

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“Efecto de la radiación UV-C y aire caliente sobre la
inocuidad y calidad de semillas de chía, amaranto y
ajonjolí”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

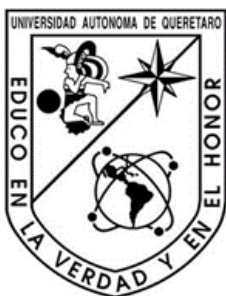
PRESENTA

I.Q. AI. CRISTIAN DANIEL JUÁREZ ARANA

DIRIGIDA POR

DRA. MONTSERRAT HERNÁNDEZ ITURRIAGA

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2019.



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

TESIS

“Efecto de la radiación UV-C y aire caliente sobre la inocuidad y calidad de semillas de chía, amaranto y ajonjolí”

Que como parte de los requisitos para obtener grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

I.Q. Al. Cristian Daniel Juárez Arana

Dirigido por:

Dra. Monserrat Hernández Iturriaga

SINODALES

Dra. Monserrat Hernández Iturriaga
Presidente

Dr. Eduardo Morales Sánchez
Secretario

Dra. Marcela Gaytán Martínez
Vocal

Dr. Juan Ramiro Pacheco Aguilar
Suplente

M. en C. Marla Goethe Leal Cervantes
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Noviembre, 2019
México

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue conocer la calidad sanitaria de semillas de chíá, amaranto y ajonjolí y evaluar el efecto de la aplicación de la radiación UV-C y el aire caliente forzado en la inactivación de *Enterococcus faecium* (subrogado de *S. enterica*) y en la calidad bromatológica y física de las semillas. Se recolectaron muestras de semillas (300) de mercados y supermercados de la ciudad de Querétaro, se cuantificaron microorganismos indicadores y se determinó la prevalencia y el contenido de *Salmonella* spp. Se evaluó el comportamiento de *Salmonella* en las semillas durante el almacenamiento a temperatura ambiente. Se aplicó radiación UV-C (21.2 W m^{-2} , 5 min) y aire caliente forzado (120° C por 10 min) a las semillas inoculadas con *E. faecium*; se cuantificó la población sobreviviente, se realizaron análisis bromatológicos y se determinó el contenido de compuestos fenólicos y color en las semillas. Los resultados obtenidos mostraron que la mediana del contenido de BMA en chíá, amaranto y ajonjolí fue de 2.1, 2.4 y 3.8 Log UFC g^{-1} , respectivamente. Los coliformes oscilaron entre 0.48 y 0.56 Log NMP g^{-1} . La mediana de la población de hongos fue <1 Log UFC g^{-1} , para las tres semillas, mientras que para las levaduras fue de <1 Log UFC g^{-1} , en chíá y amaranto y de 2.3 Log UFC g^{-1} en ajonjolí. La positividad de *E. coli* fue del 6% en chíá y del 3% en amaranto y ajonjolí. La prevalencia de *Salmonella* en chíá, amaranto y ajonjolí fue del 31, 15 y 12%, respectivamente, y la concentración osciló entre 0.48 y 0.56 Log NMP g^{-1} . Durante el almacenamiento de las semillas *Salmonella* se inactivó a razón de 0.018, 0.012 y 0.017 Log UFC h^{-1} en chíá, amaranto y ajonjolí, respectivamente. La aplicación de UV-C redujo entre 4.2 y 4.9 Log UFC g^{-1} de *E. faecium* en los tres tipos de semillas; el aire caliente forzado mostró reducciones de entre 4.4 y 4.9 Log UFC g^{-1} . Con la aplicación de las tecnologías aumentó el contenido de compuestos fenólicos y se modificó mínimamente la composición bromatológica y el color de los productos ($p < 0.05$). En conclusión, las tecnologías probadas pueden ser efectivas para el mejoramiento de la inocuidad y calidad de semillas.

Palabras clave: Antioxidantes, *Enterococcus faecium*, *Salmonella*, inactivación, subrogado.

