



ANEXO III: FORMULARIO DE PROYECTOS DE I+D

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO

1. Título del Proyecto de I+D.

CONSERVACIÓN DE "SOPAS FRÍAS" A BASE DE PRODUCTOS HORTÍCOLAS: APLICACIÓN DE ANTIMICROBIANOS NATURALES PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD E INOCUIDAD DEL PRODUCTO

2. Departamento/Instituto de radicación:

Instituto de Ingenierías y Nuevas Tecnologías

3. Línea de Investigación y Desarrollo de pertenencia:

(Marque con una cruz lo que corresponda)

Prioritaria	<input checked="" type="checkbox"/>	Complementaria	<input type="checkbox"/>
-------------	-------------------------------------	----------------	--------------------------

Denominación: Producción de alimentos con aplicación de nuevas tecnologías.

4. Tipo de Proyecto:

(Marque con una cruz lo que corresponda)

Acreditable	<input checked="" type="checkbox"/>	Reconocimiento institucional	<input type="checkbox"/>
-------------	-------------------------------------	------------------------------	--------------------------

5- Período de vigencia:

01/03/2023 al 31/12/2024

6. Justificación del Proyecto

(Máximo 1600 palabras. Desarrolle el objeto y problema del Proyecto así como el interés, la relevancia del Proyecto)

Las frutas y verduras (F&V) son una rica fuente de compuestos bioactivos, vitaminas, minerales y fibra, que desempeñan un papel importante en la salud. Se han encontrado evidencias significativas de su rol en la protección de la enfermedad cardiovascular y accidente cardiovascular, riesgo disminuido de cáncer de colon y recto, depresión y enfermedades pancreáticas (Angelino et al., 2019). Desde hace más de 20 años, y aún en la actualidad, las campañas de salud pública han puesto el foco en la importancia de su ingesta, fomentando el consumo diario de al menos cinco porciones de F&V (WHO, 2004). A su vez, el agitado ritmo de vida actual ha llevado a la búsqueda de alimentos prácticos, listos para el consumo que puedan ayudar en cumplir este requerimiento. En este sentido, **las sopas frías**, bebidas elaboradas con



mezclas de diversas hortalizas, incluyendo frutas y verduras, representan una manera simple y atractiva de cumplir las recomendaciones nutricionales y lograr los beneficios para la salud derivados de la combinación de los diversos compuestos bioactivos. El consumo de estos productos, muy típicos de la dieta mediterránea, se ha extendido y popularizado, especialmente en países con climas calurosos, por su característica de producto nutritivo y práctico, pero a su vez fresco, refrescante y apetitoso (Sánchez Moreno et al., 2006; Elez Martínez et al., 2006, Liu et al., 2014). Una tendencia global, que ciertamente ha llegado y se encuentra en auge en Argentina, es la comercialización de bebidas 100% naturales, a base de F&V, sin pasteurizar y sin conservantes, presentando este mercado un crecimiento continuo en los últimos años (Morales de la Peña et al., 2016; Nielsen, 2016). Con lo cual, si bien en Argentina no existe hoy en día una costumbre instalada de consumo de sopas frías, **las tendencias de mercado demuestran la presencia de un nicho para este tipo de producto y predice su crecimiento en los próximos años.**

El principal desafío en el desarrollo de productos a base de F&V es su corta vida útil, generalmente atribuida al deterioro microbiano y enzimático (Pandey & Negi, 2018; Snyder & Worobo, 2018). Si bien suelen ser productos altamente ácidos ($\text{pH} < 4,6$), algunos microorganismos (MO) pueden sobrevivir y crecer. Por otra parte, la presencia natural de enzimas, provoca la pérdida de compuestos fenólicos, induce el pardeamiento y la pérdida de turbidez, resultando en una menor calidad nutricional y sensorial (Chakraborty et al., 2014). Los microorganismos presentes en los alimentos, además de causar su deterioro, pueden representar un problema de salud muy importante para el consumidor. Las toxiinfecciones son enfermedades producidas por la ingesta de alimentos contaminados con microorganismos patógenos o sus toxinas y suelen ocupar los titulares de las alertas sanitarias. En los últimos años se ha observado un aumento en la incidencia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos asociados al consumo de bebidas de F&V (Pandey & Negi, 2018; Callejón et al., 2015; Jackson-Davis et al., 2018). Los factores etiológicos en la mayoría de los casos fueron MO patógenos tales como *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* (Pina-Pérez et al., 2014; Martínez-González & Castillo, 2016), especialmente recurrentes en bebidas "naturales" sin pasteurizar. **Por lo tanto, es importante desarrollar y evaluar estrategias de preservación que no solo permitan conservar el valor nutritivo y la calidad de las bebidas a base de F&V, como las sopas frías para estabilizar y prolongar su vida útil, sino que además sean adecuadas para garantizar su inocuidad.**

Actualmente el consumidor es cada vez más exigente, demandando alimentos de mejor calidad, similares a sus equivalentes frescos naturales, con buenas características nutricionales, sanos, seguros y libres de aditivos sintéticos. Es por ello que la industria alimentaria ha puesto el foco en el reemplazo de las técnicas de conservación tradicionales, principalmente las que implican la utilización de hipoclorito sódico, que ya ha sido prohibido en algunos países europeos como Alemania, Holanda o Bélgica (Meireles, A., et al, 2016), y las que implican la utilización de altas temperaturas. En el caso de los tratamientos térmicos se debe a que éstos han demostrado generar cambios químicos y físicos, que causan pérdidas en las características organolépticas de las bebidas a base de F&V y reducen el contenido o la biodisponibilidad de nutrientes y bioactivos, atentando contra sus atributos naturales y sus tan buscados beneficios (Barbosa-Cánovas & Bermúdez-Aguirre, 2010). Por estos motivos, existe una **clara necesidad** de que tanto las empresas como los investigadores participen activamente en el **desarrollo y aplicación de métodos de preservación y/o tecnologías de procesamiento avanzadas y rentables que permitan abordar estas problemáticas y dar respuesta a los nuevos**



requerimientos. Por estas razones, y muchas más, las nuevas tecnologías están llamadas a jugar un papel determinante en la alimentación del futuro.

Entre las diversas opciones de tratamiento, el uso de antimicrobianos naturales en reemplazo de los químicos sintéticos, resulta una opción práctica y rentable, por las bajas dosis utilizadas y por no requerir equipamiento adicional ni modificaciones en el proceso productivo. Asimismo, se han encontrado resultados prometedores de la aplicación de diversos antimicrobianos en bebidas a base de F&V tanto para el control de microorganismos patógenos como deteriorantes (Tomadoni et al., 2015; Ephrem et al., 2018; Nieva et al., 2022). Sumado a esto, algunos antimicrobianos naturales, tales como los aceites esenciales derivados de plantas o especias, pueden influir positivamente en las propiedades sensoriales y nutricionales de los alimentos procesados. Además, al ser productos derivados de plantas o especias tienen una gran aceptación por parte de los consumidores, aportando un valor añadido al producto.

