir el carácter hidrofílico de los EPS, evidenciado en los valores del ensayo de DPPH. Por otra parte, los EPS poseen una actividad quelante de iones metálicos (Talbi *et al.*, 2023) agregando otro mecanismo de acción a su actividad antioxidante, aunque en este estudio no fueron realizados ensayos de quelación de iones metálicos.

Actividad inhibitoria sobre enzimas relacionadas con la diabetes tipo 2

La actividad antidiabética del alimento se evaluó mediante la capacidad de inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, al inicio y al final de la fermentación frente a un control (Figura 4). La actividad inhibitoria se evaluó mediante el cálculo de los parámetros cinéticos K_m (constante de Michaelis-Menten) y V_{max} (velocidad máxima), utilizando el diagrama de Lineweaver-Burk.

Los resultados de K_m para la inhibición de la α -amilasa (Figura 4A) y α -glucosidasa (Figura 4B) al inicio y al final de la fermentación no muestran diferencias significativas ($p>0,05$) con respecto al control (sin inhibición), indicando que no se alteró la afinidad de la enzima por la maltosa y glucosa, respectivamente, descartando una inhibición competitiva. De forma similar, las V_{max} calculadas no mostraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre ellas, indicando que tampoco existe una inhibición no competitiva.

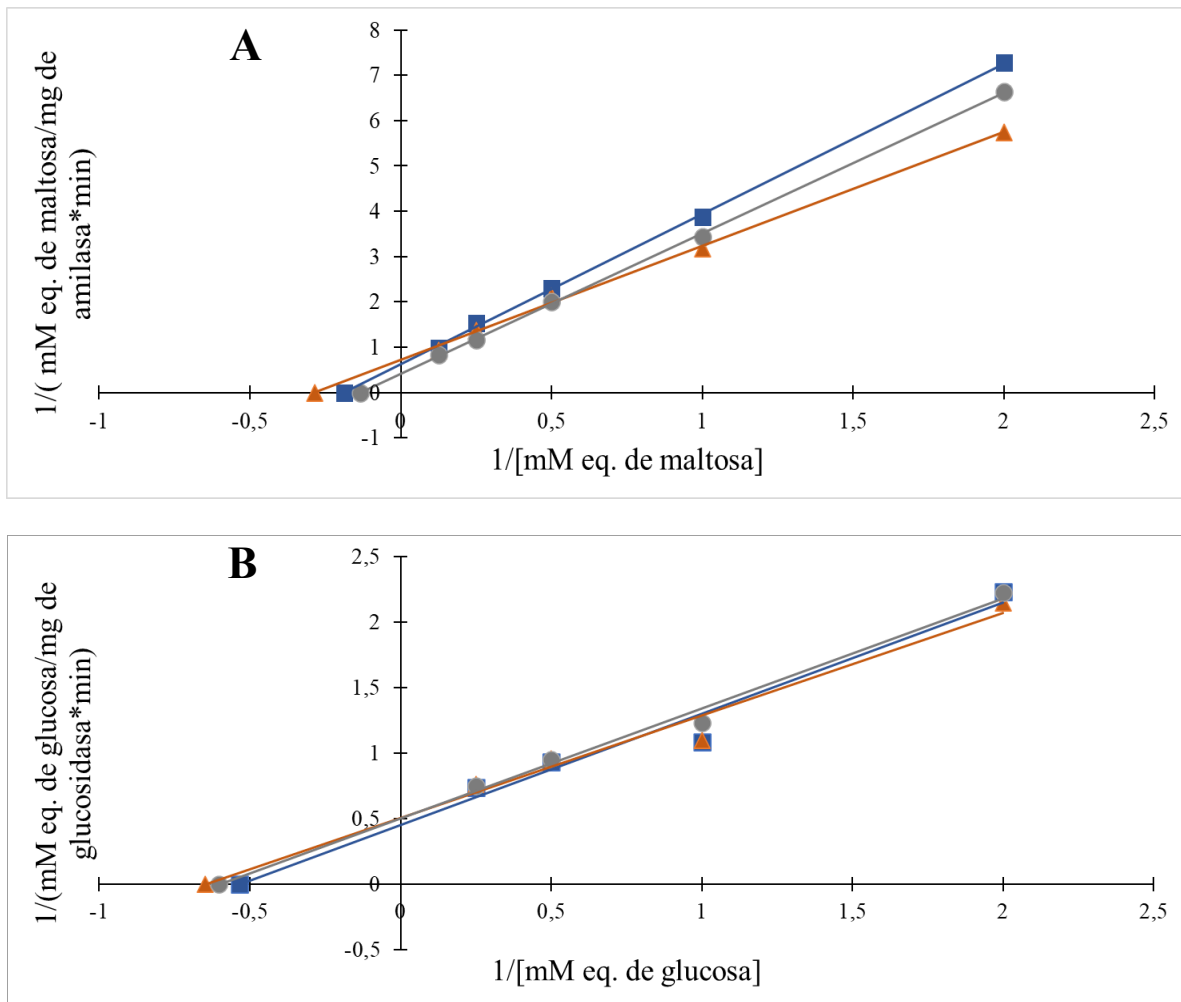
El alginato es un polisacárido extraído de algas pardas. Se utiliza en la industria alimentaria como emulsionante, estabilizante, gelificante, espesante y crioprotector. Además, se emplea en



