

Evaluación de la sensibilidad de *Pseudomonas* spp. alterantes aisladas de carne de boga (*Megaleporinus obtusidens*) frente a sobrenadantes libres de células de *Lactiplantibacillus plantarum*, potenciales bio-preservantes

Naef, E. F.⁽¹⁾; Piaggio, M. C.⁽¹⁾; Glodowsky, A. P.⁽¹⁾; Levin, G. J.⁽¹⁾; Lound, L. H.⁽¹⁾; Rizzi, M.; Sacchi, C. A.⁽¹⁾; Días Arese, A.⁽¹⁾

Autoras/es: ¹. Facultad de Bromatología, Universidad Nacional de Entre Ríos, Gualaguaychú, Entre Ríos, Argentina.

Contacto: elisa.naef@uner.edu.ar

ARK: <https://id.caicyt.gov.ar/ark:/s22504559/l7klm1zaq>

Resumen

El objetivo fue evaluar la sensibilidad de *Pseudomonas* spp. alterantes de carne de boga (*Megaleporinus obtusidens*) frente a sobrenadantes libres de células (SLC) de *Lactiplantibacillus plantarum* como potenciales bio-preservantes. Se caracterizaron 20 cepas de *Pseudomonas*, y se identificaron 4 a nivel molecular dentro del complejo *Pseudomonas fluorescence*. Se seleccionaron 7 y se evaluó la actividad antagonista de los SLC de 7 *Lactiplantibacillus plantarum* de girasol, sorgo, soja, maíz y Ryegrass. Presentaron una alta actividad antimicrobiana, pero al neutralizarlos ninguno presentó inhibición. Al liofilizarlos, 5 cepas presentaron entre media y muy alta sensibilidad, indicando la acción de otras sustancias inhibitoras. Al estudiar los SLC, solo se detectó inhibición en el aislado de Ryegrass tratado a 121 °C durante 15 minutos, lo cual resulta interesante por sus potenciales aplicaciones tecnológicas. El tratamiento con proteasa K de los SLC disminuyó considerablemente la inhibición frente a las diferentes cepas, confirmando la presencia de inhibidores de naturaleza proteica. El crecimiento y multiplicación de bacterias psicrótrofas en carne de boga inmersa e impregnada a vacío con SLC producidos por *Lpb. plantarum* aislados de sorgo y maíz fueron inhibidos por el efecto antimicrobiano del bajo pH, la presencia de ácidos orgánicos y de otros metabolitos.

Palabras clave: Bioconservación; *Lactiplantibacillus plantarum*; *Megaleporinus obtusidens*; *Pseudomonas*; Sobrenadantes libres de células

INTRODUCCIÓN

La provincia de Entre Ríos alberga una riqueza natural ictícola en sus importantes cursos de agua y sus afluentes. La pesca comercial lleva casi cuarenta años y vincula a un sector compuesto por más de tres mil pescadores, acopiadores, transportistas, fileteros y cuatro empresas frigoríficas habilitadas. Las pesquerías tienen importancia significativa en términos económicos debido al impacto social generado por su aporte a la seguridad alimentaria. La comercialización anual de pescado de río proviene de las plantas frigoríficas, y es de un total de 3.540 t. anuales, lo que representa al 63 % de la producción argentina (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2021).

Entre los peces que habitan los cursos de agua se puede destacar a la boga (*Megaleporinus obtusidens*), especie omnívora autóctona, migratoria, muy difundida y altamente demandada por su carne apetecible que presenta un 21,4 % de proteínas y un buen perfil lipídico, donde se destacan los ácidos grasos monoinsaturados (Naef y cols., 2021; Ciappini y col., 2019). Se conoce que las dietas ricas en estos nutrientes resultan muy eficientes en la reducción del riesgo de enfermedades coronarias. De hecho, han sido reconocidos con un beneficio similar a los ácidos grasos n3 para la salud humana por su efecto en la reducción del colesterol en sangre (Garaffo y cols., 2011). En nuestro país resulta necesaria la diversificación en los tipos de carne consumida y los alimentos a base de pescado constituyen una buena alternativa (Britos y cols., 2012).

No obstante, pese a las ventajas de su consumo, es importante tener en cuenta que es un alimento que experimenta una serie de cambios desde el momento de su captura debido a su composición, característica que lo convierte en un producto con un alto grado de susceptibilidad al deterioro y putrefacción. Los responsables de estos fenómenos son las enzimas que lo constituyen y los microorganismos que invaden los órganos y tejidos tan pronto sucede la muerte. De los microorganismos, son las bacterias las que más influyen en la vida útil. La época del año, las características de la alimentación, el área geográfica, la especie de pescado y el sistema de captura son determinantes del número y tipo de bacterias presentes inicialmente, mientras que las condiciones de manipulación y almacenamiento condicionan la flora alterante. Evidentemente, todas las manipulaciones de que sea objeto el pescado tras la captura o recogida van a afectar de forma notable la calidad microbiológica del mismo (Naef y cols., 2021), siendo *Pseudomonas*, uno de los microorganismos más frecuentes en este alimento (Róndon y cols., 2020).

Los mecanismos de conservación del pescado más utilizados son el uso del hielo, refrigeración y congelación, cuyo objetivo principal es controlar la flora microbiana (Olafsdottir y cols., 2006). Aunque los dos primeros se consideran tecnologías relativamente sencillas y de bajo costo, su desventaja está en el corto tiempo de almacenamiento. Por su parte, la congelación es una tecnología más compleja que permite un almacenamiento por largos períodos, pero con costos más altos y mayor deterioro, como pérdida de peso, color y textura, producto de la desnaturalización de las proteínas (Dawson y cols., 2018).

Las buenas prácticas de higiene son necesarias para prevenir la contaminación, pero la misma puede ocurrir en el sitio de producción y, no menos importante, en el sitio de consumo. En los últimos años, ha habido un creciente interés de los consumidores por productos alimenticios de “etiqueta limpia”, que son naturales, menos procesados y

libres de conservantes químicos añadidos, y la necesidad de una vida útil de almacenamiento considerable para minimizar los desperdicios de alimentos (Shi y Maktabdar, 2022).

Esto ha despertado un interés en el uso de bacterias del ácido láctico (BAL) o sus metabolitos como bioconservadores como una forma de limitar el crecimiento de organismos de deterioro. Por estas razones, surge la necesidad de utilizar nuevas alternativas que permitan obtener alimentos protegidos naturalmente, con mayor vida útil.

Las estrategias de bioconservación son aquellas basadas en el uso de sustancias naturales derivadas de bacterias, hongos, plantas o animales, con el objetivo de alargar la vida útil de los productos alimenticios garantizando su inocuidad (Pisoschi y cols., 2018). Es una alternativa para obtener alimentos en condiciones higiénico-sanitarias y que tengan un menor procesamiento, lo que los consumidores perciben como “más natural”. El género *Lactobacillus* spp. genera un creciente interés para descubrir nuevas aplicaciones. *Lactiplantibacillus plantarum* es una especie de BAL grampositiva que exhibe adaptabilidad ecológica y metabólica y es capaz de habitar una variedad de nichos ecológicos que incluyen alimentos fermentados, carnes, plantas y el tracto gastrointestinal de los mamíferos (Filannino y cols., 2018). Esta bacteria representa una alternativa para inactivar bacterias tanto gram positivas como gram negativas presentes en los alimentos mediante los metabolitos activos con actividad inhibitoria que excreta al medio de cultivo: plantaricinas, peróxido de hidrógeno y ácidos DL-p-hidroxifeniláctico, ferúlico, benzoico, vanílico, salicílico, 4-hidroxicinámico (Vougiouklaki y cols., 2022).