SUMMARY

The purpose of this study was to determine the sanitary quality of chia, amaranth and sesame seeds and to evaluate the effect of the application of UV-C radiation and forced hot air on the inactivation of *Enterococcus faecium* (surrogate of *S. enterica*) and in the bromatological and physical quality of the seeds. Seed samples (300) were collected from markets and supermarkets in Querétaro city, indicator microorganisms were quantified and the prevalence and content of *Salmonella* spp. Was determined. The behavior of *Salmonella* in the seeds was evaluated during storage at room temperature. UV-C radiation (21.2 W m⁻², 5 min) and forced hot air (120 °C for 10 min) were applied to the seeds inoculated with *E. faecium*, surviving population was quantified, bromatological analyzes were analyzed and the content of phenolic compounds and color in the seeds were determined. The results showed that the median APC content in chia, amaranth and sesame was 2.1, 2.4 and 3.8 Log UFC g⁻¹, respectively. The coliforms ranged between 0.48 and 0.56 Log NMP g⁻¹. The median fungal population was <1 Log UFC g⁻¹, for all three seeds, while for yeasts it was <1 Log UFC g⁻¹, in chia and amaranth and 2.3 Log UFC g⁻¹ in sesame seeds. The positivity of *E. coli* was 6% in chia and 3% in amaranth and sesame seeds. The prevalence of *Salmonella* in chia, amaranth and sesame was 31, 15 and 12 %, respectively, and the concentration ranged between 0.48 and 0.56 Log NMP g⁻¹. During the storage of the seeds, *Salmonella* was inactivated at a rate of 0.018, 0.012 and 0.017 Log UFC h⁻¹ in chia, amaranth and sesame seeds, respectively. The application of UV-C reduced between 4.2 and 4.9 Log UFC g⁻¹ of *E. faecium* in the three types of seeds; forced hot air, reductions between 4.4 and 4.9 Log UFC g⁻¹. With the application these technologies, the content of phenolic compounds, the bromatological composition and color of the products were minimally modified (p <0.05). In conclusion, the proven technologies can be effective for the improvement of safety and quality of the seeds.

Keywords: Antioxidants, *Enterococcus faecium*, *Salmonella*, inactivation, surrogate.

ÍNDICE

RESUMEN	ii
ÍNDICE	iii
1. INTRODUCCIÓN	9
2. ANTECEDENTES	11
2.1 Alimentos de baja actividad de agua	11
2.2 Producción y comercialización de los alimentos secos	11
2.3 Consumo de los alimentos secos	12
2.4 Composición de los alimentos secos	13
2.4.1 Semilla de chía	15
2.4.2 Semilla de ajonjolí	15
2.4.3 Semilla de amaranto	17
2.5 Capacidad antioxidante de semillas secas	18
2.5.1 Compuestos fenólicos	19
2.5.2 Flavonoides	20
2.5.3 Polifenoles totales	20
2.6 Microbiología de semillas	21
2.6.1 Microorganismos patógenos al humano en semillas	21
2.7 Brotes de enfermedad asociados a semillas	23
2.8 Control microbiano de frutos secos	25
2.8.1 Tratamientos térmicos	25
2.8.2 Radiación	26
2.9 Tecnologías emergentes	27
2.9.1 Luz UV-C	27
2.9.2 Uso de aire caliente forzado	28
2.9.3 Uso de microorganismos subrogados para la evaluación de proceso de desinfección	29
3. OBJETIVOS	31
3.3 Objetivo general	31
3.4 Objetivos específicos	31
4. METODOLOGÍA	32

4.1	Materiales y Equipos	32
4.1.1	Material biológico	32
4.1.2	Soluciones y reactivos	32
4.1.3	Medios de cultivo	33
4.1.4	Equipos.....	34
4.2	Programa de muestreo.....	34
4.3	Análisis bromatológicos a las semillas	35
4.3.1	Humedad	35
4.3.2	pH.....	35
4.3.3	Actividad de agua (a_w)	35
4.4	Capacidad antioxidante.....	35
4.4.1	Extracción de los compuestos antioxidantes	36
4.4.2	Técnica DPPH	36
4.4.3	Técnica ABTS.....	37
4.5	Contenido fenólico total (CFT)	38
4.6	Contenido total de flavonoides	39
4.7	Análisis microbiológicos	40
4.7.1	Cuantificación de microorganismos indicadores.....	40
4.7.1.1	Bacterias mesófilas aerobias (BMA)	40
4.7.1.2	Coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y <i>E. coli</i>	40
4.7.1.3	Mohos y levaduras	41
4.7.2	Detección de <i>Salmonella</i> spp.	41
4.7.2.1	Confirmación de <i>Salmonella</i> mediante PCR	42
4.7.2.2	Cuantificación del contenido de <i>Salmonella</i> en semillas	42
4.8	Evaluación del comportamiento de <i>S. enterica</i> en semillas.	43
4.9	Evaluación del uso de <i>E. faecium</i> como subrogado de <i>S. enterica</i>	44
4.10	Aplicación de radiación UV-C en la inactivación de <i>S. enterica</i>	44
4.10.1	Preparación de las muestras.....	44
4.10.2	Preparación del inoculo.....	45
4.10.3	Inoculación de las muestras.....	45
4.10.4	Exposición a UV-C	45
4.11	Exposición a aire caliente	46