la producción de alimentos funcionales, ya que presenta actividad antioxidante, antiinflamatoria, prebiótica y efectos sobre la absorción de hidratos de carbono, entre otros (Admassu *et al.*, 2025). Daub *et al.* (2025) demostraron que diferentes extractos de algas pardas (*Ecklonia radiata* y *Sargassum elegans*) tienen un mayor efecto inhibitorio contra α -amilasa y α -glucosidasa en comparación con el alginato comercial. Esta diferencia podría deberse a las condiciones de extracción desconocidas del alginato comercial, las cuales podrían haber implicado procesos más abrasivos que dañaron su estructura, limitando su bioactividad. Por su parte, Zaharudin *et al.* (2018) demostraron que diferentes extractos de algas pardas poseían un efecto inhibitorio frente a la enzima α -amilasa; el alga undaria (*Undaria pinnatifida*) presentó un efecto inhibitorio cercano al 40% con el extracto acuoso. Además de los alginatos, Koh *et al.* (2020) mencionan que los fucoidanos aislados del alga *U. pinnatifida* muestran un efecto competitivo contra α -glucosidasa, y un efecto no competitivo contra α -amilasa y amiloglucosidasa. En nuestra región, *U. pinnatifida* se encuentra ampliamente distribuida en la costa del Golfo Nuevo (Chubut), donde forma densas praderas con un importante potencial de aprovechamiento. De acuerdo a Solana (2022), esta especie presenta una elevada concentración de minerales y polisacáridos estructurales, destacándose los alginatos y fucoidanos, localizados principalmente en la lámina y los esporofilos, respectivamente, con contenidos que varían estacionalmente entre 14 y 20 % en base seca. En dicho trabajo también se desarrolló el procesamiento local del alga para la obtención de wakame, optimizando las condiciones de blanqueo y salado, lo que evidencia la factibilidad de su aprovechamiento como alimento funcional (Solana, 2022). Si bien estas consideraciones son prometedoras, se tendrían que evaluar los métodos extractivos de estos compuestos y su suplementación en el alimento, para evaluar su capacidad antidiabética posterior a la fermentación.

Otra opción potencial para la inhibición de enzimas relacionadas con la diabetes tipo 2 son los péptidos bioactivos, compuestos de cadena corta resultantes del proceso de hidrólisis de proteínas de materias primas. Esta hidrólisis de proteínas puede lograrse mediante procesos químicos/físicos, enzimáticos o por medio de fermentaciones. Los procesos químicos utilizan bases y ácidos a altas temperaturas, mientras que los métodos físicos utilizan técnicas como el ultrasonido o microondas, aunque la hidrólisis ocurre en zonas no específicas de las proteínas y puede producir residuos potencialmente peligrosos. Los métodos enzimáticos por su parte son más específicos en los sitios de clivaje, aunque las reacciones deben someterse a condiciones específicas para cada enzima y el volumen a utilizar dependerá de la cantidad de alimento. La fermentación realizada por los microorganismos requiere condiciones específicas para optimizar su desempeño. Aunque suele ser menos específica que los métodos enzimáticos, presenta la ventaja de que existe una gran diversidad de microorganismos capaces de fermentar distintos tipos de materias primas, además de ser un proceso ambientalmente amigable (Nong & Hsu, 2022). Estudios como los de Henriques *et al.* (2021) y Wan *et al.* (2023) demuestran que los hidrolizados de pescado poseen propiedades antidiabéticas, como son la inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa. Li *et al.* (2024) describen cómo se pueden aplicar combinaciones de diferentes metodologías en pescados enteros o pastas, variando los cultivos iniciadores, la adición de enzimas y condiciones de fermentación. Chourasia *et al.* (2023) describen una variedad de productos fermentados con BAL capaces de generar péptidos bioactivos; aunque la mayoría se basan en matrices lácteas, estos resultados demuestran su capacidad de hidrolizar proteínas y formar péptidos bioactivos. Cabe destacar que la literatura disponible sobre péptidos bioactivos derivados de fermentaciones de pescado es aún limitada, lo que evidencia la necesidad de profundizar en este campo de investigación.