Las BAL, consideradas inocuas para su incorporación a alimentos ya que han recibido el status de GRAS (Generally Recognized as Safe) otorgado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), tienen una larga historia en la obtención de alimentos fermentados (quesos, yogures, etc.) y, a su vez, un potencial futuro en la biopreservación, debido a su habilidad para producir sustancias antimicrobianas, que incluyen ácidos láctico y acético, diacetilo, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas (Campos y cols., 2019).

La obtención de datos de efectiva inhibición y/o reducción de población microbiológica por el uso de bacteriocinas crudas o sobrenadantes libres de células (SLC), permitirá su uso para el control de la flora alterante en carne de pescado, y también para prolongar su vida útil en refrigeración. Numerosos estudios han demostrado que la aplicación directa de SLC, inhiben bacterias indeseables en pechuga de pollo, carne vacuna, de pescado, entre otros alimentos (Arrijoja-Bretón y col., 2020; Moradi y col., 2019; Yazgan, 2020).

Por todo lo anteriormente mencionado, este proyecto de investigación postula como hipótesis de trabajo que si *Pseudomonas* alterantes de la carne de pescado son sensibles frente a SLC liofilizados de *Lactiplantibacillus plantarum*, entonces, estos últimos, se podrán usar como bio-preservantes para extender la vida útil de filetes refrigerados.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de sobrenadantes libres de células liofilizados de *Lactiplantibacillus plantarum* frente a *Pseudomonas* aisladas de carne de boga (*Megaleporinus obtusidens*).

Objetivos específicos

- - Aislar y tipificar cepas de *Pseudomonas* alterantes de carne de boga.
- - Evaluar la actividad antagonista de sobrenadantes libres de células liofiliza-

dos de *Lactiplantibacillus plantarum*, potenciales bio-preservantes, frente a *Pseudomonas* spp. alterantes de carne de boga.

- - Evaluar la estabilidad microbiológica de la carne de boga, como indicador de vida útil, luego de su impregnación a vacío y contacto con sobrenadantes libres de células liofilizados de *Lactiplantibacillus plantarum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con carne de boga (*Megaleporinus obtusidens*) refrigerada adquirida en un comercio local (Guauguaychú, Entre Ríos, Argentina) de, aproximadamente, 24 h de tiempo post mortem, proveniente de peces del Río Uruguay. Las muestras se conservaron a 3 °C hasta su estudio.

-Aislamiento, identificación y caracterización de *Pseudomonas* spp. alterantes

Los análisis microbiológicos se realizaron utilizando la técnica del lavado. Entre 10 y 100 g de muestra de boca, escamas, aletas, agallas, estómago, intestino y músculo, se depositaron en una bolsa estéril. En cada bolsa se agregaron entre 100 y 200 ml de agua peptonada (0,1%) y se procedió a un lavado manual energético de las muestras por 2 minutos. Asépticamente se tomaron 100 µl de lavado que se inocularon en placas en Agar Cetrimide (Britania, Argentina) (35 °C). A partir de cada muestra sembrada, se seleccionaron las colonias dominantes diferentes macroscópicamente. Éstas se aislaron y repicaron en Agar nutritivo (AN) (24-48 horas a 20 ± 2 °C) para su mantenimiento.

Cada aislado se confirmó como *Pseudomonas* spp. mediante pruebas fenotípicas: tinción de Gram, prueba oxidación/fermentación de la glucosa (Britania, Argentina) y oxidasa (Bactident® Oxidasa-Merck Millipore). Luego las colonias Gram negativas, no fermentadoras y oxidasa positivas se sometieron a otras pruebas de identificación fenotípica: capacidad de hidrólisis de la caseína; habilidad de multiplicación a 7 °C y a 42 °C por 48 horas; pruebas de catalasa, utilización de citrato (Merk, Alemania), producción de indol (Merk, Alemania), urea (Biopack, Argentina), movilidad, fermentación de lactosa (Agar Mac Conkey, Acumedia, Estados Unidos), producción de pigmentos (Agar P y F, Britania Argentina) y producción de colonias mucosas en agar nutritivo (Oxoid, Bioartis, Argentina).

Debido a que varias cepas presentaron características similares, se las agrupó en función de las mismas y se seleccionaron 7 para continuar con los estudios: I4, I5, I7, E1, Ag2, Ag3 y M53.

Identificación según MALDITOF

De las 7 cepas, 3 perdieron viabilidad durante el desarrollo del presente trabajo, por lo que 4 (I4, I7, Ag 2 y M53) se enviaron a identificar al Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas "Dr. Carlos G Malbrán" por Espectrometría de masas MALDI-TOF-MS, utilizando los métodos directos de siembra y de extracción etanólica Microflex, Bruker y X VITEK MS PRIME. Para completar el diagnóstico se utilizó MicrobeNet MALDI TOF - CDC.

Identificación biomolecular

Para la extracción de ADN, se partió de los aislamientos bacterianos de las 4 cepas (I4, I7, Ag 2 y M53) cultivados en caldo TSB. A partir de estos cultivos, se obtuvieron los pellet de células que sirvieron de punto de partida para el aislamiento del material

genético. Con el fin de asegurar la pureza y la calidad del ADN, se empleó el kit comercial NucliSensminiMAG (bioMérieux), siguiendo las instrucciones proporcionadas por el fabricante.

Una vez extraído, el ADN genómico fue sometido a un primer control de calidad mediante electroforesis en gel de agarosa (al 1%). El objetivo de este control consistía en verificar tanto la integridad como la presencia de ARN residual. En la mayoría de los casos, se apreció claramente una banda genómica robusta y una banda característica correspondiente a ARN (ubicada por debajo de 1 kb), lo que evidenciaba una buena eficiencia en la extracción.

Como paso previo a la identificación por secuenciación, se corroboró la presencia y la integridad del gen del ARNr 16s (región ampliamente utilizada en taxonomía bacteriana). Para ello, se realizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con un par de cebadores de uso universal, los 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'). La polimerasa utilizada fue la enzima comercial T-Plus Free ADN Polimerasa (InbioHighway), y las amplificaciones se llevaron a cabo en un termociclador T100 (Bio-Rad), utilizando un programa que incluyó:

1. Una desnaturalización inicial de 5 minutos a 95 °C.
2. 35 ciclos compuestos por:
 - Desnaturalización corta (15 segundos a 95 °C).
 - Alineamiento (annealing) de 30 segundos a 45 °C.
 - Extensión de 1 minuto y 30 segundos a 72 °C.
3. Finalmente, se realizó una extensión final de 5 minutos a 72 °C.

Para confirmar el correcto desarrollo de la PCR, el producto amplificado (previsto en torno a 1500 pb) fue analizado en un gel de agarosa (1%). Tal como se esperaba para el gen ARNr 16s de bacterias, se detectó una banda de aproximadamente 1500 pb en todas las muestras, lo que aseguró la validez de la amplificación.