4.12	Cuantificación de <i>E. faecium</i>	46
4.13	Determinación de la capacidad antioxidante, composición bromatológica y color en las semillas tratadas.....	47
4.14	Análisis estadístico	47
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
5.1	Caracterización física, química y bromatológica de semillas de chía, amaranto y ajonjolí.....	49
5.2	Contenido fenólico total (CFT), flavonoides y capacidad antioxidante en las semillas.....	50
5.3	Cuantificación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria.	51
5.4	Prevalencia y contenido de <i>Salmonella</i> spp. en semillas.....	56
5.5	Prevalencia y contenido de <i>E. coli</i> . y su relación con la presencia de <i>Salmonella</i> en semillas.	58
5.6	Comportamiento de <i>S. enterica</i> en las semillas.....	59
5.7	Evaluación del uso de <i>E. faecium</i> como subrogado de <i>S. enterica</i> en las semillas.....	62
5.8	Uso de tecnologías emergentes como control de <i>S. enterica</i> en semillas: luz UV-C y aire caliente forzado.	63
5.8.1	Luz UV-C	64
5.8.2	Aire caliente forzado	65
5.9	Efecto de la aplicación de luz UV-C y aire caliente forzado sobre la calidad física, química y bromatológica de las semillas	73
5.9.1	Efecto de la aplicación de luz UV-C y aire caliente forzado sobre el contenido de flavonoides, CFT y capacidad antioxidante de semillas	74
5.9.2	Efecto de la aplicación de luz UV-C y aire caliente forzado sobre la composición bromatológica de semillas.....	76
5.9.3	Efecto de la aplicación de luz UV-C y aire caliente forzado sobre el color de las semillas	79
5.9.4	Efecto de la aplicación de luz UV-C y aire caliente forzado sobre la oxidación de lípidos de semillas.....	81
6.	CONCLUSIONES	83
7.	LITERATURA CITADA	85
8.	ANEXOS	96

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición bromatológica de la semilla de chía.....	15
Tabla 2. Composición bromatológica de la semilla de ajonjolí	16
Tabla 3. Composición bromatológica del amaranto	18
Tabla 4. Clases de compuestos fenólicos en plantas.....	19
Tabla 5. Brotes de enfermedad asociados al consumo de frutos y semillas secas en los cuales <i>Salmonella</i> se ha relacionado como agente causal.....	24
Tabla 6. Curva de calibración de trolox para DPPH	37
Tabla 7. Curva de calibración de trolox para ABTS.....	37
Tabla 8. Curva estándar de ácido gálico para CFT.....	38
Tabla 9. Curva estándar para determinación de flavonoides totales.....	39
Tabla 10. Condiciones de PCR para <i>Salmonella</i>	42
Tabla 11. Caracterización bromatológica de las semillas.....	49
Tabla 12. Contenido total de flavonoides, fenólico total (CFT) y capacidad antioxidante en semillas	51
Tabla 13. Contenido de microorganismos indicadores en semillas comercializadas en Querétaro	52
Tabla 14. Prevalencia y concentración de <i>Salmonella</i> spp. en semillas colectadas en la ciudad de Querétaro.....	56
Tabla 15. Relación entre el contenido de <i>Salmonella</i> spp. y <i>E. coli</i> en semillas colectadas en la ciudad de Querétaro.....	58
Tabla 16. Tasa de inactivación de <i>S. enterica</i> en semillas.....	61
Tabla 17. Velocidad de inactivación de <i>S. enterica</i> y <i>E. faecium</i> en semillas.	63
Tabla 18. Reducción de la población de <i>E. faecium</i> por efecto de la aplicación de luz UV-C en semillas.....	64
Tabla 19. Valor D para la inactivación de <i>E. faecium</i> en semillas expuestas a luz UV-C.....	65
Tabla 20. Reducciones de <i>E. faecium</i> en 10 g de semillas tratadas con aire caliente forzado.....	66
Tabla 21. Reducciones de <i>E. faecium</i> en 50 g de semillas tratadas con aire caliente forzado a 120°C.....	70

Tabla 22. Valores D para <i>E. faecium</i> en semillas tratadas con aire caliente forzado	71
Tabla 23. Contenido de flavonoides, CFT y capacidad antioxidante en semillas tratadas con UV-C y aire caliente.....	74
Tabla 24. Efecto del aire caliente forzado y la luz UV-C sobre la composición bromatológica de semillas.....	77
Tabla 25. Efecto de la luz UV-C y aire caliente sobre el color de semillas.....	79
Tabla 26. Efecto de la luz UV-C y el aire caliente sobre la oxidación de lípidos de las semillas	81