Figura 4: Diagramas de Lineweaver-Burk de α -amilasa y α -glucosidasa en diferentes etapas de la fermentación momentos de la fermentación



Actividad de α -amilasa (A) y α -glucosidasa (B) frente al alimento al inicio de la fermentación (▲), al final de la fermentación (●), y el control sin el alimento (■).



Conclusiones

- ✓ Los microorganismos seleccionados para conformar el cultivo iniciador resultaron adecuados para su aplicación en una fermentación controlada de músculo de pez gallo. Esto quedó demostrado mediante el aumento de la población de BAL durante la fermentación y la consecuente acidificación de la matriz (pH $4,36 \pm 0,05$). Además, se determinó actividad inhibitoria en la pasta de pescado contra *L. monocytogenes* Scott A durante la fermentación.
- ✓ La acción en conjunto de la acidificación, presencia de BAL y el uso de sorbato de potasio permitió la inocuidad del alimento, evidenciándose en la ausencia de *E. coli*, *Listeria* spp., hongos y levaduras durante la fermentación y su posterior conservación bajo cero durante 90 días.
- ✓ Durante la fermentación no se observó un aumento significativo en la FSA y FST de la pasta de pescado, esto podría ser consecuencia del tratamiento térmico realizado antes del proceso. A futuro debería aumentarse el tiempo de fermentación para obtener una mayor degradación de las proteínas presentes en el músculo por parte de las BAL.
- ✓ Mediante el método CUPRAC se obtuvieron valores más elevados de la capacidad antioxidante del prototipo de alimento funcional si lo comparamos con el ensayo DPPH, ya que el primero mide simultáneamente los antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos, mientras que el segundo solo detecta moléculas solubles en solventes orgánicos. Esta diferencia observada podría deberse a la presencia de EPS, biopolímeros sintetizados por las BAL con una elevada afinidad por el agua.
- ✓ En las condiciones que se llevaron a cabo los ensayos de laboratorio no se detectó actividad inhibitoria contra α -amilasa y α -glucosidasa. Sin embargo, sería necesario realizar nuevos ensayos incrementando la concentración del extracto para evaluar con mayor precisión la inhibición, o bien prolongar el tiempo de fermentación con el objetivo de favorecer la formación de péptidos bioactivos.
- ✓ En un futuro se debería evaluar el análisis sensorial del alimento, teniendo en cuenta la aceptabilidad al producto por parte de un panel entrenado y un panel no entrenado. Se destaca la importancia de que la aceptación del producto no dependa únicamente de sus propiedades funcionales, sino también de sus características organolépticas.
- ✓ En nuestro conocimiento, en la Argentina no se había investigado el uso de cultivos iniciadores para la fermentación de una matriz a base de músculo de pescado. En consecuencia, este trabajo se convierte en el punto de partida para el desarrollo de un producto innovador que utiliza como materia prima al pez gallo (*Callorhynchus callorhynchus*), un pescado que generalmente no es aprovechado en su totalidad, consumido de forma local o descartado industrialmente.