Con el propósito de identificar las cepas a nivel de especie, los ADN genómicos purificados se enviaron a la empresa Macrogen Inc. (República de Corea), especializada en secuenciación mediante el método de Sanger. Allí, se llevó a cabo una nueva amplificación de alta fidelidad (usando, por ejemplo, polimerasas tipo pfu) a partir de los extractos de ADN suministrados. Después, se realizaron dos reacciones de extensión independientes, usando cada uno de los cebadores universales 785F (5'-GGATTAGATACCCTGGTA-3') y 907R (5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3'). Dichos cebadores se localizan en regiones muy conservadas dentro del ARNr 16s, abarcando la región variable V5, lo que permite prácticamente reconstruir la secuencia casi completa del ARNr 16s.

Por último, el laboratorio de secuenciación proporcionó un informe bioinformático en el que, después de comparar las secuencias obtenidas con bases de datos de referencia, determinó las especies a las que pertenecían cada una de las cepas analizadas. Todas ellas resultaron estar clasificadas dentro del género *Pseudomonas*, con altos porcentajes de identidad (superiores al 99%) en relación con sus homólogos depositados en las bases de datos consultadas. De esta forma, se consolidó la identificación taxonómica de los aislamientos bacterianos investigados.

-Obtención de los SLC de *Lactiplantibacillus plantarum*, estudio de la naturaleza de los compuestos antimicrobianos presentes en el SLC y evaluación de la actividad antagonista frente a *Pseudomonas* spp. alterantes de carne de boga

Se trabajó con 7 cepas de *Lactiplantibacillus plantarum* aisladas de girasol, sorgo, soja, maíz y Ryegrass, suministradas por el Instituto de Lactología Industrial (UNL-CO-NICET) en Agar ManRogosaSharpe (MRS), que forman parte del cepario del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Bromatología mantenidas como cultivos congelados en caldo MRS + 20% de glicerol. Estas cepas se reactivaron en MRS a 35 °C, por 48 h; posteriormente, se repicaron en agar MRS. Se tomó una colonia aislada de cada cepa, se inocularon en 5 ml de caldo MRS y se las incubó durante la noche (18 h) a 37 °C, proceso que se repitió 2 veces. Posteriormente, se centrifugó a 6000 rpm durante 10 minutos a 8 °C y se filtró a vacío el sobrenadante utilizando filtros de membrana Millipore de 0,45 µm. 5 ml de cada sobrenadante libre de células (SLC) fueron congelados a -24 °C y liofilizados durante 24 h. Cada liofilizado obtenido se reconstituyó con 1 ml de agua destilada estéril.

La determinación de la naturaleza de los compuestos antimicrobianos presentes en el SLC se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Moraes y cols. (2010). Se obtuvieron 3 fracciones de 500 µl de SLC liofilizado. Una de ellas, fue neutralizada a pH 7, otra tratada con proteinasa K (1 mg/ml) e incubación por 4 h a 37 °C y la última, en donde se probó la estabilidad térmica a 80, 100 y 121 °C durante 30 minutos (Mao y col, 2020).

Los SLC con los diferentes tratamientos fueron transferidos a tubos estériles utilizando como control SLC sin tratar, con la finalidad de evaluar la actividad antagonista frente a las cepas de *Pseudomonas* aisladas. Se utilizó el método Kirby Bauer Modificado, que consiste en colocar cilindros de acero inoxidable que contienen 100 µl de SLC, sobre Agar MullerHinton, en cuya superficie se inoculó, a modo de césped, cultivo de las cepas de *Pseudomonas* aisladas (10^8 UFC/ml). Las placas, por duplicado, se mantuvieron a 4 °C durante 2 h y luego se incubaron, sin invertir, a 37 °C durante 24 h. Después de la incubación, la actividad antimicrobiana extracelular se cuantificó midiendo el diámetro (mm) de las zonas de inhibición, que se reportaron como promedios.

-Evaluación del efecto de la inmersión y de la impregnación a vacío de filetes de boga con SLC de *Lactiplantibacillus plantarum* en su estabilidad microbiológica.

Para continuar con la inmersión e impregnación a vacío de la carne de boga, se seleccionaron los dos SLC de las cepas de *Lpb. plantarum* que presentaron mayor actividad antimicrobiana: LpS10 y LPM2. El tratamiento de las muestras con SLC liofilizados de *Lactiplantibacillus plantarum* se realizó mediante impregnación a vacío y por inmersión a presión atmosférica. Se utilizó como control muestras de filetes sin tratar.

1. Se utilizó un equipo Gastrovac® (International Cooking Concepts, España) en el cual se sumergieron 100 g de filetes de pescado en un litro de SLC liofilizado y reconstituido. La etapa de vacío se realizó a una presión de 0,8 bar, 10 °C durante 15 minutos, seguida de una etapa de restauración de igual tiempo.

2- Se sumergieron 100 g de filetes de boga en un litro de SLC liofilizado y reconstituido, durante 30 min a 10 °C.

Los filetes de pescado de cada tratamiento y la muestra control fueron envasados a vacío e incubados a 3 ± 2 °C durante 15 días. A los días 0, 3, 6, 9, 12 y 15 días se realizaron recuentos de bacterias psicrótrofas, por duplicado.

Los resultados se analizaron utilizando Minitab 18.1.0.0 Software (Minitab, LLC., 2017), a los efectos de evaluar su significación ($p < 0,05$) mediante análisis de varianza y ensayos de comparación de medias (Tukey). Los gráficos fueron elaborados utilizando el Software GraphPadPrism 8.0.1. (GraphPad Software, Inc., 2018).

RESULTADOS ALCANZADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento, caracterización e identificación de *Pseudomonas* spp. de boga entera (*Megaleporinus obtusidens*)

A partir del eviscerado de boga se obtuvieron 26 cepas que fueron estudiadas, 8 obtenidas de dos partes distintas del intestino (I1, I2, I3, I4, I5, I6, I7, I8), 4 del estómago (E1, E2, E3, E4), 4 de las agallas (Ag1, Ag2, Ag3, Ag4), 3 de las aletas (Al1, Al2, Al3) y 7 de músculo (M11, M12, M13, M41, M51, M53, M54).

Las características bioquímicas de las cepas aisladas se determinaron utilizando pruebas microbianas convencionales. Se aislaron 20 cepas que compartían las características fenotípicas esenciales de los miembros del género *Pseudomonas*.

Los aislamientos fueron Gram negativos, no fermentadores y con un metabolismo estrictamente oxidativo, oxidasa y catalasa positivos, no fermentadoras de lactosa y presentaron hidrólisis de caseína. Esta actividad proteolítica también fue encontrada por Duman et al. (2021) en un 91 % de los aislados de granjas piscícolas en Turquía. El 85 % de las cepas obtenidas del pescado produjeron algún pigmento, porcentaje similar al encontrado por los autores mencionados (Duman et al., 2021). El 90 % de los aislamientos dieron positivo en la utilización de citrato, obteniendo resultados similares a Burr et al. (2010), quienes encontraron que el 100 % de las cepas estudiadas dio positivo en esta prueba. En relación a la hidrólisis de urea, si bien la mayoría dio negativo (75 %), un 15 % de los aislados estudiados dieron resultados dudosos. Casi el total de cepas (95 %) presentó movilidad, resultados similares a los obtenidos por Duman et al. (2021), quienes observaron esta característica en el 100 % de los casos. También el 95 % dio negativo para la producción de indol, similar a lo hallado por Burr et al. (2010) quienes encontraron que todas las cepas estudiadas no produjeron enzima triptofanasa. Casi la totalidad (95 %) de las bacterias aisladas de boga presentaron habilidad de multiplicación a 7 °C, mientras que el 70 % creció a 42 °C. En el estudio realizado por Duman et al. (2021), un porcentaje mucho menor de colonias presentó la capacidad de crecimiento a 42 °C (7 %). La mitad de las cepas (50 %) aisladas de boga presentaron colonias de aspecto mucoso.