Por lo anteriormente expuesto, **el presente Proyecto propone el desarrollo de un producto fresco, natural, que resulte atractivo para el consumidor**, con el fin de estimular e incrementar el consumo de frutas y vegetales (F&V). **Para atender un nuevo nicho de mercado, se proyecta el formato de sopa fría**, cuyos ingredientes principales podrán ser algunos vegetales como pepino, ajo, cebolla, acelga, etc. y/o frutas tales como tomate, palta, etc. A diferencia de las sopas que actualmente se ofrecen en los mercados locales, el producto desarrollado se consumirá en frío, será rico en nutrientes, estará listo para el consumo, sin necesidad de hidratar o calentar. La adecuada formulación de la sopa fría, cuidando las proporciones y los aportes de cada ingrediente, será fundamental para la obtención de un producto que cumpla con las estrictas demandas de los consumidores actuales que buscan productos de alta calidad, aromas y sabores naturales y agradables, además de sanos y nutritivos (Elez-Martínez & Martín-Belloso, 2007). **Para conservar la calidad microbiológica, nutricional y sensorial del producto desarrollado, se utilizarán antimicrobianos naturales** tales como la natamicina, la nisina, especias (romero, laurel, orégano, etc) o sus aceites esenciales. **Su correcta selección y combinación permitirá tanto asegurar la inocuidad del producto desarrollado como preservar su calidad, bioactividad de sus nutrientes y sus características sensoriales** (Gironés-Vilaplana & García-Viguera, 2014), **asegurando una vida útil comercialmente competente.**

7. Estado actual del conocimiento sobre el tema.

(Máximo 2500 palabras. Desarrolle brevemente el marco teórico, los antecedentes y autores más relevantes que hayan tratado la problemática del Proyecto)

En los últimos años, los consumidores han tomado conciencia del impacto que los alimentos que consumen tienen en su salud, aumentando notablemente la demanda de productos saludables, nutritivos y libres de aditivos químicos (Bevilacqua et al., 2018). En este contexto, el desarrollo de alimentos a base de frutas y verduras (F&V), ricas en compuestos bioactivos, vitaminas, minerales y fibra, tomaron gran relevancia dado su reconocido rol en la prevención de enfermedades, como la enfermedad coronaria, hipertensión, accidente cerebrovascular, algunos cánceres y diabetes (Mytton, Nnoaham, Eyles, Scarborough, & Mhurchu, 2014), entre otros efectos beneficiosos para la salud. Las campañas de salud pública recomiendan el consumo diario de al menos cinco porciones de F&V. Sin embargo, más allá de las numerosas campañas y el aumento en la concientización de la población, en muchos países este



consumo se mantiene por debajo de los niveles recomendados (Mytton et al., 2014), siendo en Argentina de solo un 50% (CESNI, 2016). Por lo tanto, **el desarrollo de estrategias para aumentar el consumo de F&V es un enfoque clave para mejorar la salud de la población** (Bevilacqua et al., 2018).

El agitado ritmo de vida actual, ha llevado a que la conveniencia o practicidad represente uno de los factores más determinantes en la elección de alimentos por parte de los consumidores, junto con el precio, las preocupaciones relacionadas con la salud y el atractivo sensorial (Bertolini et al., 2012). Es por ello que la industria alimentaria ha puesto el foco en los últimos años en aumentar la variedad de productos vegetales que satisfagan la necesidad del consumidor de alimentos prácticos y convenientes, pero que a la vez conserven su valor nutricional y sus características de producto fresco y natural (Allende et al., 2006). En este sentido, las bebidas elaboradas a base de F&V cumplen con todos los requerimientos previamente mencionados (Bevilacqua et al., 2018), resultando muy atractivas para los consumidores por su color, apariencia, sabor y el hecho de que están listas para beber, constituyendo por lo tanto una excelente estrategia para aumentar el consumo de F&V. Una tendencia global, que ciertamente ha llegado y se encuentra en auge en Argentina, es la comercialización de bebidas 100% naturales, a base de F&V, sin pasteurizar y sin conservantes, presentando este mercado un crecimiento continuo en los últimos años (Morales de la Peña et al., 2016; Nielsen, 2016). A su vez, las bebidas mixtas de frutas y vegetales están ganando mercado al combinar las cualidades nutricionales de estos productos, anticipándose que este segmento obtendrá la tasa de crecimiento más alta durante el período 2020-2025 (Grand View Research, 2018). Dentro de este mercado se encuentran **las sopas frías**, bebidas elaboradas con **mezclas de diversas hortalizas**, incluyendo frutas y verduras. Estos son productos típicos de la dieta mediterránea, pero su consumo se ha extendido y popularizado, especialmente en países con climas cálidos, por su característica de producto nutritivo y práctico, pero a su vez fresco, refrescante y apetitoso (Sánchez Moreno et al., 2006; Elez Martínez et al., 2006, Liu et al., 2014). Si bien en Argentina no existe hoy en día una costumbre instalada de consumo de sopas frías, las tendencias de mercado demuestran la presencia de un nicho para este tipo de producto, los consumidores actuales de jugos y batidos vegetales, y predicen su crecimiento en los próximos años (Morales-de la Peña, Welti-chanes, & Martín-belloso, 2016; Nielsen, 2016). **El desarrollo de una sopa fría a base de diversos productos hortícolas no solo representa una excelente estrategia para aumentar el consumo de F&V, sino que también permitirá dar respuesta a la demanda creciente de un incipiente nicho de mercado a nivel local.**

El principal desafío en el desarrollo de productos a base de F&V es su corta vida útil (5-7 días), que limita su comercialización y con ello la proyección de venta masiva (Snyder et al. 2018, Pandey et al. 2018), siendo una de las principales causas del deterioro microbiano y enzimático (Buzrul, Alpas, Largeteau, & Demazeau, 2008). Aunque suelen ser productos altamente ácidos ($\text{pH} < 4,6$), condición que inhibe el crecimiento de la mayoría de las células vegetativas y esporas bacterianas, algunos microorganismos ácido-tolerantes, como mohos y levaduras, bacterias ácido-lácticas (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* and *Streptococcus*), *Alicyclobacillus acideoterrestres*, *Listeria monocytogenes*, algunas especies de *Salmonella* y algunas cepas de *Escherichia coli*, pueden sobrevivir y crecer (Gram et al., 2002). Por otra parte, la presencia natural de enzimas, como la peroxidasa (POD), polifenoloxidasas (PPO) y pectinmetiltransferasa (PME), entre otras, al ser descompartmentalizadas respecto de sus sustratos durante el procesamiento, provoca la pérdida de compuestos fenólicos, induce el pardeamiento y la pérdida de turbidez, resultando en



una menor calidad nutricional y sensorial (Chakraborty et al., 2014). Paralelamente, en los últimos años se ha observado un aumento en la incidencia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos asociados al consumo de bebidas de F&V (Callejón et al., 2015). Los factores etiológicos en la mayoría de los casos fueron MO patógenos tales como *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* (Vojdani, Beuchat, & Tauxe, 2008), especialmente recurrentes en productos "naturales" sin pasteurizar. Por lo tanto, **es importante desarrollar y evaluar estrategias de preservación que no solo permitan conservar el valor nutritivo y la calidad de las bebidas de F&V, estabilizar y prolongar su vida útil, sino que además sean adecuadas para garantizar su inocuidad.**

Existen diversos trabajos de investigación que abordan el desafío de conservar y asegurar la inocuidad de bebidas a base de F&V, aplicando para ello diferentes métodos de preservación. Entre ellos, **los métodos físicos** de conservación no hacen más que crear unas condiciones que no son las adecuadas para el desarrollo de los microorganismos causantes de la alteración de los alimentos, siendo el más utilizado para la preservación de bebidas de F&V la pasteurización térmica, que no solo destruye microorganismos sino que también es efectivo en la inhibición de las enzimas responsables del deterioro de los alimentos, como aquellas causantes del pardeamiento oxidativo tras entrar en contacto con el oxígeno del aire, tan evidente en algunas frutas y hortalizas como manzanas, alcachofas o berenjenas. Sin embargo, los tratamientos térmicos han demostrado generar cambios químicos y físicos, que causan pérdidas en las características organolépticas de las bebidas a base de F&V y reducen el contenido o la biodisponibilidad de nutrientes y bioactivos, atentando contra sus atributos naturales y sus tan buscados beneficios (Barbosa-Cánovas & Bermúdez-Aguirre, 2010; Bevilacqua et al., 2018; Morales-de la Peña et al., 2016). Algunos de los métodos físicos más innovadores utilizados en la industria de las bebidas a base de frutas y hortalizas, que a su vez se caracterizan por ser tecnologías no-térmicas evitando así los inconvenientes previamente mencionados, incluyen la utilización de luz ultravioleta (Gouma et al., 2020; Tremarin et al., 2017), altas presiones hidrostáticas (Quiroz-González et al., 2018; Zhao et al., 2020), ultrasonido (Cao et al., 2018; Dolas et al., 2019; Tomadoni et al., 2019) o radiación gamma (Kim et al., 2017; Mishra et al., 2011), entre otros.

