

## **“Aplicación de técnicas de biopreservación sobre frutas mínimamente procesadas inoculadas con patógenos y su evaluación como alimentos funcionales probióticos”**

Durante esta Tesis se estudiaron tecnologías naturales de preservación como alternativa a las convencionalmente empleadas, con el objetivo de asegurar la inocuidad y mantener la calidad de frutas mínimamente procesadas. Atendiendo además a la creciente demanda de los consumidores actuales por alimentos con menos aditivos químicos agregados, que resulten seguros, con características similares a los productos frescos, fáciles de consumir y sensorialmente agradables. En este sentido, frente a la importancia del consumo de frutas por su aporte nutricional, la manzana representa la segunda más consumida a nivel mundial, exhibiendo una disponibilidad de compra anual. Por otra parte, el cultivo de arándanos es de gran importancia en la región del Noreste argentino. A pesar de que su comercialización está dedicada mayormente a la exportación del producto en fresco, durante los últimos años tanto el volumen como el precio de exportación disminuyeron, resultando necesario el desarrollo de nuevas propuestas para promover su consumo interno.

El manuscrito se divide en tres secciones. En la **Sección A** se evaluó la aplicación de tecnologías químicas y físicas de preservación. Así, en la Primera Parte del Capítulo 1 se estudiaron diferentes tecnologías “in vitro”, evaluando el efecto antimicrobiano frente a *E. coli* O157:H7, *P. aeruginosa*, *L. innocua* y *S. aureus*. En la Segunda Parte se realizó la aplicación “in vivo” de las tecnologías que resultaron efectivas sobre arándanos frescos inoculados con los patógenos evaluados “in vitro” anteriormente. Se investigó su impacto sobre la inocuidad de los arándanos y sus características sensoriales. En el Capítulo 2, la Primera Parte comprendió la aplicación y evaluación de recubrimientos comestibles de quitosano enriquecido con compuestos antimicrobianos sobre cubos de manzana inoculados con *E. coli* O157:H7 y *L. innocua*, así como también el impacto de los recubrimientos sobre los atributos de calidad sensorial durante 12 días de almacenamiento a 5 °C. En la Segunda Parte, se aplicaron recubrimientos de goma gelano enriquecidos con fibra de manzana y compuestos bioactivos sobre cubos de manzana. Además del análisis de inocuidad y calidad microbiológica general, también se determinaron otros atributos de calidad global tales como color, textura, compuestos fenólicos y atributos sensoriales durante el almacenamiento refrigerado. La **Sección B** de la Tesis comprende el Capítulo 3, en el que se utilizó la tecnología de obstáculos, combinando la aplicación de recubrimientos de alginato de sodio enriquecidos con fibra de manzana y vainillina con el

procesamiento a altas presiones, sobre cubos de manzana. Se evaluó la seguridad microbiológica estudiando el efecto de los tratamientos combinados sobre *E. coli* y *L. monocytogenes* inoculados sobre los cubos de manzana, además de características fisicoquímicas del producto. También se llevó a cabo el monitoreo de los compuestos fenólicos a través de una digestión gastrointestinal “in vitro”. La **Sección C** comprende el desarrollo de alimentos con características probióticas y prebióticas, utilizando arándanos y manzanas como vehículos de estos ingredientes funcionales. En este sentido, la Primera Parte del Capítulo incluyó la evaluación “in vitro” del potencial antagonista de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium lactis* frente a *E. coli* O157:H7 y *L. innocua*. En la Segunda Parte del Capítulo 4 se formularon recubrimientos prebióticos (inulina+oligofructosa) de alginato adicionados con los microorganismos probióticos *L. casei*, *L. rhamnosus* o *B. lactis* aplicados sobre arándanos, que fueron almacenados durante 14/21 días a 5 °C. El estudio comprendió el análisis del efecto simbiótico entre prebióticos y probióticos, y las principales características de calidad de los arándanos mínimamente procesados. Además, se estudió el potencial efecto antagonista de los probióticos frente a *E. coli* y *L. innocua*. Finalmente, en el Capítulo 5 las formulaciones simbióticas de alginato utilizadas en el Capítulo anterior se aplicaron sobre cubos de manzana, estudiando la viabilidad de *L. casei*, *L. rhamnosus* y *B. lactis* al someter el producto a una digestión gastrointestinal “in vitro”, así como también la liberación de los compuestos fenólicos en este proceso. También se incluyó el análisis de índices de calidad y el efecto antagonista de los probióticos frente a patógenos durante 8 días de almacenamiento a 5 °C.