Debido a que varias cepas presentaron características similares, se las agrupó en función de las mismas y se seleccionaron 7 para continuar con los estudios: I4, I5, I7, E1, Ag2, Ag3 y M53. Los 7 aislamientos seleccionados fueron Gram negativos, no fermentadores y con un metabolismo estrictamente oxidativo, oxidasa y catalasa positivos, no fermentadoras de lactosa y presentaron hidrólisis de caseína. Cuatro cepas produjeron pigmentos y seis dieron positivo en la utilización de citrato. Ninguna de las cepas produjo enzima triptofanasa (indol negativos), la mayoría no produjeron enzima ureasa (urea negativo) y presentaron habilidad de multiplicación a 7 °C, mientras que fue variable el crecimiento a 42 °C. Todas presentaron movilidad y en algunas se observó aspecto mucoso.

De las 7 cepas, 3 perdieron viabilidad durante la realización del presente trabajo, por lo que 4 (I4, I7, Ag 2 y M53) se enviaron a identificar al Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas "Dr. Carlos G Malbrán" por Espectrometría de masas MALDI-TOF-MS, utilizando los métodos directos de siembra y de extracción etanólica Microflex, Bruker y X VITEK MS PRIME. Para completar el diagnóstico se utilizó MicrobeNet MALDI TOF - CDC. Las especies identificadas no pudieron ser diferenciadas completamente a nivel de especie mediante esta técnica pero pudo determinarse que corresponden a

especies del complejo *Pseudomonas fluorescens* (Rosado y Bonelli, 2022; NLM-NCBI). Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 1. Identificación por MALDI-TOF-MS de cepas aisladas de boga (*Megaleporinus obtusidens*)

Cepas	Identificación
14	<i>Pseudomonas vancouverensis/chlororaphis</i>
17	<i>Pseudomonas koreensis/chlororaphis</i>
Ag2	<i>Pseudomonas koreensis</i>

El aislamiento de la cepa M53 no pudo ser recuperado para la determinación, por lo que no fue identificado.

Con respecto a la identificación molecular, los resultados de identificación proporcionados por la empresa MacroGen, a partir de la secuenciación Sanger de los amplicones, indicaron que todas las cepas pertenecen al género *Pseudomonas*, con porcentajes de identidad en torno o superiores al 99%. De manera específica, los análisis informáticos determinaron que las cepas son identificadas como:

- 14: 99.45% de identidad con *P. granadensis*
- 17: 99.52% de identidad con *P. granadensis*
- Ag2: 99.52% de identidad con *P. moraviensis*
- P53: 99.72% de identidad con *P. azotoformans*

De este modo, luego de los pasos de extracción y verificación de ADN genómico, amplificación del ARNr 16s y secuenciación Sanger, todas las muestras analizadas correspondieron a diferentes especies de *Pseudomonas* con niveles de identidad variables, cercanos o superiores al 99% en comparación con las secuencias de referencia disponibles, que corresponden a especies del complejo *Pseudomonas fluorescens* (Rosado y Bonelli, 2022; NLM-NCBI).

Evaluación de la actividad antimicrobiana de los SLC frente a cepas aisladas de boga (*Megaleporinus obtusidens*)

Los 7 SLC estudiados fueron: LpSF1 (SLC de *Lpb. plantarum* aislado de girasol), LpS6 y LpS10 (SLC de *Lpb. plantarum* aislados de sorgo), LpSY1 (SLC de *Lpb. plantarum* aislado de soja), LpM2 y LpM9 (SLC de *Lpb. plantarum* aislado de maíz) y LpRY3 (SLC de *Lpb. plantarum* aislado de Ryegrass). Los SLC de las 7 cepas de *Lpb. plantarum* presentaron un pH entre 3,8-3,9, valores coincidentes con los encontrados por Hu et al. (2013) y Xie et al. (2016). Los resultados obtenidos de la actividad antimicrobiana frente a cepas aisladas de boga se pueden observar en la siguiente tabla.

Tabla 2. Actividad antimicrobiana de SLC de cepas de *Lpb. plantarum* determinada por ensayo de difusión y expresada como el tamaño de las zonas de inhibición (mm) frente a cepas aisladas de boga (*Megaleporinus obtusidens*)

Cepas	Diámetros de las zonas de inhibición (mm)						
	LpSF1	LpS6	LpS10	LpSY1	LpM2	LpM9	LpRY3
I4	31	35	37	36	36	31	30
I5	23	23	23	23	24	22	23
I7	30	37	35	29	32	26	28
E1	25	24	26	23	24	24	24
Ag2	18	19	19	21	22	20	19
Ag3	20	18	20	21	19	21	19
M53	21	21	21	23	23	21	18

Oldak et al. (2017) utilizaron la siguiente clasificación de la actividad antimicrobiana en función de los diámetros de la zona de inhibición: ligera (menor de 4 mm de diámetro), media (entre 4 y 8 mm), alta (entre 8 y 12 mm) y muy alta (mayor de 12 mm). Según esta clasificación, el 100 % de los valores obtenidos de los SLC mostrados en la Tabla 2, presentaron muy alta actividad antimicrobiana frente a cepas aisladas de boga. La cepa I4 resultó sensible con halos de inhibición mayores a 30 en todos los SLC estudiados.

Kuley et al. (2021) encontraron halos de inhibición de aproximadamente 16 mm de diámetro al estudiar el efecto de un SLC de *Lpb. plantarum* FI8595 frente a *Pseudomonas luteola* aislada de pescado, mientras que Sharaf et al. (2019) observaron halos de 8 mm en SLC de *Lpb. plantarum* frente a *Pseudomonas aeruginosa* aislada de queso, ambos valores inferiores a la mayoría de los encontrados en este trabajo. Por otro lado, De Giani et al. (2019) encontraron mayor inhibición (halos de 40 mm de diámetro) en *Lpb. plantarum* PBS067 frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Para conocer si la actividad antimicrobiana de los SLC es debida a la presencia de ácidos orgánicos, se neutralizaron los sobrenadantes y se realizaron los ensayos de inhibición en las 7 cepas estudiadas. En contraste con los resultados obtenidos con los SLC no neutralizados, ninguno presentó inhibición de las cepas mencionadas. Estos resultados coinciden con lo encontrado por Arena et al. (2016) y Sharaf et al. (2019), quienes sugieren que la capacidad de SLC de *Lpb. plantarum* para evitar o disminuir el crecimiento de microorganismos in vitro depende, en cierta medida, del efecto reductor de su bajo pH y/o de la presencia de ácidos orgánicos. Arrijoa-Bretón et al. (2020) encontraron que el SLC de *Lpb. plantarum* NRRL B-4496 no neutralizado fue más efectivo contra *S. aureus* (ATCC 700698), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Listeria monocytogenes* (Scott A) y *Escherichiacoli*. (ATCC 25922).

Para sostener la acción inhibidora, los sobrenadantes neutralizados fueron concentrados por liofilización y luego reconstituidos en menor volumen. Se utilizó como control negativo caldo MRS no inoculado, liofilizado y reconstituido.