Existen también **tratamientos de preservación químicos** como el uso del cloro, que ha sido y aún continúa siendo ampliamente utilizado para la desinfección de frutas y hortalizas. Sus principales ventajas son su reducido costo y eficacia a la hora de eliminar microorganismos. Sin embargo, el uso de cloro como desinfectante y su desecho en los efluentes de la industria ha sido asociado a un impacto negativo sobre el medioambiente. Por otro lado, desde hace tiempo se ha señalado el riesgo de acumulación de trihalometanos en el agua por combinación de materia orgánica y derivados halogenados como el cloro, conllevando riesgos para el medioambiente y el ser humano (Tomás Lafarga & Gloria Bobo, 2018).

Por otro lado, conservantes químicos como el benzoato de sodio, el metabisulfito de potasio y el sorbato de potasio se han utilizado tradicionalmente para prolongar la vida útil de las bebidas a base de F&V. Sin embargo, ha habido una enorme controversia sobre los riesgos y beneficios de estos conservantes, ya que algunos de ellos se han relacionado con problemas digestivos, cáncer, afecciones neurológicas, déficit de atención trastorno de hiperactividad, enfermedad cardíaca u obesidad, entre otros (Pandey & Negi, 2018). Debido a la creciente confirmación de las propiedades peligrosas de los conservantes sintéticos, existe una presión constante por parte de



los consumidores para disminuir la cantidad, o directamente eliminar estos productos químicos en los alimentos (Boukhatem et al., 2020).

Como se comentó previamente, actualmente el consumidor es cada vez más exigente, demandando alimentos de mejor calidad, similares a sus equivalentes frescos naturales, con buenas características nutricionales, sanos, seguros, libres de aditivos químicos sintéticos y más amigables con el medioambiente. Es por ello que la industria alimentaria se dirige a reemplazar las técnicas de conservación tradicionales con métodos de preservación y/o tecnologías de procesamiento avanzadas, rentables que permitan abordar estas problemáticas y dar respuesta a los nuevos requerimientos.

Una alternativa con gran potencial para la preservación y seguridad de las sopas frías es el uso de **antimicrobianos naturales** en reemplazo de los químicos sintéticos, siendo una opción práctica y accesible, por las bajas dosis utilizadas y por no requerir equipamiento adicional ni modificaciones en el proceso productivo. Entre éstos, la **nisina**, bacteriocina producida por *Lactococcus lactis*, puede permeabilizar la membrana de los microorganismos ya que se une electrostáticamente a la carga negativa de los fosfolípidos de la membrana celular bacteriana aumentando su permeabilidad por formación de poros, resultando en un flujo de pequeñas moléculas intracelulares. Adicionalmente interfiere con la biosíntesis de la pared celular (Delves-Broughton & Weber, 2011). Ha mostrado ser muy efectiva en la inactivación de un amplio rango de bacterias Gram positivas y esporas resistentes a las altas temperaturas. En 1988, fue aprobada como aditivo alimentario por la FDA, y aceptada como un compuesto GRAS (Generally recognized as safe) (FDA, 1988). La **natamicina** (piramicina), es un antifúngico producido por *Streptomyces natalensis*, aceptado como conservante natural por la Unión Europea (EEC N° 235). Es efectiva contra hongos y levaduras y utilizada en una variedad de productos como jugos frutales y quesos (Koontz, Marcy, Barbeau, & Duncan, 2003). Los **ácidos orgánicos**, tales como acético, cítrico, succínico, málico, tartárico, entre otros, presentes de forma natural en frutas y verduras o sintetizados por microorganismos como resultado de la fermentación (Pandey & Negi, 2018) presentan actividad antimicrobiana, que se atribuye a la reducción del pH, la depresión del pH interno de las células microbianas mediante la ionización de moléculas de ácido no disociadas y la interrupción del transporte de sustrato por alteración de la permeabilidad de la membrana celular o la reducción de la fuerza motriz del protón (Eswaranandam et al., 2004). Por otro lado, Los **aceites esenciales** de plantas aromáticas han sido objeto de una amplia investigación no sólo por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes, sino también porque han mostrado interesantes beneficios para la salud como propiedades antitumorales, analgésicas, insecticidas, antidiabéticas y antiinflamatorias (Ribeiro et al., 2017; Irkin et al., 2015). De todos los aceites esenciales más estudiados hasta el momento, tales como los aceites esenciales de tomillo, orégano, menta, canela, salvia y clavo son los que han demostrado mayor poder antimicrobiano. Algunos de los componentes a los cuales se les ha atribuido su acción antimicrobiana son el carvacrol, eugenol, timol, cimeno, terpineno y aldehído cinámico, entre otros (Tomás Lafarga & Gloria Bobo, 2018). Con respecto a su actividad antimicrobiana, una gran cantidad de artículos de investigación han revelado que los aceites esenciales y sus compuestos bioactivos exhiben fuertes efectos contra bacterias patógenas (*Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*), mohos (*Aspergillus flavus*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*) y micotoxinas (aflatoxinas, fumonisinas, patulina) (Tserennadmid et al., 2011; Prakash et al., 2016). Asimismo, es interesante mencionar que algunos trabajos hacen referencia a su actividad



antipardeamiento, asociada a la inhibición de algunas enzimas de deterioro (Chen et al., 2017; Xu et al., 2020).

Finalmente, es bien sabido que la aplicación de tratamientos combinados de preservación (tecnología de barreras) constituye un excelente enfoque para mejorar la calidad general de los productos (Khan, Tango, Miskeen, Lee, & Oh, 2017) y, muchas veces, reducir los costos del tratamiento, ya que se requieren menores concentraciones que cuando los tratamientos se aplican de manera individual. En este sentido, el uso de antimicrobianos combinados se ha aplicado en numerosos productos con resultados prometedores (Nieva S.G., Fernández MV, Jagus RJ, Agüero MV. 2022. ;Al-rousan et al., 2018; Campion et al., 2017; Fernández, Agüero, & Jagus, 2018; Fernández, Jagus, & Mugliaroli, 2014), incluyendo algunos jugos de F&V (Tomadoni et al., 2015; Ephrem et al., 2018; Nieva et al., 2022). Dado que **las bebidas mixtas de F&V, con matrices más complejas como es el caso de las sopas propuestas como sistema de estudio en este Proyecto, han tomado fuerza en el mercado muy recientemente**, como parte de la tendencia hacia hábitos alimenticios saludables, **el estudio de la aplicación de antimicrobianos naturales y su combinación para lograr su preservación constituye un área de vacancia.**

8. Objetivos general y específicos

Objetivo general

Estudiar y desarrollar, en sus aspectos básicos y aplicados, procesos que permitan obtener alimentos más nutritivos, naturales y seguros, mediante la aplicación de métodos de preservación que maximicen la seguridad y minimicen el deterioro de la calidad nutritiva y sensorial.