Los resultados de la evaluación “in vitro” del Capítulo 1 presentaron al geraniol, la vainillina y el quitosano como los agentes antimicrobianos más efectivos entre los evaluados. De este modo, la aplicación “in vivo” de la combinación de estos compuestos en recubrimientos activos logró reducciones tanto en los recuentos de *E. coli* O157:H7, *P. aeruginosa*, *L. innocua* y *S. aureus* como en la microflora nativa de los arándanos. Además, las características sensoriales resultaron aceptables. En el Capítulo 2, la aplicación de los recubrimientos de quitosano con y sin geraniol o vainillina resultó efectiva en el control de *E. coli* O157:H7 y *L. innocua*, sin embargo afectó negativamente la calidad sensorial de los cubos de manzana. En cambio, la incorporación de geraniol o vainillina en recubrimientos de gelano presentó efectividad antimicrobiana, y permitió mantener los parámetros de color y textura del producto, prolongando además la vida útil

sensorial cuando los cubos de manzana se recubrieron con gelano y vainillina. Los resultados del Capítulo 3 indicaron que la tecnología de obstáculos aplicada logró reducciones mayores a 5 log UFC/g en las poblaciones de *E. coli* y *L. monocytogenes* inoculadas en los cubos de manzana. Además, el uso del recubrimiento activo preservó en mayor medida las características de color y textura de los cubos de manzana sometidos al tratamiento con altas presiones. A pesar de esto, el tratamiento a altas presiones causó una activación enzimática que el recubrimiento no logró contrarrestar. Este hecho se relacionó con una degradación parcial de los compuestos fenólicos. En el Capítulo 4, los probióticos presentaron fuertes efectos antagonistas frente a los patógenos al ser evaluados “in vitro”. Además, el estudio en arándanos reveló que la adición de inulina+oligofruktosa ejerció un efecto protector sobre *L. casei*, *L. rhamnosus* y *B. lactis*, manteniendo los recuentos encima de 6 log UFC/g de producto durante 14/21 días de almacenamiento a 5 °C. Se preservaron los principales parámetros fisicoquímicos y como resultado remarcable, los arándanos recubiertos con *L. rhamnosus* y *B. lactis* mantuvieron la calidad sensorial, alcanzando una vida útil de 14 días bajo refrigeración. Adicionalmente, los probióticos exhibieron efecto antagonista frente a *L. innocua*, con reducciones de hasta 1.70 log UFC/g. En el último Capítulo, los resultados del proceso de digestión “in vitro” de los cubos de manzana comprobaron la supervivencia de *L. casei*, *L. rhamnosus* y *B. lactis* vehiculizados en recubrimientos de alginato prebiótico en un nivel muy superior a 6 log UFC/g de producto, asegurando su llegada al intestino delgado en cantidades recomendadas para ejercer el efecto benéfico sobre la salud humana. En este Capítulo, la elevada supervivencia presentada por los probióticos durante 8 días de almacenamiento refrigerado se relacionó en mayor medida con la alta carga de inóculo inicial (11 log UFC/g de producto), que con la presencia de compuestos prebióticos. Además, los probióticos presentaron efecto antagonista frente a *E. coli* O157:H7 y *L. innocua*. Por último, los cubos de manzana con *B. lactis* adicionado resultaron sensorialmente aceptables durante 8 días de almacenamiento a 5 °C.

Como conclusión, se comprobó la efectividad antimicrobiana de los recubrimientos funcionales sobre arándanos y cubos de manzana, logrando además mantener en gran medida las principales características de calidad de estas frutas mínimamente procesadas. Con resultados destacables, se desarrollaron alimentos funcionales probióticos en base a arándanos y manzana, representando una gran contribución en la búsqueda de sustitutos a las matrices lácteas comúnmente usadas, no aptas para un sector de la población que, por

diferentes motivos como alergias, intolerancias o estilos de vida, no consume de productos lácteos.