Las pruebas de inhibición de los 7 sobrenadantes concentrados frente a las 7 cepas aisladas de boga, se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Actividad antimicrobiana de SLC neutralizados y liofilizados de cepas de *Lpb. plantarum* determinada por ensayo de difusión y expresada como el tamaño de las zonas de inhibición (mm) frente a cepas aisladas de boga (*Megaleporinus obtusidens*).

	Diámetros de las zonas de inhibición (mm)						
	LpSF1	LpS6	LpS10	LpSY1	LpM2	LpM9	LpRY3
I4	9	10	7	7	7	7	7
I5	0	0	7	7	8	9	7
I7	18	21	18	20	19	17	17
E1	15	15	10	16	7	13	17
Ag2	8	12	10	7	8	10	8
Ag3	10	18	20	13	15	18	15
M53	0	7	15	7	20	20	7

En la Tabla 3 se puede observar que la cepas I4, que resultó más sensibles frente a los SLC sin tratar, presentó mayor resistencia en este estudio, si bien se mantuvo dentro del rango de actividad antimicrobiana alta propuesto por Oldak et al. (2017), lo que indica que es la acción de los ácidos orgánicos lo que provocó, principalmente, la actividad antagónica. De las 7 cepas, 5 presentaron entre media y muy alta sensibilidad (halos mayores a 7 mm) frente a todos los SLC neutralizados y liofilizados, lo que indica la acción de otras sustancias inhibidoras en los sobrenadantes.

Estudio de la naturaleza de los compuestos antimicrobianos presentes en el SLC.

Tratamientos térmicos: 80 °C 30 minutos, 100°C 30 minutos y 121 °C 15 minutos

Se determinó la sensibilidad de cada SLC neutralizado y liofilizado en estudio frente a la acción de la temperatura 80 °C durante 30 minutos. Cada ensayo se realizó por duplicado y los resultados se expresan en la Tabla 4 como un promedio de los resultados individuales obtenidos.

Tabla 4. Actividad antimicrobiana de SLC neutralizados y liofilizados de cepas de *Lpb. plantarum* tratados a 80°C durante 30 minutos determinada por ensayo de difusión y expresada como el tamaño de las zonas de inhibición (mm) frente a las cepas aisladas de boga (*Megaleporinus obtusidens*).

	Diámetros de las zonas de inhibición (mm)						
	LpSF1	LpS6	LpS10	LpSY1	LpM2	LpM9	LpRY3
I4	0	0	0	0	0	0	0
I5	11	8	8	8	7	8	8
I7	11	8	9	8	8	9	8
E1	0	0	0	0	0	0	0
Ag2	12	9	10	7	8	11	7
Ag3	9	7	0	11	7	7	9
M53	7	0	7	7	0	0	7

Comparando estos resultados con los detallados en la Tabla 3, se observa que ninguno de los SLC neutralizados y liofilizados estudiados en las condiciones ensayadas

presentó capacidad inhibitoria contra las cepas blanco I4 y E1. Por otro lado, todos los SLC presentaron capacidad inhibitoria luego del tratamiento térmico frente a las cepas I5, I7 y Ag2.

Tabla 5. Actividad antimicrobiana de SLC neutralizados y liofilizados de cepas de *Lpb. plantarum* tratados a 100°C durante 30 minutos determinada por ensayo de difusión y expresada como el tamaño de las zonas de inhibición (mm) frente a las cepas aisladas de boga (*Megaleporinus obtusidens*).

	Diámetros de las zonas de inhibición (mm)						
	LpSF1	LpS6	LpS10	LpSY1	LpM2	LpM9	LpRY3
I4	0	0	0	0	0	0	0
I5	0	0	0	0	0	0	0
I7	0	0	7	0	0	0	0
E1	0	0	0	0	0	0	0
Ag2	7	0	0	7	7	0	15
Ag3	0	0	0	0	0	7	0
M53	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 6. Actividad antimicrobiana de SLC neutralizados y liofilizados de cepas de *Lpb. plantarum* tratados a 121°C durante 15 minutos determinada por ensayo de difusión y expresada como el tamaño de las zonas de inhibición (mm) frente a las cepas aisladas de boga (*Megaleporinus obtusidens*).

	Diámetros de las zonas de inhibición (mm)						
	LpSF1	LpS6	LpS10	LpSY1	LpM2	LpM9	LpRY3
I4	0	0	0	0	0	0	0
I5	0	0	0	0	0	0	0
I7	0	0	0	0	0	0	0
E1	0	0	0	0	0	0	0
Ag2	7	0	0	7	7	0	10
Ag3	0	0	0	0	0	0	0
M53	0	0	0	0	0	0	0

En las Tablas 5 y 6, se puede observar que solo se detectaron halos de inhibición de 15 y 10 mm para el SLC neutralizado y liofilizado de LpRY3 a 100 °C 30 minutos y 121 °C 15 minutos, respectivamente. Estos datos son coincidentes a los reportados por Audisio y Apella (2006) quienes encontraron que la sustancia activa de sobrenadantes de cultivos con actividad antimicrobiana generados por *Lactobacillus salivarius* subsp. *salivarius* CRL1384 era resistente al calor (121 °C por 15 min). Los mayores halos de inhibición indican que son los sobrenadantes que poseen sustancias activas con mayor resistencia térmica. En este sentido, las bacteriocinas termorresistentes, pertenecientes a las Clases I y II de la clasificación establecida por García y col. (2010) y Herrero Sánchez (2013) están dentro de las más prometedoras para su utilización como biopreservadores alimentarios.

Ensayo Enzimático

A fin de realizar una caracterización primaria de los SLC neutralizados y liofilizados, se estudió la posible presencia en su composición de compuestos inhibitorios de naturaleza proteica, para lo cual se evaluó la acción ejercida sobre su actividad por la enzima proteolítica proteasa K. Cada ensayo se realizó por duplicado, los resultados se expresaron como un promedio de los resultados individuales obtenidos y se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Actividad antimicrobiana de SLC neutralizados y liofilizados de cepas de *Lpb. plantarum* tratados con proteasa K y determinada por ensayo de difusión y expresada como el tamaño de las zonas de inhibición (mm) frente a las cepas aisladas de boga (*Megaleporinus obtusidens*).

	Diámetros de las zonas de inhibición (mm)						
	LpSF1	LpS6	LpS10	LpSY1	LpM2	LpM9	LpRY3
I4	14	10	14	14	0	16	10
I5	0	0	11	0	0	9	0
I7	11	10	11	10	9	10	9
E1	7	7	7	8	7	0	8
Ag2	18	15	12	14	7	12	13
Ag3	13	14	0	13	0	0	11
M53	7	7	7	7	7	0	7

En base a los datos obtenidos y presentados en la Tabla 7, se determinó que los tratamientos con proteasa K produjeron una reducción considerable, aunque variable, en los diámetros de los halos de inhibición para los distintos sobrenadantes frente a las diferentes cepas blanco, comparado con los resultados obtenidos en la Tabla 3, con SLC neutralizados y liofilizados.

Evaluación del efecto de tratamientos de filetes de boga con SLC sobre microorganismos psicrótrofos

Para continuar con la inmersión e impregnación a vacío de la carne de boga, se seleccionaron los dos SLC de las cepas de *Lpb. plantarum* que presentaron mayor actividad antimicrobiana: LpS10 y LPM2. En las Figuras 1 y 2 se puede observar que ambos tratamientos, por impregnación a vacío y por inmersión, con ambos SLC, redujeron significativamente el número de bacterias psicrótrofas de los filetes de boga.