Objetivos específicos de trabajo

1. Desarrollar una bebida del tipo "sopa fría" a base de frutas y verduras, fresca, natural, nutritiva, para cubrir necesidades del mercado local y regional.
2. Optimizar el proceso de conservación del producto desarrollado a través del uso de antimicrobianos naturales (nisina, natamicina, ácidos orgánicos, aceites esenciales) aplicados de manera individual o combinados, con el objetivo de maximizar su vida útil.
3. Determinar la efectividad de los tratamientos para asegurar la **inocuidad** de las sopas frías a base de productos hortícolas frente a contaminaciones con microorganismos de interés en este tipo de productos
4. Determinar el efecto de los tratamientos sobre la **calidad nutricional, fisicoquímica y sensorial** de las sopas frías a base de productos hortícolas durante su almacenamiento.

9. Hipótesis de la Investigación

(Máximo 500 palabras)

Hipótesis 1: A través de estudios de mercado, el diseño de una formulación adecuada se logrará desarrollar un producto que cubra las necesidades y resulte atractivo para el consumidor actual.



Hipótesis 2: Una combinación adecuada de antimicrobianos naturales, permitirá la acción integral sobre los principales microorganismos de deterioro del producto, obteniéndose efectos aditivos o sinérgicos, que permitirán optimizar su uso para la conservación de las sopas frías y la obtención de una vida útil adecuada.

Hipótesis 3: La combinación adecuada de antimicrobianos naturales resultará efectiva para el control de contaminaciones con microorganismos patógenos.

Hipótesis 4: Dadas las características de los antimicrobianos naturales a utilizar, se esperan obtener mejoras significativas en la calidad nutricional de los productos, generándose incluso un enriquecimiento del mismo. Los impactos en la calidad fisicoquímica y sensorial de las sopas frías serán determinantes para la selección del tratamiento más adecuado.

10. Metodología a utilizar.

(Máximo 1600 palabras)

1- Selección y diseño del producto

La adecuada formulación de la sopa fría, cuidando las proporciones y los aportes de cada ingrediente, será fundamental para la obtención de un producto que cumpla con las estrictas demandas de los consumidores actuales que buscan alta calidad, aromas y sabores naturales y agradables, además de sanos y nutritivos.

1.1. Análisis de mercado: Se identificarán posibles nichos de consumidores y tendencias en el mercado local y regional para definir algunas características del producto a desarrollar. Se utilizarán herramientas ya implementadas por investigadores de este Proyecto (Fernandez et al., 2017) como encuestas online y en ferias de consumidores, y análisis de información económica asociada a estos productos a nivel nacional e internacional. En esta etapa también se realizará la preselección de materias primas a ser consideradas para el desarrollo de la formulación. Para ello se tendrán en cuenta la disponibilidad de las mismas (espacial y estacional) y su aporte nutricional a partir de información de mercado y de fuentes de información nutricional de materias primas como la National Nutrient Database for Standard Reference (USDA).

1.2. Desarrollo de la formulación a utilizar: Se probarán distintas formulaciones utilizando las materias primas seleccionadas, adquiridas en comercios locales. Se considerarán los aportes nutricionales y características sensoriales según lo detallado en 4.3. La selección final se realizará con panel de consumidores compuesto por el nicho seleccionado.

1.3. Diseño y optimización del proceso de elaboración: Se desarrollarán protocolos de proceso, se seleccionarán equipos y métodos de desinfección adecuados, tomando como base la experiencia previa del grupo de investigación (Fernandez, Denoya, Agüero, Jagus, & Vaudagna 2018). Se determinarán los procesos de preparación de cada una de las materias primas (pelado, corte, reducción de tamaño, etc., según corresponda) y de integración de las mismas en el producto a elaborar (mezclado, homogenización, etc.).

2- Aplicación de antimicrobianos naturales para prolongar la vida útil microbiológica de las sopas frías

Como se comentó previamente, la corta vida útil de este producto se asocia al rápido desarrollo de microorganismos de deterioro, naturalmente presentes en el mismo. Se realizarán estudios preliminares para determinar las concentraciones mínimas y máximas de cada antimicrobiano a utilizar, teniendo en cuenta su efecto frente a la



microflora nativa del producto y los posibles impactos a nivel sensorial. Adicionalmente se considerarán las limitaciones impuestas por la legislación nacional e internacional.

2.1. Materia Prima: Se trabajará con vegetales y hortalizas adquiridas en comercios o mercados locales.

2.2. Preparación de las soluciones de antimicrobianos naturales: Se utilizarán antimicrobianos naturales comerciales: nisina (Nisin®, DSM), natamicina (Delvolid® Salt, DSM), ácidos orgánicos (Anedra, Research Ag., Argentina) y aceites esenciales (Nelson & Russell, England). Inmediatamente antes de su uso, se prepararán soluciones concentradas de los antimicrobianos que se dosificarán según la concentración deseada en el producto. Se evaluarán diferentes concentraciones respetando los límites máximos permitidos por el Código Alimentario Argentino (CAA) y considerando su posible impacto a nivel sensorial.

2.3. Preparación de las muestras y envasado: Una vez en el laboratorio, la materia prima (MP) será seleccionada, descartándose vegetales, raíces y hojas defectuosas. Se aplicarán los protocolos de desinfección y procesamiento optimizados en la etapa anterior (1.3). Para el envasado de las sopas se utilizarán frascos (33mL) de polietilentereftalato. Antes del cierre de cada envase, se aplicarán los antimicrobianos en las dosis correspondientes y se agitarán enérgicamente los frascos para asegurar su disolución. En las muestras control (sin tratar) se dosificarán cantidades similares de agua estéril.

2.4. Almacenamiento y muestreo: Las muestras serán almacenadas en refrigeración ($5\pm 1^\circ\text{C}$) y periódicamente (0,3,7,14,21,28 días) se tomarán triplicados de cada tratamiento para su análisis.

2.5. Determinación de calidad microbiológica y vida útil: Se determinará el recuento en placa de bacterias aerobias mesófilas (BAM), enterobacterias (EB) y mohos y levaduras (M&L). Se utilizarán como medios de cultivo: PCA (agar para recuento en placa) a 37°C , 24-48 h para BAM, Mac Conkey a 37°C , 24-48 h para EB e YGC (agar glucosa con extracto de levadura y cloranfenicol) a 28°C , 48-72 h para M&L. Los resultados se expresarán por gramo de batido (log UFC/g). Se tomará como criterio de corte de la vida útil, el recuento de 6 log UFC/g de BAM y/o de M&L, recomendado en bibliografía para este tipo de producto (Varela-Santos et al., 2012).

2.6. Análisis de resultados: Los resultados serán analizados utilizando el software estadístico Origin®8 (OriginLab®, USA). Se realizarán análisis de varianza (ANOVA) de dos vías (factores TRATAMIENTO y TIEMPO). Las diferencias se determinarán mediante test de Tukey ($p < 0,05$).

3-Evaluación de la efectividad de los tratamientos frente a *Listeria innocua* y *Escherichia coli*.

Debido al aumento en la incidencia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos asociados al consumo de bebidas a base de F&V, es necesaria la búsqueda de métodos de preservación que no solo logren prolongar la vida útil de los productos alimenticios, sino que a su vez garanticen la eliminación de posibles contaminaciones con microorganismos patógenos. Para cumplir con el tercer objetivo, se estudiará el efecto del tratamiento en la inactivación y supervivencia de microorganismos contaminantes para determinar su potencial frente a una contaminación.

3.1. Protocolo de cultivo: Se utilizarán cepas de *Listeria innocua* (ATTC 33090) y de *Escherichia coli* (ATCC 8739), subrogantes de las cepas patogénicas. Las cepas se cultivarán en caldo triptona de soja enriquecido con extracto de levadura con agitación continua. Una alícuota de un precultivo de 16-18 horas de incubación a 28°C se transferirá a un caldo fresco de TSYE. Se trabajará con cultivo mixto, para lo cual cada



uno de los microorganismos será cultivado en su correspondiente caldo hasta alcanzar la densidad de población deseada. Luego, 30 mL de cada caldo se centrifugará a 10000 rpm y cada pelet será resuspendido en caldo TSYE. Finalmente, las suspensiones se mezclarán para obtener el caldo mixto.