Referencias

- Admassu, H., Gasmalla, M. A. A., Yang, R., & Zhao, W. (2018). Evaluation of the in vitro α -amylase enzyme inhibition potential of commercial dried laver (*Porphyra* species) seaweed protein hydrolysate. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(4). https://doi.org/10.4194/1303-2712-v18_4_06
- Admassu, H., Mosissa, G., Desalegn, A., Ayele, G., & Abeje, M. (2025). Alginate: Impact on Food Micro-Structure and Functional Properties as Food Polymer. *Preprints*. doi: 10.20944/preprints202504.2246.v2
- Ahmed, Z., Donkor, O., Street, W. A., & Vasiljevic, T. (2015). Calpains- and cathepsins-induced myofibrillar changes in post-mortem fish: Impact on structural softening and release of bioactive peptides. *Trends in Food Science and Technology*, 45(1), 130–146. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.002>
- Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bortolaia, V., Bover-Cid, S., de Cesare, A., Dohmen, W., Guillier, L., Jacxsens, L., Nauta, M., Mughini-Gras, L., Ottoson, J., Peixe, L., Perez-Rodriguez, F., Skandamis, P., Suffredini, E., Cocconcelli, P. S., Fernández Escámez, P. S., Maradona, M. P., Querol, A., ... Herman, L. (2025). Update of the list of qualified presumption of safety (QPS) recommended microbiological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 21: Suitability of taxonomic units notified to EFSA until September 2024. *EFSA Journal*, 23(1). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2025.9169>
- Aljizani, N., & Shafi, M. E. (2024). Using Various Fish Processing Techniques to Maintain Flesh Quality and Shelf Life, An Updated Review. *JKAU: Met., Env. & Arid Land Agric. Sci*, 33(1), 29–46. <https://doi.org/10.4197/Met>
- Apak, R. (2017). Electron transfer-based antioxidant capacity assays and the cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) assay. *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity*, 57–75. <https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch4>
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970–7981. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>
- Bhagwat, A., & Annapure, U. S. (2019). In vitro assessment of metabolic profile of *Enterococcus* strains of human origin. *Journal, genetic engineering & biotechnology*, 17(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s43141-019-0009-0>
- Bovcon, N. D., Góngora, M. E., Marinao, C., & González-Zevallos, D. (2013). Composición de las capturas y descartes generados en la pesca de merluza común *Merluccius hubbsi* y langostino patagónico *Pleoticus muelleri*: un caso de estudio en la flota fresquera de altura del Golfo San Jorge, Chubut, Argentina. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 48(2), 303–319. <https://doi.org/10.4067/s0718-19572013000200010>
- Bryukhanov, A. L., Klimko, A. I., & Netrusov, A. I. (2022). Antioxidant Properties of Lactic Acid Bacteria. *Microbiology*, 91(5), 463–478.



- Bucur, F. I., Grigore-Gurgu, L., Crauwels, P., Riedel, C. U., & Nicolau, A. I. (2018). Resistance of *Listeria monocytogenes* to Stress Conditions Encountered in Food and Food Processing Environments. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 2700. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02700>
- Çakmakçı, S., Öz, E., Çakiroğlu, K., Polat, A., Gülçin, İ., Ilgaz, Ş., Seyyedcheraghi, K., & Özhamamci, İ. (2019). Probiotic shelf life, antioxidant, sensory, physical and chemical properties of yogurts produced with *Lactobacillus acidophilus* and green tea powder. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *25*(5), 673–682. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.21598>
- Castellone, V., Bancalari, E., Rubert, J., Gatti, M., Neviani, E., & Bottari, B. (2021). Eating fermented: Health benefits of lab-fermented foods. *Foods*, *10*(11). <https://doi.org/10.3390/foods10112639>
- Chan, S. X. Y., Fitri, N., Mio Asni, N. S., Sayuti, N. H., Azlan, U. K., Qadi, W. S. M., Dawoud, E. A. D., Kamal, N., Sarian, M. N., Mohd Lazaldin, M. A., Low, C. F., Harun, S., Hamezah, H. S., Rohani, E. R., & Mediani, A. (2023). A Comprehensive Review with Future Insights on the Processing and Safety of Fermented Fish and the Associated Changes. *Foods*, *12*(3). <https://doi.org/10.3390/foods12030558>
- Chen, J., Jayachandran, M., Bai, W., & Xu, B. (2022). A critical review on the health benefits of fish consumption and its bioactive constituents. *Food Chemistry*, *369*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130874>
- Chourasia, R., Chiring Phukon, L., Abedin, M. M., Padhi, S., Singh, S. P., & Rai, A. K. (2023). Bioactive peptides in fermented foods and their application: a critical review. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, *3*(1), 88–109. <https://doi.org/10.1007/s43393-022-00125-4>
- Chrun, R., Born, P., Huon, T., Buntong, B., Chay, C., & Inatsu, Y. (2020). Application of lactic acid bacteria for enhanced food safety of cambodian fermented small fish (*Pha-ork Kontrey*). *Food Science and Technology Research*, *26*(6), 687–694. <https://doi.org/10.3136/fstr.26.687>
- Church, F. C., Swaisgood, H. E., Porter, D. H., & Catignani, G. L. (1983). Spectrophotometric Assay Using o-Phthaldialdehyde for Determination of Proteolysis in Milk and Isolated Milk Proteins. *Journal of Dairy Science*, *66*(6), 1219–1227. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)81926-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)81926-2)
- Código Alimentario Argentino (2025). Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). <https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario>
- Cortés-Sánchez, A. D. J., Jaramillo-Flores, M. E., Díaz-Ramírez, M., Espinosa-Chaurand, L. D., & Torres-Ochoa, E. (2024). Biopreservation and the Safety of Fish and Fish Products, the Case of Lactic Acid Bacteria: A Basic Perspective. *Fishes*, *9*(8), 303. <https://doi.org/10.3390/fishes9080303>
- Costa, S., Summa, D., Radice, M., Vertuani, S., Manfredini, S., & Tamburini, E. (2024). Lactic acid production by *Lactobacillus casei* using a sequence of seasonally available fruit wastes as sustainable carbon sources. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1447278>