Dirección General de Bibliotecas UAQ

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras genéricas de algunas clases de flavonoides	20
Figura 2. Diagrama de caja y brazos del contenido de bacterias mesófilas aerobias (a), mohos (b), levaduras (c), coliformes totales (d) y coliformes fecales (e) en semillas de chía, amaranto y ajonjolí.	53
Figura 3. Comportamiento de <i>S. enterica</i> en semillas de chía, amaranto y ajonjolí durante el almacenamiento a temperatura ambiente (~25° C).....	60
Figura 4. Comparación del comportamiento de <i>E. faecium</i> y <i>S. enterica</i> en semillas de chía (a), amaranto (b) y ajonjolí (c)	62

Dirección General de Bibliotecas UNQ

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, existe una tendencia hacia el consumo de productos que de manera natural contienen una cantidad considerable de nutrientes o sustancias bioactivas que además de cumplir con la función nutritiva puedan auxiliar en mejorar la salud de los consumidores; tal es el caso de las semillas y las frutas deshidratadas (Correa, 2011). Tan solo en 2010, Estados Unidos (EE. UU.) importó más de 62 millones de dólares de frutas secas para satisfacer la demanda de los consumidores (Industry Global, 2017).

Las semillas son importantes en la nutrición humana debido su alta aportación de energía y nutrientes; son particularmente importantes debido a su composición única en compuestos bioactivos. En la última década se ha generado una gran cantidad de evidencia científica sobre los efectos benéficos del aumento en el consumo de semillas de plantas y productos derivados en la salud de los consumidores, principalmente en la disminución del riesgo de enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus tipo 2 y marcadores intermedios (Ros & Hu, 2014).

Además de su riqueza nutrimental, las semillas han despertado especial interés, pues en la última década se han vinculado con brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. Específicamente, en Europa en 2017 se reportó un brote de salmonelosis asociado al consumo de semillas de ajonjolí causando más de 40 casos de enfermedad (Brusin *et al.*, 2017).

En el mundo, los organismos reguladores, de salud pública, industria, productores y centros de investigación han propuesto iniciativas para controlar la contaminación microbiana mediante la implementación de prácticas de reducción de riesgos, selección física de las semillas contaminadas y la aplicación de tratamientos como la radiación ionizante (radiación gamma) y calor (vapor y agua caliente); sin embargo, dichos métodos, no garantizan la conservación de las propiedades nutricionales y organolépticas ni la eliminación de *Salmonella* u otros patógenos que pudieran estar presentes en este grupo de alimentos (Atungulu *et al.*, 2012).

En México, la información relacionada con la calidad sanitaria de las semillas para consumo humano y los métodos para eliminar la presencia de microorganismos patógenos es escasa. Por otro lado, la venta irregular de semillas y frutos secos podría representar un incremento del riesgo de enfermar al que se expone el consumidor ya que no se vigila la venta a granel y cada vez es más común encontrar puestos ambulantes en semáforos y cruceros.

Por todo lo anterior, en este trabajo se determinó la calidad sanitaria de semillas de chíá, ajonjolí y amaranto, y se evaluó el efecto de la luz UV-C y el aire caliente forzado en la inactivación de *E. faecium* (subrogado de *S. enterica*), así como en la capacidad antioxidante, la composición bromatológica y el color de semillas.

2. ANTECEDENTES

2.1 Alimentos de baja actividad de agua

Los alimentos de bajo contenido de humedad son aquellos que, de manera natural o por cualquier método de deshidratación, presentan una actividad de agua (a_w) menor a 0.85 (Badui-Dergal, 2006).

Recientemente el consumo de alimentos secos, como nueces, frutos deshidratados y semillas se ha popularizado en todo el mundo. Entre las principales razones de consumo de estos productos figuran las características organolépticas y la riqueza de nutrientes, siendo los más destacados el contenido de compuestos antioxidantes, principalmente los fenólicos, pues a estos compuestos se les ha relacionado con la prevención de enfermedades, ya que poseen propiedades antiinflamatorias, anticarcinogénicas, antimutagénicas, antibacteriales, etc. (Ariza *et al.*, 2016).

Otra de las razones de la popularidad de frutos y semillas secas es que generalmente se considera que este grupo de alimentos presentan una vida de anaquel prolongada y una menor probabilidad de ser vehículos de patógenos debido a que la humedad disponible es demasiado baja para sustentar el crecimiento microbiano y por ende la inocuidad está asegurada (Douglas y Lindsay, 1992).

2.2 Producción y comercialización de los alimentos secos

Según cifras de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), se estima que al año se desperdician más de 1,300 millones de toneladas de alimentos, por lo cual actualmente se promueve el consumo de alimentos con las mismas características nutricionales pero menos perecederos que los alimentos frescos (FAO, 2012).