3.2. Preparación de las muestras: Se realizará de acuerdo a lo detallado en 2.3, con la diferencia de que previo a la incorporación de los antimicrobianos naturales se realizará la inoculación con el cultivo mixto simulando una contaminación durante el proceso. Luego se realizará el tratamiento con antimicrobianos, según lo detallado en 2.3, se cerrarán y agitarán enérgicamente los frascos. Es de destacar que los tratamientos utilizados en este ensayo, serán aquellos seleccionados a partir de los resultados del ensayo de vida útil.

3.3. Almacenamiento y muestreo: Las muestras serán almacenadas en refrigeración ($5\pm 1^\circ\text{C}$) y periódicamente (0,3,7,14,21,28 días) se tomarán triplicados de cada tratamiento para su análisis.

3.4. Estudios de inactivación y supervivencia de la flora inoculada: *Listeria* se determinará por recuento en placa de UFC/g en agar Oxford, a 37°C , 24-48h y *E. coli* en agar Mac Conkey adicionado con suplemento 4- metilumbeliferil-beta-D-glucuronido "MUG", a 37°C , 24 hs.

3.5. Análisis de resultados: Los resultados serán analizados de manera similar a lo detallado en 2.6.

4- Efecto de los tratamientos optimizados sobre la calidad fisicoquímica, nutricional y sensorial de las sopas frías de F&V

Dadas las características del producto y el nicho de consumidores al que está orientado, deberán priorizarse aquellos tratamientos que no solo sean efectivos para prolongar la vida útil y asegurar la inocuidad del producto, sino que, a su vez, logren mantener las características del producto fresco. Se buscará mantener o mejorar su calidad nutricional y su estabilidad durante el almacenamiento. Asimismo, la aceptabilidad de los consumidores será determinante para la selección del tratamiento.

4.1. Preparación de las muestras: Se realizará de acuerdo a lo detallado en 2.3. Los tratamientos utilizados en este ensayo, serán aquellos seleccionados a partir de los resultados de los estudios previos.

4.2. Evaluación del efecto de los tratamientos sobre indicadores de calidad: Se realizarán muestreos de las sopas frías tratadas y sin tratar (control) periódicamente (0,3,7,14,21,28 días) durante el almacenamiento con el objetivo de determinar la evolución de los indicadores:

Indicadores fisicoquímicos: Los sólidos totales se determinarán con refractómetro Milwaukee MA871 (Milwaukee Instrument, Rocky Mount, USA) y los resultados se expresarán como °Brix, el pH se medirá con medidor de pH (Hanna, HI99163, Rumania, con electrodo FC232D, Italia). Las mediciones se realizarán a temperatura ambiente, por triplicado y se informará un promedio de ellas. La actividad enzimática de polifenoloxidas y peroxidasa se determinará según la metodología de Augustin et al.(1985).

Calidad nutricional: Se realizará la extracción de antioxidantes y la cuantificación de la capacidad antioxidante se determinará con las metodologías DPPH y FRAP, los polifenoles totales se cuantificarán por la metodología de Folin-Ciocalteu. En todos los casos se utilizarán adaptaciones de las metodologías propuestas por Fernandez, Denoya, Agüero, Jagus, & Vaudagna (2018).

Calidad sensorial: Será determinada mediante la medición del color utilizando un colorímetro (Minolta CM-508d, Japón), según la metodología descrita por Agüero et al. (2010). Adicionalmente se realizarán ensayos con panel sensorial donde se



evaluarán los atributos sensoriales más representativos del producto por medio de escalas de intensidad no estructuradas.

4.3. Ensayos de aceptabilidad sensorial con consumidores: Una vez seleccionado el o los tratamientos más prometedores, se realizarán pruebas con consumidores para evaluar su aceptabilidad, según la metodología propuesta por Parra, Galmarini, Chirife, & Zamora (2015). Esta metodología permite asimismo evaluar la influencia de la información, las actitudes según género y el impacto del producto en el estado emocional del consumidor.

4.4. Análisis de resultados: Los resultados serán analizados de manera similar a lo detallado en 2.6.

11. Resultados Esperados

(Máximo 800 palabras)

En base a los estudios previos realizados y al análisis de referencias bibliográficas, se espera obtener los siguientes resultados:

1. Desarrollar un nuevo producto, que cubra las necesidades de los consumidores de alimentos nutritivos, naturales, prácticos, seguros y de excelente calidad.
2. Proporcionar una alternativa práctica y atractiva para hacer un aporte en los esfuerzos por aumentar el consumo de F&V de la población.
3. Aprovechar la existencia de un nicho sin explotar en el mercado local, ofreciendo un producto nutritivo, saludable y comercialmente rentable.
4. En base a la aplicación de antimicrobianos naturales, ya sea de manera individual o combinados entre sí, se busca obtener una acción integral sobre los principales microorganismos de deterioro del producto, con efectos aditivos o sinérgicos, dando como resultado la conservación de las sopas frías y la obtención de una vida útil comercialmente competente.
5. Obtener el control de microorganismos patógenos mediante la combinación de antimicrobianos naturales, permitiendo asegurar la inocuidad del producto aún ante posibles contaminaciones durante el proceso.
6. Los tratamientos seleccionados permitirán obtener mejoras significativas en la calidad nutricional de los productos, pudiendo generarse incluso un enriquecimiento del mismo, logrando a su vez mantener las características organolépticas de producto fresco durante su almacenamiento en refrigeración.

12. Antecedentes y funciones previstas del Grupo de Investigación en el área temática/disciplina

(Máximo 500 palabras)

El grupo de investigación de la Universidad Nacional del Oeste (UNO) se encuentra en formación. Su vinculación con los investigadores integrantes de la Universidad de Buenos Aires (UBA), data de años atrás, gracias a que fueron parte de la formación académica de la Directora que es Ing. química, próxima a recibirse de Ing. en Alimentos, directora de este proyecto de investigación, actualmente profesora de la UNO (Jefa de Trabajos Prácticos de Biotecnología) e investigadora de la misma casa de Estudios. La Directora, asimismo, participa del proyecto de extensión "Monitoreo de la calidad del agua en establecimientos educativos y comedores comunitarios del Partido de Merlo", financiado por Universidad de Nacional del Oeste (Res418/2021) cumpliendo el rol de responsable de las actividades de laboratorio.



La Co-directora del proyecto es Dra. Ing. en Alimentos, especialista en preservación de alimentos graduada de la UBA, investigadora asistente CONICET, categoría V del programa de incentivos a los docentes.

El rol de la directora y la Co-directora será dar las directrices del proyecto, proponer mejoras, evaluar los resultados, llevar a cabo los ensayos pertinentes. La elaboración de los informes de avance estará a cargo de la directora del proyecto con colaboración del codirector. Se buscará dos becarios para que puedan colaborar en la realización de los ensayos, búsqueda de material bibliográfico, colaboración en la redacción de informes, congresos, etc., análisis de resultados bajo la supervisión de la Directora y Co-directora.

El grupo de investigación se completa con la participación de dos doctoras investigadoras externas, con amplia experiencia en investigación en preservación de alimentos. Una de ellas profesora titular, categoría I del programa de incentivos a los docentes y la restante es investigadora independiente CONICET, profesora adjunta categoría III del programa de incentivos a los docentes.

13. Transferencia de Resultados.

(Máximo 800 palabras. Detalle el objeto de la transferencia, su importancia, los destinatarios concretos o posibles y los procedimientos para concretarla)

Se espera realizar la difusión de los resultados obtenidos a través de Congresos nacionales e internacionales y publicaciones en revistas internacionales de alto impacto.