- Daub, C. D., Michaels, A. L., Mabate, B., Mkabayi, L., Edkins, A. L., & Pletschke, B. I. (2025). Exploring the Inhibitory Potential of Sodium Alginate Against Digestive Enzymes Linked to Obesity and Type 2 Diabetes. *Molecules*, *30*(5). <https://doi.org/10.3390/molecules30051155>
- FAO. 2024. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2024. La transformación azul en acción. Roma. <https://doi.org/10.4060/cd0683es>
- Fowler, M. J. (2008). Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. *Clinical Diabetes*, *26*(2), 77-82. <https://doi.org/10.2337/diaclin.26.2.77>
- Elferink, H., Bruekers, J. P. J., Veeneman, G. H., & Boltje, T. J. (2020). A comprehensive overview of substrate specificity of glycoside hydrolases and transporters in the small intestine: “A gut feeling.” *Cellular and Molecular Life Sciences*, *77*(23), 4799–4826. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03564-1>
- Emara, A. M., Marrez, D. A., Ramadan, A. S., El-Rashedy, A. A., Badr, A. N., Hoppe, K., Li, H., & He, Z. (2025). Antifungal potential of Lactobacillus bioactive metabolites: synergistic interactions with food preservatives and molecular docking insights. *European Food Research and Technology*, *251*(9), 2761–2777. <https://doi.org/10.1007/s00217-025-04807-w>
- Enríquez Estrella, M., Kevin, M. V., & Uvidia Cavadiana, H. (2022). Alimentos Funcionales La Tendencia De Consumo Del Siglo XXI. *Reciena*, *2*(1), 10–19. <https://reciena.esPOCH.edu.ec/index.php/reciena/article/view/44>
- Feng, T., & Wang, J. (2020). Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review. *Gut Microbes*, *12*(1), e1801944. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1801944>
- Fleet, G. H. (2011). Yeast spoilage of foods and beverages. *The Yeasts* (Vol. 1, pp. 53–63). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00005-7>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (s. f.). FAOSTAT statistical database. <https://www.fao.org/faostat>.
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, *11*(8). <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Halkman, H. B. D., & Halkman, A. K. (2014). Indicator Organisms. *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (pp. 358–363). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00396-7>
- Henriques, A., Vázquez, J. A., Valcarcel, J., Mendes, R., Bandarra, N. M., & Pires, C. (2021). Characterization of protein hydrolysates from fish discards and by-products from the north-west Spain fishing fleet as potential sources of bioactive peptides. *Marine Drugs*, *19*(6). <https://doi.org/10.3390/md19060338>
- Hirt-Chabbert, J. A., Mechaly, A. S., & Tapia, C. (2024). Seafood in Argentina: marine fish species, seasonal presence and prices. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, *34*(2), 753–774. <https://doi.org/10.1007/s11160-024-09836-4>