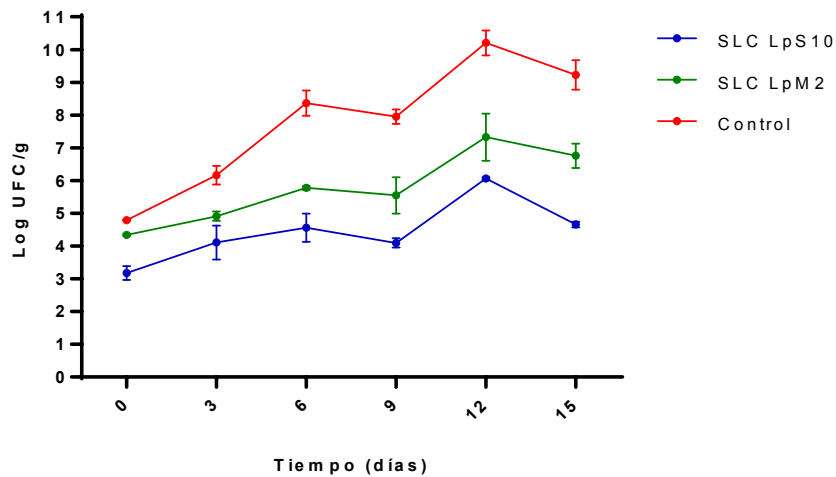


Figura 1. Efecto del tratamiento de impregnación y el envasado a vacío sobre el crecimiento de bacterias psicrótrofas en muestras control y muestras impregnadas con SLC de LpS10 y LpM2.

Ambas muestras impregnadas a vacío presentaron un recuento de bacterias psicrótrofas inferiores a 7 log UFC/g, valor límite en muestras de pescado refrigerado para consumo humano recomendado por la Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas en Alimentos (ICMSF, 2011). Los recuentos en las muestras impregnadas fueron significativamente menores que en la control (4,79 log UFC/g), siendo el recuento de las muestras tratadas con SLC de LpS10 significativamente menores a las tratadas con LpM2 (3,18 y 4,34 log UFC/g, respectivamente).

El valor de 7 log, límite establecido por la ICMSF (2011) para el pescado refrigerado para consumo humano, fue superado en la carne de boga control en el día 6 de almacenamiento, mientras que en el pescado impregnado con LpM2 se alcanzó en el día 12 y en el tratado con LpS10 a los 15 días de almacenamiento seguía manteniendo un recuento inferior a 7 log.

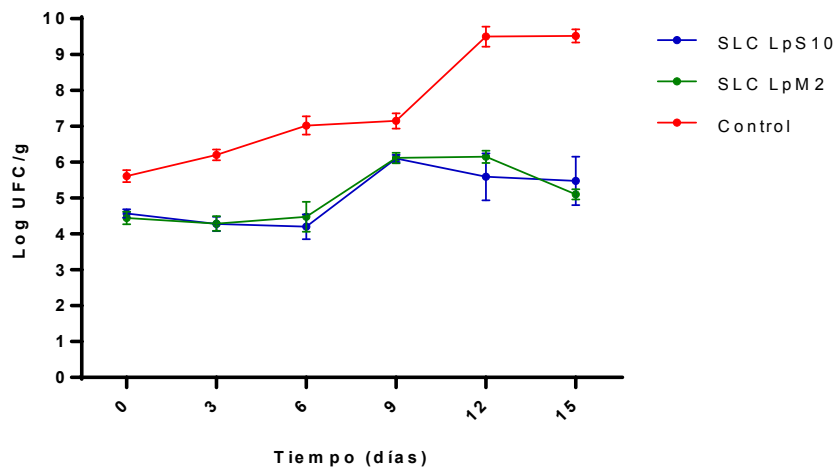


Figura 2. Efecto del tratamiento de impregnación y el envasado a vacío sobre el crecimiento de bacterias psicrótrofas en muestras control y muestras tratadas por inmersión con SLC de LpS10 y LpM2.

Ambas muestras tratadas con SLC presentaron un recuento de bacterias psicrótrofas inferiores a 7 log UFC/g. Este límite, establecido por la ICMSF (2011) para el pescado refrigerado para consumo humano, no fue superado en la carne de boga tratada con ambos SLC durante los 15 días de almacenamiento.

Los recuentos en las muestras tratadas con LpS10 y LpM2 fueron significativamente menores que en la control (4,57 y 4,45 log UFC/g, respectivamente), pero sin presentar diferencia entre las mismas.

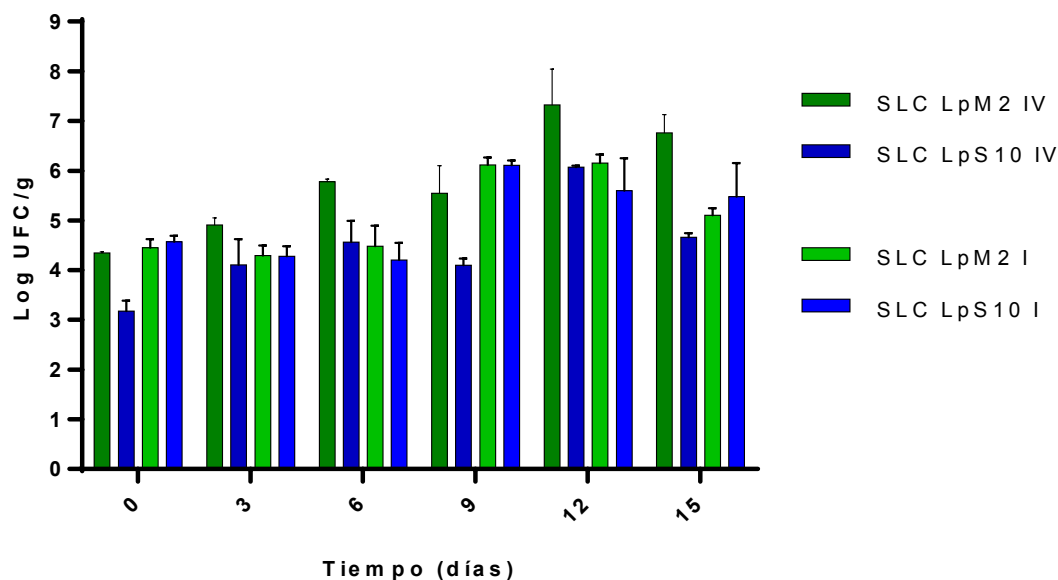


Figura 3. Efecto del tratamiento de impregnación y el envasado a vacío sobre el crecimiento de bacterias psicrótrofas en muestras tratadas por impregnación a vacío (IV) y por inmersión (I) con SLC de LpS10 y LpM2.

En la Figura 3 se comparan los 4 tratamientos realizados a la carne de boga: impregnación a vacío e inmersión en SLC obtenidos a partir de *Lpb. plantarum* de S10 y M2. Se puede observar que el recuento de bacterias psicrótrofas posterior al tratamiento, fue significativamente menor en la muestra impregnada a vacío con SLC obtenido de LpS10 (3,18 log UFC/g).

El valor de 7 log, límite establecido por la ICMSF (2011) para el pescado refrigerado para consumo humano, fue superado solamente por la muestra impregnada a vacío con SLC de LpM2 el día 12 de almacenamiento, mientras que las demás mantuvieron los recuentos por debajo de ese límite durante los 15 días de almacenamiento.