A su vez, y con el objetivo de aumentar las posibilidades de transferencia de los procesos desarrollados hacia los sectores productivos, se podrán realizar difusiones a través de revistas nacionales y zonales de horticultura como "Horticultura Argentina", "Informe Frutihortícola", entre otras.

El desarrollo propuesto en el presente proyecto, tiene altas probabilidades de ser transferido al sector productivo, pudiendo ser un aporte significativo fundamentalmente para **las pequeñas y medianas empresas** que elaboran hoy en día bebidas 100% naturales sin ningún tipo de tratamiento ni conservante, expandiendo sus mercados y favoreciendo el desarrollo de nuevos procesos y productos.

14. Viabilidad y Factibilidad Técnica

(Máximo 500 palabras)

Los ensayos microbiológicos y sensoriales requeridos para llevar adelante el Proyecto se llevarán a cabo en los laboratorios de la Universidad Nacional del Oeste (sede Córdoba), mientras que los ensayos nutricionales y los fisicoquímicos en los laboratorios de los investigadores externos. Ambos laboratorios cuentan con la infraestructura necesaria para desarrollar las actividades propuestas.

Los laboratorios de investigación externos a LA UNO cuentan con 200 m² de espacios organizados. Entre el equipamiento existente más relevante para las actividades que se llevarán adelante como parte de este proyecto se encuentra equipado con 2 Cámaras para almacenamiento de muestras con controlador de temperatura (2-40°C); 3 Heladeras, 2 Baños con agitación (Vicking / Huber, Argentina); Centrífugas de mesa (Z160M, Hermle, Alemania); Centrífuga refrigerada 5804 R (Eppendorf, Alemania); Medidores de pH (3-Star, Thermo Orion y HI99163 HANNA); Espectrofotómetro (Shimadzu® UV-1800, Japón), Espectrofotómetro de microplacas (Thermo Scientific, Multiskan GO, USA), Colorímetro (Minolta CM-508d, Japón), Refractómetro Milwaukee



MA871 (Milwaukee Instrument, Rocky Mount, USA), Balanzas analíticas y granataria; entre otros.

El Laboratorio de Microbiología, cuenta con 100 m² de espacios organizados, localizados en la Escuela de Ingeniería de la UNO, Córdoba 1055 . Entre el equipamiento existente más relevante para las actividades que se llevarán adelante como parte de este proyecto se encuentra equipado con 1 Cámaras para almacenamiento de muestras con controlador de temperatura (2-40°C); 2 Estufas de incubación; 1 Heladeras, 1 Baños termostatizados (PEET LAB, modelo HWS-26, Argentina.); Agitadores magnéticos con calefacción (THORBELL, Argentina) ; Medidores de pH (THERMO ORION, serie 200 modelo A2116, USA.); Autoclave portátil eléctrico de 24 lts (ARCANO, modelo YX-24HDD). Espectrofotómetro (HACH, modelo DR3900.), Micropipetas, Balanzas analíticas y granataria; entre otros.

Por último, los recursos faltantes, necesarios para llevar a cabo las tareas propuestas, se presentan en el pedido de presupuesto correspondiente a este proyecto.

15. Aspectos Éticos.

(Si corresponde máximo 500 palabras)

Este proyecto no va en detrimento de la ética ni constituye un riesgo para el medio ambiente. Se utilizarán materiales y técnicas inocuas de aplicación en la industria de alimentos.

El compromiso de crear un producto alternativo para consumir vegetales y frutas en forma de sopas frías, inocuo y que conservan la calidad nutricional de los ingredientes de origen vegetal, con el fin de promover el consumo de vegetales y enriquecer la dieta día en vitaminas, polifenoles, antioxidantes, etc que tienen un impacto positivo en la salud de sociedad. El uso de antimicrobianos naturales amigables con el medio ambiente que preservan la calidad nutricional y sus propiedades organolépticas hacen que además tenga una mejor aceptación en los consumidores, ya que hoy en día la sociedad está más consciente del impacto ambiental que genera la actividad antropogénica. La idea es fomentar un cambio en el consumo e incrementar la ingesta de vegetales de una manera más atractiva para los consumidores dado que a simple vista no se ve el vegetal entero sino que está procesado en forma de batido, que combina diferentes sabores y propiedades nutritivas. Proporcionar alternativas de productos, que satisfagan las necesidades nutricionales de los consumidores, es esencial para mejorar diseños de productos, packaging, etc y ayudar a redireccionar las políticas públicas, planificar campañas educativas y orientar la producción y disponibilidad de alimentos sanos naturales y de bajo impacto en el ambiente.

16. Aspectos de Seguridad Laboral, Ambiental y Bioseguridad requeridos

(Si corresponde máximo 500 palabras)

Todos los laboratorios mencionados, donde se desarrollarán las actividades de investigación, cuentan con los elementos de protección y seguridad requeridos para las buenas prácticas de investigación. En relación a las actividades realizadas fuera del establecimiento educativo se ajustarán a las normativas vigentes, a las disposiciones de la ART y a los seguros que sean requeridos para su ejecución.

Respecto a la disposición de residuos se aplica lo descrito en la normativa correspondiente a la Provincia de Buenos Aires referente al manejo de residuos especiales.



2^{do} Año

Actividad	Mes											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1- Procedimiento de compras	x	x										
2- Optimización de combinación de tratamientos	x	x	x	x								
3- Efectividad de los tratamientos frente a microorganismos de interés					x	x	x					
4- Evaluación de la calidad nutricional, sensorial y estabilidad durante el almacenamiento refrigerado							x	x	x			
5- Ensayos de aceptabilidad sensorial con consumidores									x	x		
6- Evaluación final de resultados. Presentación de informe final											x	x

19. Presupuesto

Presupuesto del Primer año de ejecución

	Rubro	Descripción	Monto
1	Bienes de consumo	*Material de laboratorio (vidrio, cajas de Petri, etc) *Medios de cultivos Materia prima	245.000 400.000 15.000
2	Servicios no personales		
3	Servicios técnicos y profesionales		
4	Servicios comerciales y financieros		
5	Pasajes y viáticos	Inscripción a congresos	20.000
6	Bienes de uso		
7	Equipamiento	Ultraprocesadora de alta velocidad	20.000
Total 1º Año			\$700.000

* Precio sujeto al dólar

Presupuesto del Segundo año de ejecución

	Rubro	Descripción	Monto
1	Bienes de consumo	Materia prima	15.000
2	Servicios no personales		
3	Servicios técnicos y profesionales	Servicios a terceros	50.000
4	Servicios comerciales y financieros		
5	Pasajes y viáticos	Viáticos y Pasajes Inscripción a congresos	8.000 27.000
6	Bienes de uso		
7	Equipamiento		
Total 2º Año			\$100.000

**Rubros**

1. Bienes de consumo: insumos de laboratorio, útiles de oficina, librería, fotocopias, etc.
2. Servicios no personales: alquiler de equipos y mantenimiento, etc.
3. Servicios técnicos y profesionales: traducciones, desgrabaciones, data-entry, etc.
4. Servicios comerciales y financieros: imprenta, internet, transporte y almacenamiento, etc.
5. Pasajes y viáticos en ámbito nacional, inscripciones a congresos nacionales o internacionales.
6. Bienes de uso: libros, revistas, programas de computación, etc.
7. Equipamiento

20. Referencias bibliográficas

(Consigne la bibliografía utilizada para la formulación del Proyecto)

Agüero, M. V, Kotlar, C. E., & Roura, S. I. (2011). METHODS: Simultaneous optimization of biomass and protease biosynthesis by a local isolated *Pseudomonas* sp.—Selection of main medium components and operating conditions. *Industrial Biotechnology*, 7(1), 53–62.