En la última década, la producción total de almendra, nuez, anacardo, pistacho, pecana, macadamia, nuez de Brasil y piñón a nivel mundial aumentó en 3.5 millones de toneladas (incremento del 55%) y de fruta deshidratada en 2.5 millones de toneladas (incremento del 22%). Por otro lado, la comercialización aumentó un 36%

para frutos secos y un 9% para fruta deshidratada; lo cual representa más de 30,000 millones de dólares en ganancias (International Nut and Dried Fruit, 2018).

En cuanto a la producción de frutos secos en México, lo que más se cultiva son algunas variedades de nuez, como la pecana (*Carya illinoensis* y *Carya koch*), la de Castilla (*Juglans regia* L.) y la criolla, siendo Chihuahua, Sonora, Coahuila, Durango y Nuevo León los estados que concentran la producción de la primera y la tercera, los estados de Puebla, Tlaxcala, México, Oaxaca y Querétaro siembran la segunda. Cabe destacar que el volumen de producción de nueces está representado por el 98.8% de pecana, 1.1% de Castilla y 0.1% criolla (SAGARPA, 2016).

En el periodo entre 2011 y 2014, México fue el segundo exportador de nuez pecanera a nivel mundial después de EE. UU. La Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero, registró el incremento de la producción de nuez en un 80%, alcanzando 110 mil toneladas. Los principales compradores son EE.UU. y China, quienes emplean este fruto seco para productos de confitería, gracias a su nivel de calidad (SAGARPA, 2016).

2.3 Consumo de los alimentos secos

De acuerdo con la *Global Industry Analysts* (GIA), empresa de investigación de mercado, las frutas deshidratadas se están convirtiendo en un producto de gran potencial para su exportación. El estudio indica que al año 2020, el consumo mundial de frutas deshidratadas crecerá a 4 millones de toneladas (Industry Global, 2017).

El Consejo Internacional de Frutos Secos reporta que en 2017 hubo un crecimiento en la producción de frutos y semillas secas. Los datos muestran un aumento de 56% en consumo de frutos secos desde 2004 y de 24% en frutas deshidratadas.

A nivel mundial, EE. UU. es el principal consumidor (y por lo tanto comprador) de frutas deshidratadas como piña, mango y durazno, representando el 12.9% de sus

importaciones. Le siguen en importancia Alemania (8.8%), Rusia (5.8%), Holanda (5.6%) y Reino Unido (5.4%). Otros países con mayor consumo de frutas deshidratadas en 2017, fueron el Reino Unido, Kazajistán, Alemania, Francia y Bélgica. Siendo en su mayoría países del norte de Europa, lo cual expresa la tendencia cultural de estas regiones por el consumo de alimentos nutritivos y libres de aditivos o conservadores (Industry Global, 2017).

A pesar de que en México no se tienen cifras exactas sobre el consumo de frutos y semillas secas, en los últimos años nuestro país se ha destacado por la producción de frutos deshidratados como uvas pasas, manzanas, peras, higos y duraznos; siendo las uvas pasas el producto de mayor demanda en el país y el más exportado. De manera general, las importaciones mexicanas de frutos secos de EE. UU. alcanzaron 16.3 millones de dólares en 2007, cifra que va en aumento desde ese periodo (SAGARPA, 2016).

2.4 Composición de los alimentos secos

Un fruto seco es aquel cuya composición natural (sin manipulación humana), contiene menos de un 50% de agua y que están rodeados por lo general de una cáscara dura como lo son la almendra, maní, castaña, nuez, piñón, pistachos, entre otros (SAGARPA, 2016).

Los frutos secos destacan por su elevado contenido energético, ya que, en promedio, 100 g aportan entre 560 y 640 Kcal. Este contenido energético se deriva de su escaso contenido de agua y su elevado contenido en grasas (entre 48 y 63%). No obstante, la importancia del contenido lipídico de estos alimentos no es únicamente cuantitativa, sino cualitativa, ya que predominan los ácidos grasos insaturados. Todos los frutos secos tienen una composición similar en proteínas (entre 13 y 27%) con un valor biológico importante. Por otro lado, el contenido de hidratos de carbono es alrededor de 20% en la mayoría de los frutos secos. Asimismo, este grupo de alimentos constituye una excelente fuente de vitaminas (principalmente E y grupo B), además de proveer minerales y fibra (Luna-Guevara & Guerrero-Beltrán, 2010).

Por su parte, la fruta deshidratada conserva gran parte del valor nutricional que tienen las frutas frescas, poseen una gran cantidad de vitaminas (C, A y K) y calcio. De tal manera que su consumo podría reducir el riesgo de algunas enfermedades asociadas al poco consumo de frutas; además, carecen de grasas saturadas, colesterol, son bajas en sal y contienen altos niveles de fibra y potasio (Correa, 2011).