- Huligere, S. S., Chandana Kumari, V. B., Alqadi, T., Kumar, S., Cull, C. A., Amachawadi, R. G., & Ramu, R. (2023). Isolation and characterization of lactic acid bacteria with potential probiotic activity and further investigation of their activity by α -amylase and α -glucosidase inhibitions of fermented batters. *Frontiers in Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1042263>
- Ibrahim, S. A., Ayivi, R. D., Zimmerman, T., Siddiqui, S. A., Altemimi, A. B., Fidan, H., Esatbeyoglu, T., & Bakhshayesh, R. V. (2021). Lactic acid bacteria as antimicrobial agents: Food safety and microbial food spoilage prevention. *Foods*, *10*(12). <https://doi.org/10.3390/foods10123131>
- IDF. (2025). *IDF Diabetes Atlas 11th Edition - 2025*. <https://diabetesatlas.org/resources/idf-diabetes-atlas-2025/>
- ILSI Europe. (2011). The Enterobacteriaceae and their significance to the food industry. <https://ilsi.eu/publication/the-enterobacteriaceae-and-their-significance-to-the-food-industry/>
- Jerez Fernández, C. I., Medina Pereira, Y. A., Ortiz Chang, A. S., González Olmedo, S. I., & Aguirre Gaete, M. C. (2022). Fisiopatología y alteraciones clínicas de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Nova Publicación Científica En Ciencias Biomédicas*, *20*(38), 65–103. <https://doi.org/10.22490/24629448.6184>
- Jurášková, D., Ribeiro, S. C., & Silva, C. C. G. (2022). Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: From Biosynthesis to Health-Promoting Properties. *Foods*, *11*(2). <https://doi.org/10.3390/foods11020156>
- Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., & Kot, A. M. (2021). Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria. *Molecules*, *26*(7), 1858. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>
- Koh, H. S. A., Lu, J., & Zhou, W. (2020). Structural Dependence of Sulfated Polysaccharide for Diabetes Management: Fucoidan From *Undaria pinnatifida* Inhibiting α -Glucosidase More Strongly Than α -Amylase and Amyloglucosidase. *Frontiers in Pharmacology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00831>
- Konrad, B., Anna, D., Marek, S., Marta, P., Aleksandra, Z., & Józefa, C. (2014). The evaluation of dipeptidyl peptidase (DPP)-IV, α -glucosidase and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activities of whey proteins hydrolyzed with serine protease isolated from asian pumpkin (*Cucurbita ficifolia*). *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, *20*(4), 483–491. <https://doi.org/10.1007/s10989-014-9413-0>
- Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., Davies, R., de Cesare, A., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Peixe, L., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Cocconcelli, P. S., Fernández Escámez, P. S., Maradona, M. P., ... Herman, L. (2020). Scientific Opinion on the update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA (2017–2019). *EFSA Journal*, *18*(2). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5966>
- Leeuwendaal, N. K., Stanton, C., O'toole, P. W., & Beresford, T. P. (2022). Fermented Foods, Health and the Gut Microbiome. *Nutrients*, *14*(7). <https://doi.org/10.3390/nu14071527>



- Li, H., Li, G., Bi, Y., & Liu, S. (2024). Fermented Fish Products: Balancing Tradition and Innovation for Improved Quality. *Foods*, *13*(16). <https://doi.org/10.3390/foods13162565>
- Li, X., Bai, Y., Jin, Z., & Svensson, B. (2022). Food-derived non-phenolic α -amylase and α -glucosidase inhibitors for controlling starch digestion rate and guiding diabetes-friendly recipes. *LWT*, *153*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112455>
- Maftai, N. M., Raileanu, C. R., Balta, A. A., Ambrose, L., Boev, M., Marin, D. B., & Lisa, E. L. (2024). The Potential Impact of Probiotics on Human Health: An Update on Their Health-Promoting Properties. *Microorganisms*, *12*(2). <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020234>
- Marguet, E., Vallejo, M., Schulman, G., Ibañez, C., Ledesma, P., & Parada, R. (2017). Biosilo de Residuos de Merluza y Harina de Cebada Fermentados con Bacterias Ácido Lácticas Seleccionadas. *Bioteología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *15*(2), 112. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(15\)112-120](https://doi.org/10.18684/bsaa(15)112-120)
- Mohan, C. O., Ninan, G., Bindu, J., Zynudheen, A. A., & Ravishankar, C. N. (2018). Value Addition and Preservation of Fishery Products. In *Food Process Engineering and Quality Assurance* (1st ed., pp. 439–458). Apple Academic Press. <https://doi.org/10.1201/9781315232966-14>
- Mondal, M., Tewari, S., Mukherjee, P. A., & Khalua, R. K. (2022). A Review on Fermented Fish: Microbiology, Chemistry and Health Benefits. *Journal of Population and Therapeutics and Clinical Pharmacology*. <https://doi.org/10.53555/jptcp.v29i04.2888>
- Ngasotter, S., Waikhom, D., Mukherjee, S., Devi, M. S., & Singh, A. S. (2020). Diversity of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Fermented Fish Products: A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *9*(5), 2238–2249. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.905.255>
- Ngouénam, J. R., Momo Kenfack, C. H., Foko Kouam, E. M., Kaktcham, P. M., Maharjan, R., & Ngoufack, F. Z. (2021). Lactic acid production ability of *Lactobacillus* sp. from four tropical fruits using their by-products as carbon source. *Heliyon*, *7*(5). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07079>
- Nguyen, P. T., Nguyen, T. T., Bui, D. C., Hong, P. T., Hoang, Q. K., & Nguyen, H. T. (2020). Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria: The manipulation of environmental stresses for industrial applications. *AIMS Microbiology*, *6*(4), 451–469. <https://doi.org/10.3934/MICROBIOL.2020027>
- Nong, N. T. P., & Hsu, J. L. (2022). Bioactive Peptides: An Understanding from Current Screening Methodology. *Processes*, *10*(6). <https://doi.org/10.3390/pr10061114>
- Noreen, S., Hashmi, B., Aja, P. M., & Atoki, A. V. (2025). Health benefits of fish and fish by-products—a nutritional and functional perspective. *Frontiers in Nutrition*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1564315>
- Parada, R. B., Marguet, E., Campos, C., & Vallejo, M. (2023). Improved antioxidant capacity of three Brassica vegetables by two-step controlled fermentation using isolated autochthone