Agüero MV; Bevilacqua AE; Roura SI. (2010). Temperature abuses during lettuce postharvest: impact on color and chlorophyll. Interim Meeting of the International Color Association AIC 2010 "Color and Food". Mar del Plata, Argentina, 12 – 15 de Octubre 2010. Resumen.

Augustin MA, Ghazali HM, Hashim H.(1985). Polyphenoloxidase from guava (*Psidium guajava* L.). *J Sci Food Agric* 1985; 36: 1259–1265.

Al-rousan, W. M., Olaimat, A. N., Osaili, T. M., Al-nabulsi, A. A., Ajo, R. Y., & Holley, R. A. (2018). Use of acetic and citric acids to inhibit *Escherichia coli* O157 : H7 , *Salmonella* Typhimurium and *Staphylococcus aureus* in tabbouleh salad. *Food Microbiology*, 73, 61–66.

Allende, A., Tomàs-Barberà, F.A., Gil, M.I., (2006). Minimal processing for healthy traditional foods. *Trends in Food Science & Technology* 17 (9), 513–519.

Angelino D, Godos J, Ghelfi F (2019), et al. Fruit and vegetable consumption and health outcomes : an umbrella review of observational studies. *Int J Food Sci Nutr* 2019; 0: 1–16.

Barbosa-Cánovas Gustavo V. & Bermúdez-Aguirre Daniela (2010). Procesamiento no térmico de alimentos. Facultad de Ciencias Agropecuarias Universidad Nacional de Trujillo. *Scientia Agropecuaria* 1(2010) 81 - 93

Bertolini, M., & Romagnoli, G. (2012). An Italian case study for the Process-Target-Cost evaluation of the ohmic treatment and aseptic packaging of a vegetable soup (minestrone). *Journal of food engineering*, 110(2), 214-219.

Bevilacqua, A., Petrucci, L., Perricone, M., Speranza, B., Campaniello, D., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2018). Nonthermal Technologies for Fruit and Vegetable Juices and Beverages : Overview and Advances. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17, 2–62.

Boukhatem, M. N., Boumaiza, A., Nada, H. G., Rajabi, M., & Mousa, S. A. (2020). *Eucalyptus globulus* essential oil as a natural food preservative: Antioxidant, antibacterial and antifungal properties in vitro and in a real food matrix (orangina fruit juice). *Applied Sciences*, 10(16), 5581.

Buzrul, S., Alpas, H., Largeteau, A., & Demazeau, G. (2008). Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in kiwifruit and pineapple juices by high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Microbiology*, 124(3), 275–278.

Callejón, R. M., Rodríguez-Naranjo, M. I., Ubeda, C., Hornedo-Ortega, R., García-Parrilla, M. C., & Troncoso, A. M. (2015). Reported Foodborne Outbreaks Due to



Fresh Produce in the United States and European Union: Trends and Causes. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(1), 32–38.

Campion, A., Morrissey, R., Field, D., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2017). Use of enhanced nisin derivatives in combination with food-grade oils or citric acid to control *Cronobacter sakazakii* and *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiology*, 65, 254–263.

Cao X, Cai C, Wang Y, Zheng X. (2018). The inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in bayberry juice during thermal and ultrasound treatments. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 45: 169-178.

CESNI. (2016). Consumo de frutas y vegetales de la población argentina. Obtenido de <http://www.cesni.org.ar/wp-content/uploads/2016/06/Consumo-frutas-y-hortalizas-OBSERVATORIO-Final.pdf>.

Chakraborty, S., Kaushik, N., Rao, P. S. & Mishra, H. N (2014). High-pressure inactivation of enzymes: A review on its recent applications on fruit purees and juices. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13, 578–596.

Chen, X., Ren, L., Li, M., Qian, J., Fan, J., & Du, B. (2017). Effects of clove essential oil and eugenol on quality and browning control of fresh-cut lettuce. *Food Chemistry*, 214, 432-439.

Gironés-Vilaplana, A., Mena, P., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2014). Evaluation of sensorial, phytochemical and biological properties of new isotonic beverages enriched with lemon and berries during shelf life. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(6), 1090-1100.

Gouma M, Álvarez I, Condón S, Gayán E. (2020). Pasteurization of carrot juice by combining UV-C and mild heat: Impact on shelf-life and quality compared to conventional thermal treatment. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2020 Aug 1;64.

Delves-Broughton, J., & Weber, G. (2011). Nisin, natamycin and other commercial fermentates used in food biopreservation. *Protective Cultures, Antimicrobial Metabolites and Bacteriophages for Food and Beverage Biopreservation*. Woodhead Publishing Limited.

Denoya, G. I., Fernandez, M. V, Sanow, L. C., Bello, F., Jagus, R. J., Vaudagna, S. R., & Agüero, M. V. (2017). Revalorización de subproductos hortícolas: desarrollo de un batido mezcla de frutas y verduras estabilizado con altas presiones hidrostáticas. *Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha*. Concordia, Argentina.

Dolas R, Saravanan C, Kaur BP. (2019). Emergence and era of ultrasonic's in fruit juice preservation: A review. *Ultrason. Sonochem.*, 58: 104609.

Elez-Martínez, P., & Martín-Belloso, O. (2007). Effects of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and gazpacho, a cold vegetable soup. *Food Chemistry*, 102(1), 201-209.

Ephrem, E., Najjar, A., Charcosset, C., & Greige-Gerges, H. (2018). Encapsulation of natural active compounds, enzymes, and probiotics for fruit juice fortification, preservation, and processing: An overview. *Journal of Functional Foods*, 48, 65-84.

Eswaranandam, S., Hettiarachchy, N. S., & Johnson, M. G. (2004). Antimicrobial Activity of Citric , Lactic , Malic , or Tartaric Acids and Nisin-incorporated Soy Protein Film Against *Listeria monocytogenes* , *Escherichia coli* O157 : H7 , and *Salmonella gaminara*. *Journal of Food Science*, 69(3), 79–84.

FDA. (1988). Nisin preparation: affirmation of GRAS status as a direct human food ingredient.

Fernandez, M. V, Agüero, M. V, Jagus & R. J. (2017). Consumer acceptability and impact of handling conditions on sensory, microbiological and nutritional quality of beet leaves. *Am. J. Food Technol.* 12, 301-310 .

Fernández, M. V., Agüero, M. V., & Jagus, R. J. (2018). Green tea extract: a natural antimicrobial with great potential for controlling native microbiota, *Listeria innocua* and *Escherichia coli* in fresh-cut beet leaves. *Journal of Food Safety*, 38(1), e12374.