Ambas muestras impregnadas a vacío muestran el mayor aumento en los recuentos a los 12 días de almacenamiento, mientras que las muestras que fueron inmersas a presión atmosférica lo presentaron al día 9 de almacenamiento.

Al finalizar el periodo estudiado, se observan los menores recuentos en la muestra impregnada a vacío con SLC de LpS10 (4,66 log UFC/g), mientras que los mayores se presentaron en la boga impregnada a vacío con SLC de Lp M2 (6,76 log UFC/g). Entre las muestras tratadas a presión atmosférica no se observaron diferencias significativas en los recuentos en los diferentes días de almacenamiento.

Los resultados encontrados en el crecimiento y multiplicación de bacterias psicrótrofas se pueden explicar por el efecto antimicrobiano del bajo pH y la presencia de

ácidos orgánicos en los SLC incorporados a la carne de boga. Además, en las pruebas de inhibición de SLCL y neutralizados se encontró que siguieron presentando actividad microbiana, esto sugiere la presencia de otros metabolitos producidos por *Lpb. plantarum* capaces de inhibir el crecimiento microbiano como plantaricinas y otros péptidos antimicrobianos (Mani-López et al., 2022).

CONCLUSIONES

Las especies identificadas en carne de boga (*Megaleporinus obtusidens*) fueron diferenciadas a nivel de especie, determinando que corresponden a especies del complejo *Pseudomonas fluorescens*.

De los SLC neutralizados y liofilizados, solo el de LpRY3 presentó inhibición luego de ser sometido a 100 °C 30 minutos y 121 °C 15 minutos, lo que resulta prometedor desde el punto de vista de sus potenciales aplicaciones tecnológicas debido a la posibilidad de aplicarlo a alimentos que luego deberán ser sometidos a una pasteurización u otros tipos de tratamientos térmicos.

Se determinó que el tratamiento con proteasa K produjo una reducción considerable, aunque variable, en los diámetros de los halos de inhibición para los distintos sobrenadantes frente a las diferentes cepas blanco, comparado con los resultados obtenidos con SLC neutralizados y liofilizados. Si bien se trata sólo de un ensayo de caracterización primaria, estos resultados confirman la presencia de compuestos inhibidores producidos por estas cepas de *Lpb. plantarum* que son de naturaleza proteica con alta probabilidad de que sean bacteriocinas.

Los resultados encontrados en el crecimiento y multiplicación de bacterias psicrótrofas se pueden explicar por el efecto antimicrobiano del bajo pH, la presencia de ácidos orgánicos y de otros metabolitos (plantaricinas y otros péptidos antimicrobianos) producidos por *Lpb. plantarum* aislados de sorgo (LpS10) y maíz (LpM2) presentes en los SLC incorporados a la carne de boga, tanto por inmersión como por impregnación a vacío.

Indicadores de producción

Artículo publicado en revistas científicas

- 1- Naef, EF, Aviles, MV, Borgo, MA, Abalos, RA, Lound, LH y Olivera, DF (2025). Cocción al vacío tras impregnación con zumo de limón: efectos sobre la carne de un pez de agua dulce. *Journal of Culinary Science & Technology*, 23 (6), 1665–1686. <https://doi.org/10.1080/15428052.2025.2455106>

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arena, M. P.; Silvain, A., Normanno, G., Grieco, F., Drider, D., Spano, G., y Fiocco, D. (2016). Use of *Lactobacillus plantarum* Strains as a Bio-Control Strategy against Food-Borne Pathogenic Microorganisms. *Front. Microbiol.* 7, 464. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00464>
- Arrija-Bretón, D., Mani-López, E., Bach, H., y López-Malo, A. (2020). Antimicrobial activity of protein-containing fractions isolated from *Lactobacillus plantarum* NRRL B-4496

- culture. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51, 1289–1296. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00266-5>
- Arrijoja-Bretón, D., Mani-López, E., Palou, E., y López-Malo, A. (2020). Antimicrobial activity and storage stability of cell-free supernatants from lactic acid bacteria and their applications with fresh beef. *Food Control*, 115, 107286.
- Audisio, C., y Apella, M. C. (2006). Bacteriocin production by *Lactobacillus salivarius* subsp. *salivarius* CRL1384 with anti-*Listeria* and anti-*Salmonella* effects. *Research Journal of Microbiology*, 1, 61-69. <https://dx.doi.org/10.3923/jm.2006.61.69>
- Britos, S., Saravi, A., y Chichizola, N. (2012). ¿Dónde están y por qué son importantes las calorías dispensables en la revisión de Guías Alimentarias Argentinas? <https://cepea.com.ar/cepea/wp-content/uploads/2012/12/Documento-calor%C3%ADas-dispensables.pdf>
- Burr, S. E., Gobeli, S., Kuhnert, P., Goldschmidt-Clermont, E., y Frey, J. (2010). *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *piscium* subsp. nov., isolated from freshwater fish. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(12), 2753–2757. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.011692-0>
- Campos, C. A., Lara, V. M., y Gliemmo, M. F. (2019). Lactic acid bacteria as source of biosurfactants. *Nova Science Publishers*, 91-110.
- Ciappini, M.C., Gatti, M.B., Chain, P.N., y Cabreriso, M.S. (2019). Perfil lipídico de tres especies de pescados de agua dulce: Boga (*Leporinus obtusidens*), Dorado (*Salminus brasiliensis*) y Surubí (*Pseudoplatystoma coruscans*). *Revista de Ciencia y Tecnología*, 32, 33-38. <https://doi.org/10.36995/j.recyt.2019.32.006>
- Dawson, P., Al-Jeddawi, W., y Remington, N. (2018). Effect of freezing on the shelf life of salmon. *International Journal of Food Science*, 1–12.
- De Giani, A., Bovio, F., Forcella, M., Fusi, P., Sello, G., y Di Gennaro, P. (2019). Identification of a bacteriocin-like compound from *Lactobacillus plantarum* with antimicrobial activity and effects on normal and cancerogenic human intestinal cells. *AMB Express*, 9(1), 88. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0813-6>
- Duman, M., Mulet, M., Altun, S., Saticioglu, I. B., Ozdemir, B., Ajmia, N., Lalucat, J., y García-Valdés, E. (2021). The diversity of *Pseudomonas* species isolated from fish farms in Turkey. *Aquaculture*, 535, 736369. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736369>.
- Filannino, P., De Angelis, M., Di Cagno, R., Gozzi, G., Riciputi, Y., y Gobbetti, M. (2018). Cómo *Lactobacillus plantarum* da forma a su transcriptoma en respuesta a hábitats contrastantes. *Env. microbiol*, 20, 3700–3716.
- Garaffo, M.A., Vasallo-Agius, R., Nengas, Y., Lembo, E., Rando, R., Maisano, R., Dugo, G., y Giuffrida, D. (2011). Fatty Acids Profile, Atherogenic (IA) and Thrombogenic (IT) Health Lipid Indices, of Raw Roe of Blue Fin Tuna (*Thunnus thynnus* L.) and Their Salted Product “Bottarga”. *Food Nutr. Sci.*, 2, 736–743. <https://doi.org/10.4236/fns.2011.27101>
- García, P., Rodríguez, L., Rodríguez, A., y Martínez, B. (2010). Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 373–382. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.010>.
- Haraf, O. M., Al-Gamal, M. S., Ibrahim, G. A., Dabiza, N. M., Salem, S. S., El-Ssayad, M. F., y Youssef, A. M. (2019). Evaluation and Characterization of some protective culture Metabolites in free and nano-chitosan-loaded forms against Common Contaminants of Egyptian Cheese. *Carbohydrate Polymers*, 223, 115094. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115094>