Las semillas son el componente de una fruta que alberga el embrión y que puede derivar en una nueva planta, producto del óvulo madurado de plantas con flores después de la polinización. Las semillas son matrices complejas desde la capa externa hasta el germen son ricas en minerales, vitaminas, y fitoquímicos bioactivos cuya función es proteger el ADN de la planta del estrés. Por su parte, el endosperma de las semillas almacena componentes nutritivos que le servirán de sostén a la nueva plántula: proteínas de calidad, carbohidratos complejos y lípidos (Ros & Hu, 2014).

Entre las semillas más consumidas en México se encuentra la chía, mayoritariamente se consumen remojadas en agua liberando un mucilago (líquido gelatinoso) para dar sabor a jugos vegetales o esencias, también suelen secarse o molerse para preparar harina fina de sabor intenso. El mayor centro productor de México es Jalisco, de donde se exporta a Japón, EE. UU. y Europa (ERAM, 2015).

La semilla de ajonjolí, por otro lado, tiene gran importancia cultural y gastronómica para nuestro país, se usa en la elaboración de panes, galletas y dulces. Se utiliza además en la preparación de jugos, licuados, yogures, salsas, sopas, ensaladas y del tradicional mole. También se industrializa para producir aceites comestibles, margarinas y hasta cosméticos (ANIAME, 2012).

Otra de las semillas de mayor consumo debido a su importancia cultural es la semilla de amaranto, cuyo consumo es principalmente como cereal reventado (79.9%), en forma de harinas (17%) y extruido (3%). Siendo las alegrías (dulce tradicional mexicano elaborado con semilla de amaranto y miel) el producto de amaranto más consumido en el país (ANIAME, 2012).

2.4.1 Semilla de chía

El género *Salvia* incluye aproximadamente 900 especies de semillas Lamiaceae, de las cuales se destaca la chía (*Salvia hispánica* L.) (da Silva *et al.*, 2017). La chía es una planta que puede alcanzar hasta dos metros de altura. Las hojas miden de 4 a 8 cm de largo y de 3 a 5 cm de ancho. Las flores son hermafroditas, de color violeta. Florece entre julio y agosto y se cultiva, sobre todo, en México, Guatemala y Bolivia. La planta de chía requiere un clima tropical o sub-tropical, la semilla mide aproximadamente 2 mm de ancho y se cultiva debido al interés que su composición nutricional tiene para la industria alimentaria (Tabla 1)

Tabla 1. Composición bromatológica de la semilla de chía

Composición	g/100 g
Humedad	6.2
Proteínas	19.9
Lípidos	27.9
Cenizas	4.5
Hidratos de carbono	8.6
Fibra dietética	33.0

(Paula *et al.*, 2013)

México produce anualmente casi siete mil toneladas de chía, los principales estados productores son Jalisco, Puebla y Sinaloa; siendo la región de los Altos de Jalisco la zona de mayor producción en nuestro país (88%) (SAGARPA, 2017).

Se estima que en los próximos años la producción y consumo se duplique debido a la popularización entre la población de los beneficios que trae su consumo, entre los que se destacan la concentración de ácido graso alfa-linolénico (Omega 3), indispensable para sintetizar otros ácidos grasos esenciales, así como el contenido de compuestos antioxidantes con propiedades antiinflamatorias (Solchem Nature Co., 2017).

2.4.2 Semilla de ajonjolí

El ajonjolí es una planta cuya especie botánica es de la familia *Sesamum indicum*. Su cultivo es anual, el ciclo puede variar entre 90–130 días dependiendo de la variedad y las condiciones ecológicas. La semilla es aplanada, pequeña, blanca, gris o negra en su exterior; mide de 2 a 4 mm de longitud y 1 a 2 mm de ancho (Mohammed *et al.*, 2018). En México, la producción anual de ajonjolí supera las 51 mil toneladas. Cabe destacar que los estados de Sinaloa, Guerrero y Michoacán son los mayores productores de este alimento al que se destinan más de 107 mil hectáreas para cultivarlo (SAGARPA, 2016).

Al ajonjolí se le han atribuido diversas propiedades benéficas para la salud debido de su composición nutricional: ayuda con el estrés, la depresión, el insomnio y otros problemas del sistema nervioso (Tabla 2. Composición bromatológica de la semilla de ajonjolí. Sus altos contenidos de calcio, hierro y zinc lo hacen muy recomendable para las personas con anemia. Por su alto contenido de fibra, el ajonjolí es un fantástico regulador intestinal (ANIAME, 2012).

Tabla 2. Composición bromatológica de la semilla de ajonjolí

Composición	g/100 g
Humedad	5.0
Proteínas	17.8
Lípidos	48.0
Cenizas	8.0
Hidratos de carbono	26.2
Fibra	2.5

(Hassan *et al.*, 2018).