strains of the genus *Leuconostoc* spp. and *Lactiplantibacillus* spp. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2023.100163>

Patel, P., Butani, K., Kumar, A., Singh, S., & Prajapati, B. G. (2023). Effects of Fermented Food Consumption on Non-Communicable Diseases. *Foods*, 12(4). <https://doi.org/10.3390/foods12040687>

Pettovello, A. D. (2016). La Fauna Acompañante del Langostino Patagónico (*Pleoticus muelleri*) en el Golfo San Jorge y Adyacencias: análisis de alternativas de manejo. INIDEP (Ed.), *El mar argentino y sus recursos pesqueros* (pp. 89–94). <https://www.researchgate.net/publication/311287565>

Porto-Figueira, P., Câmara, J. S., Vigário, A. M., & Pereira, J. A. M. (2023). Understanding the Tolerance of Different Strains of Human Pathogenic Bacteria to Acidic Environments. *Applied Sciences (Switzerland)*, 13(1). <https://doi.org/10.3390/app13010305>

Praveen, M., & Brogi, S. (2025). Microbial Fermentation in Food and Beverage Industries: Innovations, Challenges, and Opportunities. *Foods*, 14(1). <https://doi.org/10.3390/foods14010114>

Radoshevich, L., & Cossart, P. (2018). *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*, 16(1), 32–46. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.126>

Riesute, R., Salomskiene, J., Moreno, D. S., & Gustiene, S. (2021). Effect of yeasts on food quality and safety and possibilities of their inhibition. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.11.022>

Saithong, P., Panthavee, W., Boonyaratanakornkit, M., & Sikkhamondhol, C. (2010). Use of a starter culture of lactic acid bacteria in plaa-som, a Thai fermented fish. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110(5), 553–557. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2010.06.004>

Sánchez Cabrera, M.A. (2023). *Selección de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico para la fermentación en matrices vegetales* [Tesis de grado no publicada]. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco - Sede Trelew.

Şanlıer, N., Gökçen, B. B., & Sezgin, A. C. (2017). Health benefits of fermented foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(3), 506–527. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1383355>

Schulze, M. S., & Góngora, M. E. (2022). Los agentes económicos de la pesca industrial en la Argentina: las cámaras empresariales pesqueras. *Nuevo Mundo Mundos Nuevos*. <https://doi.org/10.4000/nuevomundo.87136>

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2025). Desembarques de capturas marítimas totales [Desembarques_2025]. https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/pesca_maritima/desembarques/

Sequeiros, C., Garcés, M. E., Vallejo, M., Marguet, E. R., & Olivera, N. L. (2014). Potential aquaculture probiont *Lactococcus lactis* TW34 produces nisin Z and inhibits the fish pathogen



Lactococcus garvieae. *Archives of Microbiology*, 197(3), 449–458.
<https://doi.org/10.1007/s00203-014-1076-x>

Skowron, K., Budzyńska, A., Grudlewska-Buda, K., Wiktorczyk-Kapischke, N., Andrzejewska, M., Wałęcka-Zacharska, E., & Gospodarek-Komkowska, E. (2022). Two Faces of Fermented Foods—The Benefits and Threats of Its Consumption. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.845166>

Solana V. P. (2022). Caracterización fisicoquímica y nutricional del alga invasora *Undaria pinnatifida* (Phaeophyceae, Laminariales) y estudio de parámetros de procesamiento y almacenamiento para su utilización en la producción de wakame [Tesis de doctorado]. Universidad Nacional de La Plata. Repositorio institucional de la UNLP. <https://doi.org/10.35537/10915/159210>

Sosa, F. M., Marguet, E. R., & Vallejo, M. (2025). Silage production from agro-industrial by-products fermented with lactic acid bacteria isolated from the marine environment. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 78(2), 11103–11116. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v78n2.115273>