- Herrero-Sanchez, M. E. (2013). Evaluación de bacteriófagos y bacteriocinas para la eliminación de *Listeria monocytogenes* (Tesis de Maestría en Biotecnología Alimentaria). Universidad de Oviedo, España. <http://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/18225/6/TFM%20Maria%20Esther%20Herrero%20Sanchez.pdf>.
- Hu, M., Zhao, H., Zhang, C., Yu, J., y Lu, Z. (2013). Purification and Characterization of Plantaricin 163, a Novel Bacteriocin Produced by *Lactobacillus plantarum* 163 Isolated from Traditional Chinese Fermented Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(47), 11676–11682. <http://doi.org/10.1021/jf403370y>
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). (2011). *Microorganisms in Foods 8. Use of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance*. Springer.
- Kuley, E., Muhammet Kuscü, M., Durmus, M., y Ucar, Y. (2021). Inhibitory activity of Co-microencapsulation of cell free supernatant from *Lactobacillus plantarum* with propolis extracts towards fish spoilage bacteria. *LWT*, 146, 111433. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111433>
- Mani-López, E., Arrijoja-Bretón, D., López-Malo, A. (2022). The impacts of antimicrobial and antifungal activity of cell-free supernatants from lactic acid bacteria in vitro and foods, en: *Comprehensive Reviews Food Science and Food Safety*, 21:604–641. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12872>
- Mao Y., Zhang X., Xu Z. (2020) Identification of antibacterialsubstances of *Lactobacillus plantarum* DY-6 for bacteriostaticaction. *FoodSciNutr.*,8, 2854–63.<https://doi.org/10.1002/fsn3.1585>
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2021). *Informe DPP N° 01/2021 - Mercado interno de pescado de río procedente de frigoríficos de la baja cuenca del Plata en Argentina. Datos de 2019*. https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/promocion_consumo/informes/archivos/210201_Informe%20DPP%20Nro1%20-%202021.pdf.
- Moradi, M., Tajik, H., Mardani, K., yEzati, P. (2019). Efficacy of lyophilizedcell-free supernatant of *Lactobacillus salivarius* (Ls-BU2) on*Escherichiacoli*and shelflife of groundbeef. *Veterinaryresearchforum: aninternationalquarterlyjournal*, 10(3), 193–198. <https://doi.org/10.30466/vrf.2019.101419.2417>
- Moraes, P. M., Perin, L. M., Ortolani, M. B. T., Yamazi, A. K., Viçosa, G. N., y Nero, L. A. (2010). Protocolsfortheisolation and detection of lacticacid bacteria withbacteriocinogenicpotential. *LWT-FoodScience and Technology*, 43, 1320-1324.<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.005>
- Naef, E., Aviles, M.V., Olivera, D.F., Abalos, R.A., Gómez, M.B., yLound, L. (2021). Caracterización microbiológica y fisicoquímica de carne de boga (*Leporinusobtusidens*) impregnada con jugo de limón. *Acta Agronómica*, 70(1), 57-65.<http://dx.doi.org/10.15446/acag.v70n1.90921>
- National Library of Medicine - National Center for Biotechnology Information (NCBI). Taxonomy browser. *Pseudomonas fluorescens* group. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/tree/?taxon=136843&expanded=47878%2C2775505%2C651740%2C321662>
- Olafsdottir, G., Lauzon, H. L., Martinsdottir, K. (2006). Influence of storagetem-peraturamicrobialspoilagecharacteristics of haddockfillets (*Melanogrammusaelefinus*) evaluatedbymultivariatequalityprediction. *Int J FoodMicrobiol.*, 111, 112-125. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.045>

- Óldak, A., Zielińska, D., Rzepkowska, A., y Kołożyn-Krajewska, D. (2017). Comparison of Antibacterial Activity of *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from Two Different Kinds of Regional Cheeses from Poland: Oscypek and Korycinski Cheese. *BioMed Research International*, 6820369. <https://doi.org/10.1155/2017/6820369>
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Georgescu, C., Turcuș, V., Olah, N. K., y Mathe, E. (2018). Una descripción general del papel de los antimicrobianos naturales en los alimentos. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 922 - 935. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.095>
- Rosado, A. S., y Bonelli, R. R. (2022). *Pseudomonas fluorescens* Complex and Its Intrinsic, Adaptive, and Acquired Antimicrobial Resistance Mechanisms in Pristine and Human-Impacted Sites. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(8), 985. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11080985>
- Shi, C., y Maktabdar, M. (2022). Lactic Acid Bacteria as Biopreservation Against Spoilage Molds in Dairy Products – A Review. *Frontiers in Microbiology*, 12, 819684. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.819684>
- Vougiouklaki, D., Tsironi, T., Papaparaskevas, J., Halvatsiotis, P., Houhoula, D. (2022). Characterization of *Lactocaseibacillus rhamnosus*, *Levilactobacillus brevis* and *Lactiplantibacillus plantarum* Metabolites and Evaluation of Their Antimicrobial Activity against Food Pathogens. *Appl. Sci.*, 12, 660. <https://doi.org/10.3390/app12020660>
- Xie, C., Wang, H., Deng, S., y Xu, X. (2016). The inhibition of cell-free supernatant of *Lactobacillus plantarum* on production of putrescine and cadaverine by four amine-positive bacteria in vitro. *LWT - Food Science and Technology*, 67, 106-111. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.02>
- Yazgan, H. (2020). Effects of Cell Free Supernatants of *Lactobacillus reuteri* ATCC55730 and *Lactobacillus plantarum* FI8595 Against Selected Food-Borne Pathogens and Fish Spoilage Microorganisms. *European Journal of Science and Technology*, 20, 485-489. <https://doi.org/10.31590/ejosat.768006>

PID 9139

Denominación del Proyecto

Evaluación de la sensibilidad de *Pseudomonas spp.* alterantes aisladas de carne de boga (*Megaleporinus obtusidens*) frente a sobrenadantes libres de células de *Lactiplantibacillus plantarum*, potenciales bio-preservantes

Unidad de ejecución

Universidad Nacional de Entre Ríos

Dependencia

Facultad de Bromatología – UNER

Cátedra, Área o disciplina científica

Bromatología, Microbiología de Alimentos, Química General, Biotecnología, Genética I

Área Temática: Ciencias agropecuarias

Disciplina científica: Otras ciencias agrícolas

Campo de aplicación (principal): Industrial (producción y tecnología)

Campo de aplicación (secundario): Alimentos, bebidas y tabaco.

Contacto: elisa.naef@uner.edu.ar

Integrantes del proyecto

Director/a

Elisa Fernanda Naef (Facultad de Bromatología – UNER)

Codirector/a

Mercedes Carolina Piaggio (Facultad de Bromatología – UNER)

Integrantes internos/docentes UNER

Glodowsky, Alejandro Pablo (FB-UNER); Levin, Gustavo Javier (FB-UNER); Lound, Liliana Haydée (FB-UNER); Rizzi, Mariana (FB-UNER); Sacchi, Cecilia Andrea (FB-UNER)

Becarias/os vinculadas al PID: Diaz Arese, Abril (FB-UNER)

Fecha de iniciación y finalización efectivas

01/06/2023 y 31/05/2025

Aprobación del Informe Final mediante resolución C.S. N° 426/25 (12-12-2026)