- Fernandez, M. V, Denoya, G. I., Agüero, M. V, Jagus, R. J., & Vaudagna, S. R. (2018).** Optimization of high pressure processing parameters to preserve quality attributes of a mixed fruit and vegetable smoothie. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 170–179.
- Fernández, M. V, Jagus, R. J., & Agüero, M. V. (2018).** Application of a combined treatment using natural antimicrobials and modified atmosphere packaging to enhance safety, quality and shelf-life of fresh-cut beet leaves. *Journal of Food Safety*, En prensa.
- Fernández, M. V, Jagus, R. J., & Mugliaroli, S. L. (2014).** Effect of Combined Natural Antimicrobials on Spoilage Microorganisms and *Listeria Innocua* in a Whey Cheese "Ricotta." *Food and Bioprocess Technology*, 7(9), 2528–2537.
- Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B., & Givskov, M. (2002).** Food spoilage–interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78(1–2), 79–97.
- Grand View Research IU, (2018).** Fruit and Vegetable Juice Market Size Analysis Report By Product (Fruit Juices, Fruit & Vegetable Blends, Vegetable Juices), By Region And Segment Forecasts, 2018 - 2025. 2018. ID: GVR-2-68038-074-3
- Irkin, R. & Kizilirmak, O. (2015).** Novel food packaging systems with natural antimicrobial agents. *J. Food Sci Technol*; 52(10):6095-6111. doi: 10.1007/s13197-015-1780-9
- Jackson-davis A, Mendonca A, Hale S, et al (2018).** Microbiological Safety of Unpasteurized Fruit and Vegetable Juices Sold in Juice Bars and Small Retail Outlets. In: *Food and Feed Safety Systems and Analysis*. Elsevier Inc., 2018, pp. 213–225. ÁREA TEMÁTICA
- Khan, I., Tango, C. N., Miskeen, S., Lee, B. H., & Oh, D. H. (2017).** Hurdle technology: A novel approach for enhanced food quality and safety? A review. *Food Control*, 73, 1426–1444.
- Kim D, Song H, Lim S, et al. (2007)** Effects of gamma irradiation on the radiation-resistant bacteria and polyphenol oxidase activity in fresh kale juice. *Radiat Phys Chem* 2007; 76: 1213–1217
- Kim, S. A., & Rhee, M. S. (2015).** Synergistic antimicrobial activity of caprylic acid in combination with citric acid against both *Escherichia coli* O157 : H7 and indigenous micro flora in carrot juice. *Food Microbiology*, 49, 166–172.
- Koontz, J. L., Marcy, J. E., Barbeau, W. E., & Duncan, S. E. (2003).** Stability of natamycin and its cyclodextrin inclusion complexes in aqueous solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(24), 7111–7114.
- Liu, X., Jiang, Y., Guo, J., Ren, T., Zhao, Z., & Zhu, J. (2014).** Analysis and Control of Bulgaria Onion Cold Soup. *Journal of Modern Agriculture*, 3(1).
- Martínez-Gonzales NE, Castillo A. (2016).** Safety of Fresh-squeezed juices. In: Kotzekidou P (ed) *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods*. Elsevier Inc., 2016, pp. 183–207.
- Meireles, A.; Giaouris, E.; Simões, M.(2016).** Alternative disinfection methods to chlorine for use in the fresh-cut industry. *Food Research International* 2016, 82, 71-85.
- Mishra BB, Gautam S, Sharma A. (2011).** Shelf Life Extension of Sugarcane Juice Using Preservatives and Gamma Radiation Processing. *J Food Sci* 2011; 76: M573–M578
- Morales-de la Peña, M., Welti-chanes, J., & Martín-belloso, O. (2016).** Application of Novel Processing Methods for Greater Retention of Functional Compounds in Fruit-Based Beverages. *Beverages*, 1–12.
- Mytton, O. T., Nnoaham, K., Eyles, H., Scarborough, P., & Mhurchu, C. N. (2014).** Systematic review and meta-analysis of the effect of increased vegetable and fruit consumption on body weight and energy intake. *BMC Public Health*, 14(1), 886.
- Nielsen (2016).** Estudio global: ¿Qué hay en nuestra comida y en nuestra mente?.



- Nieva S.G., Fernandez MV, Jagus RJ, Agüero MV.2022.** "Conservación de batidos de frutas y verduras con antimicrobianos naturales para garantizar la seguridad y la calidad". *LWT Food Science and Technology* 154. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112663> .
- Pandey, A., & Negi, P. S. (2018).** Use of Natural Preservatives for Shelf Life Extension of Fruit Juices. *Fruit Juices*. Elsevier Inc, 2018. p.571-606. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00029-1>
- Parra, D. R., Galmarini, M., Chirife, J., & Zamora, M. C. (2015).** Influence of information, gender and emotional status for detecting small differences in the acceptance of a new healthy beverage. *Food Research International*, 76(P2), 269–276.
- Pina-Pérez MC, Rorigo D, Martínez A (2014).** Using natural antimicrobials to enhance the safety and quality of fruit- and vegetable-based beverages. Valencia: Elsevier Ltd, 2014.
- Prakash, B. & Kiran, S. (2016).** Essential oils: a traditionally realized natural resource for food preservation. *Current Science*; 110 (10): 1890-1892.
- Quiroz-González B, Rodríguez-Martínez V, García-Mateos MR, Torres JA, Welti-Chanes J. (2018).** High hydrostatic pressure inactivation and recovery study of *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* in pitaya (*Stenocereus pruinosus*) juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 50: 169-173,
- Ribeiro, R., Andrade, M., Ramos, N., Regiane, F., Araújo, I., Sánchez, A.(2017).** Biological activities and major components determination in essential oils intended a biodegradable food packaging. *Industrial Corps and Products*; 97: 201-2010. doi:10.1016/j.indcrop.2016.12.006.
- Sánchez-Moreno, C., Cano, M. P., de Ancos, B., Plaza, L., Olmedilla, B., Granado, F., & Martín, A. (2006).** Mediterranean vegetable soup consumption increases plasma vitamin C and decreases F2-isoprostanes, prostaglandin E2 and monocyte chemotactic protein-1 in healthy humans. *The Journal of nutritional biochemistry*, 17(3), 183-189.
- Snyder, A. B. & Worobo, R. W (2018).** The incidence and impact of microbial spoilage in the production of fruit and vegetable juices as reported by juice manufacturers. *Food Control* 85, 144–150 .
- Tomadoni B, Cassani L, Ponce A, Moreira MR, Agüero MV. (2019).** Natural antimicrobials combined with ultrasound treatments to enhance quality parameters and safety of unpasteurized strawberry juice. *Int. J. Fruit Sci.* DOI: 10.1080/15538362.2019.1709115
- Tremarin, A., Brandão, T. R., & Silva, C. L. (2017).** Inactivation kinetics of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice submitted to ultraviolet radiation. *Food Control*, 73, 18-23.
- Tserennadmid, R., Takó, M., Galgóczy, L., Papp, T., Pesti, M., Vágvölgyi, C., Almássy, K., Krisch, J. (2011).** Anti yeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk. *Int. J. Food Microbiol.* 144 (3), 480–486. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.11.004
- Tomadoni, B., Cassani, L., Moreira, M. D. R., & Ponce, A. (2015).** Efficacy of vanillin and geraniol in reducing *Escherichia coli* O157: H7 on strawberry juice. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 554-557.
- Tomás Lafarga & Gloria Bobo, (2018).** INFORME ESTUDIO DE TECNOLOGÍAS APLICADAS ATRANSFORMADOS VEGETALES. Programa de Poscosecha del IRTA, Instituto de Investigación de la Generalitat de Catalunya. Proyecto INCREA de Clúster FOOD+i y la Dirección General de Innovación del Gobierno de La Rioja. p.1-81.
- USDA.** <https://data.nal.usda.gov/>
- Varela-Santos, E., Ochoa-Martinez, A., Tabilo-Munizaga, G., Reyes, J. E., Pérez-Won, M., Briones-Labarca, V., & Morales-Castro, J. (2012).** Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on physicochemical properties, bioactive compounds and shelf-life of pomegranate juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13(JANUARY), 13–22.



Vojdani, J. D., Beuchat, L. R., & Tauxe, R. V. (2008). Juice-associated outbreaks of human illness in the United States, 1995 through 2005. *Journal of Food Protection*, 71, 356–364.

WHO, FAO.(2004). *Fruit and Vegetables for Health*. Kobe, Japan.

Xu, J., Zhou, L., Miao, J., Yu, W., Zou, L., Zhou, W., ... & Liu, W. (2020). Effect of cinnamon essential oil nanoemulsion combined with ascorbic acid on enzymatic browning of cloudy apple juice. *Food and Bioprocess Technology*, 13(5), 860-870.

Zhao Y, Wang P, Zhan P, Tian H, Lu C, Tian P. (2020). Aroma characteristics of cloudy kiwifruit juices treated with high hydrostatic pressure and representative thermal processes. *Food Res. Int.*, 109841.