2.4.3 Semilla de amaranto

El amaranto pertenece a la familia de las *Amaranthaceas*, su género *Amaranthus* contiene más de 70 especies, de las cuales la mayoría son nativas de América y solo 15 provienen de Europa, Asia, África y Australia (Robertson, 1981), cuyas características dependen del entorno y condiciones en el que crecen. El amaranto puede consumirse casi desde la siembra, en forma de germinado, de hojas tiernas en ensalada, o molidas para servirse en forma de sopa. Además, no contiene gluten así que es apto para el consumo de celíacos (alérgicos al gluten).

El amaranto en México es cultivado en ocho estados de la república entre los que destacan Estado de México, Puebla y Michoacán, tiene una gran importancia en la agricultura tradicional; sin embargo, en los últimos años ha crecido el número de hectáreas cultivadas gracias a las propiedades nutricionales que se le han atribuido a esta semilla. La superficie sembrada en nuestro país en 2012 fue de 3,336 hectáreas con una producción de 4,278 toneladas, de las cuales cerca del 80% se aprovechan como cereal reventado (Asociación Mexicana de Amaranto, 2012).

En la Tabla 3 se muestran las propiedades nutritivas del amaranto, el cual posee aproximadamente un 16% de proteína, un porcentaje un poco más alto que el de los cereales tradicionales como el maíz, el arroz y el trigo; sin embargo, su importancia no radica en la cantidad sino en la calidad de la proteína con un excelente balance de aminoácidos. Tiene un contenido importante de lisina, 16.6%, aminoácido esencial en la alimentación humana, que comúnmente es más limitante en otros cereales.

Tabla 3. Composición bromatológica del amaranto

Composición	g/100g
Humedad	5.0
Proteínas	12 - 19
Lípidos	6.1 – 8.1
Fibra cruda	3.5 – 3.3
Cenizas	3.0 – 3.3

(Galarza *et al.*, 2013).

2.5 Capacidad antioxidante de semillas secas

Las semillas de chía más allá de su excelente perfil nutricional (Tabla 3), contiene lisina, vitaminas del grupo B, calcio, fósforo, zinc, flavonoides, fenoles y demás compuestos que le dan propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimutagénico, antiviral, laxante, anticarcinogénico, etc. (Di Sarpio *et al.*, 2008).

Por su parte, las semillas de ajonjolí también presentan un gran contenido de compuestos fenólicos que actúan como antioxidantes y que recientemente se ha estudiado su potencial como antimicrobianos. Es un alimento con gran capacidad antioxidante por su contenido en vitamina E, reduce el efecto negativo de los radicales libres previniendo el envejecimiento a nivel celular. El sesamol, un fitoquímico, también presenta acción antioxidante evitando la rancidez de la misma semilla (Mohammed *et al.*, 2018).

En los últimos años se ha estudiado la capacidad nutraceutica de la semilla de amaranto. Sarker *et al.* (2017) reportan que la semilla de amaranto es rica en clorofila (346.2 µg/g), β-cianinas (364 µg/g), β-xantinas (364.3 µg/g), betalaínas (723.9 µg/g), carotenos (69.8 µg/g), ácido ascórbico (92.86 µg/g) y la capacidad antioxidante total (25.87 TEAC mg/g); de tal manera que quedó demostrado que la semilla de amaranto no solo es rica en proteínas y aceites, sino que la capacidad

antioxidante la convierte en un producto de gran importancia económica y nutraceutica.

2.5.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos pueden ser definidos como sustancias que poseen un anillo aromático que lleva uno o más sustituyentes hidroxilo, incluyendo sus derivados funcionales y estos son, generalmente, sintetizados por las plantas durante su desarrollo, como respuesta a diversas condiciones adversas como infecciones, heridas, radiaciones, etc. (Dixon & Paiva, 1995). Se ha demostrado que dichos compuestos fenólicos tienen beneficios a la salud de los consumidores, pues presentan características antimutagénicas y anticancerígenas (Yoshida *et al.*, 1989); también se ha estudiado el efecto positivo de estos compuestos en enfermedades como diabetes mellitus, alergias, cáncer, migraña, úlceras gástricas y enfermedades inflamatorias (Peterson *et al.*, 2005).

En la Tabla 4 se muestran los principales compuestos fenólicos presentes en plantas, incluidas las semillas.

Tabla 4. Clases de compuestos fenólicos en plantas

Clase	Fórmula condensada
Fenoles simples (benzoquinonas)	C ₆
Ácidos hidroxibenzóicos	C ₆ -C ₁
Acetofenonas	C ₆ -C ₂
Ácidos hidroxicinámico	C ₆ -C ₃
Naftoquinona	C ₆ -C ₄
Xantosas	C ₆ -C ₁ -C ₆
Estiibenos, antraquinonas	C ₆ -C ₂ -C ₆
Flavonoides, isoflavonoides	C ₆ -C ₃ -C ₆
Lignanós, neolignanós	(C ₆ -C ₃) ₂
Ligninas	(C ₆ -C ₃) _n
Taninos condensados	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n

(Soto, 2015).