Sosa, F. M., Parada, R. B., Sánchez-Cabrera, M. A., Marguet, E. R., & Vallejo, M. (2023). Capacidad antioxidante de bacterias lácticas aisladas de peces e invertebrados marinos de la provincia de Chubut, Patagonia-Argentina. *Revista Ciencias Marinas y Costeras*, 99–112. <https://doi.org/10.15359/revmar.15-1.6>

Speranza, B., Racioppo, A., Campaniello, D., Altieri, C., Sinigaglia, M., Corbo, M. R., & Bevilacqua, A. (2020). Use of Autochthonous *Lactiplantibacillus plantarum* Strains to Produce Fermented Fish Products. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.615904>

Talbi, C., Elmarrakchy, S., Youssfi, M., Bouzroud, S., Belfquih, M., Sifou, A., Bouhaddou, N., Badaoui, B., Balahbib, A., Bouyahya, A., & Bourais, I. (2023). Bacterial Exopolysaccharides: From Production to Functional Features. *Progress in Microbes and Molecular Biology*, 6(1). <https://doi.org/10.36877/pmmb.a0000384>

Tomic, D., Shaw, J. E., & Magliano, D. J. (2022). The burden and risks of emerging complications of diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 18(9), 525–539. <https://doi.org/10.1038/s41574-022-00690-7>

Valence, F., Junker, R., Baty, C., Rué, O., Mariadassou, M., Madec, M. N., Maillard, M.-B., Bage, A.-S., Chuat, V., Marché, L., & Thierry, A. (2025). The cutting type of vegetables influences the spontaneous fermentation rate. *Peer Community Journal*, 5, e49. <https://doi.org/10.24072/pcjournal.553>

Vallejo, M., Ledesma, P., & Marguet, E. R. (2013). Caracterización parcial de enterocinas producidas por una cepa de *Enterococcus faecium* aislada de leche ovina. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 33(1), 28–34.

Viell, B. (2001). Funktionelle Lebensmittel und Nahrungsergänzungsmittel. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 44(3), 193–204. <https://doi.org/10.1007/s001030050432>



- Visvanathan, R., Jayathilake, C., Liyanage, R., & Sivakanesan, R. (2019). Applicability and reliability of the glucose oxidase method in assessing α -amylase activity. *Food Chemistry*, 275, 265–272. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.114>
- Voidarou, C., Antoniadou, M., Rozos, G., Tzora, A., Skoufos, I., Varzakas, T., Lagiou, A., & Bezirtzoglou, E. (2021). Fermentative foods: Microbiology, biochemistry, potential human health benefits and public health issues. *Foods*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/foods10010069>
- Wan, P., Cai, B., Chen, H., Chen, D., Zhao, X., Yuan, H., Huang, J., Chen, X., Luo, L., & Pan, J. (2023). Antidiabetic effects of protein hydrolysates from *Trachinotus ovatus* and identification and screening of peptides with α -amylase and DPP-IV inhibitory activities. *Current Research in Food Science*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100446>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Xia, W., Sun, T., Jiang, Q., & Xu, Y. (2011). Method for producing fermented surimi using lactic acid bacteria starter (CN 101940342 A). China National Intellectual Property Administration. <https://patents.google.com/patent/CN101940342A/en>
- Xu, R., Shang, N., & Li, P. (2011). In vitro and in vivo antioxidant activity of exopolysaccharide fractions from *Bifidobacterium animalis* RH. *Anaerobe*, 17(5), 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.07.010>
- Yasmin, N., Kaur, K., & Sood, K. (2022). Probiotics from Fermented Fish. *Prebiotics and Probiotics - From Food to Health*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101590>
- Zaharudin, N., Salmeán, A. A., & Dragsted, L. O. (2018). Inhibitory effects of edible seaweeds, polyphenolics and alginates on the activities of porcine pancreatic α -amylase. *Food Chemistry*, 245, 1196–1203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.027>
- Zang, J., Xu, Y., Xia, W., & Regenstein, J. M. (2019). Quality, functionality, and microbiology of fermented fish: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(7), 1228–1242. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1565491>
- Zapaśnik, A., Sokołowska, B., & Bryła, M. (2022). Role of Lactic Acid Bacteria in Food Preservation and Safety. *Foods*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/foods11091283>
- Zhang, L., Liu, C., Li, D., Zhao, Y., Zhang, X., Zeng, X., Yang, Z., & Li, S. (2013). Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88. *International Journal of Biological Macromolecules*, 54(1), 270–275. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.12.037>