2.5.2 Flavonoides

Los ácidos fenólicos se dividen en dos subgrupos, los ácidos hidroxibenzoicos e hidroxinámicos. Los flavonoides constituyen el grupo más grande de los compuestos fenólicos de las plantas, siendo más de la mitad de los ocho mil compuestos polifenólicos de origen natural; además, poseen una estructura que consta de quince átomos de carbono, dispuestos en una configuración C6-C3-C6. Esta estructura consiste en dos anillos aromáticos unidos por tres carbonos que, por lo general, forman un anillo heterocíclico.

Las diferentes sustituciones en el anillo central dan resultado en las principales clases de flavonoides, flavonas, flavononas, flavanoles, isoflavonas, etc.

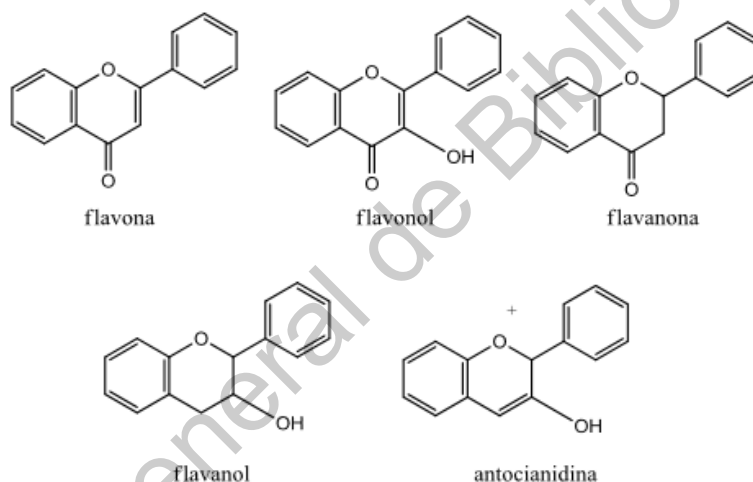


Figura 1. Estructuras genéricas de algunas clases de flavonoides

(Soto, 2015).

2.5.3 Polifenoles totales

Los polifenoles naturales poseen una alta diversidad estructural que va desde simples moléculas tales como los ácidos fenólicos a compuestos altamente polimerizados como los taninos. Las clases de polifenoles se muestran en la Tabla 4, de los cuales, ácidos fenólicos, flavonoides y taninos son considerados como los principales compuestos fenólicos presentes en la dieta.

2.6 Microbiología de semillas

Las semillas pueden contaminarse con microorganismos en todas las etapas de la producción, comercialización y preparación; pero no por ello puede ser afirmado que el consumidor desarrollará una enfermedad de transmisión alimentaria (Hasell & Salter, 2003). Si bien, la actividad de agua baja es una limitante para el crecimiento microbiano, no lo es para su sobrevivencia en el alimento y posible generación de compuestos indeseables (micotoxinas) (Badui Dergal, 2006).

Los microorganismos detectados con mayor frecuencia en este grupo de alimentos son: bacterias ácidolácticas, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus*, *Bacillus* spp., levaduras y hongos (*Penicillium*, *Aspergillus*) *Enterobacter*, *Escherichia*, *Bacillus*, *Xanthomonas*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium* (Fernández-Escartín, 2008).

2.6.1 Microorganismos patógenos al humano en semillas

Las bacterias patógenas no pueden desarrollar en las semillas debido a su baja a_w , pero pueden sobrevivir durante tiempo suficiente para causar enfermedad. Es decir, la mera contaminación del alimento representa un riesgo a la salud de los consumidores. Algunas enfermedades causadas por patógenos o toxinas bacterianas (salmonelosis, hepatitis A, botulismo infantil, listeriosis) han sido atribuidas, en su mayoría a la contaminación por exposición del alimento a desechos animales o humanos (FAO, 2004).

Según la FAO, existen múltiples posibles fuentes de contaminación de *Salmonella* y *E. coli* enterohemorrágica en los frutos secos y semillas: huertos, suelo, el agua y los contenedores o utensilios usados en la recolección de estos productos. Muchos frutos y semillas se recolectan directamente del suelo del huerto después de ser sacudidos mecánica o manualmente, de ser cortados manualmente del árbol y tirados al suelo o de ser dejados caer de manera natural desde el árbol, lo que da lugar a que se mezclen con el suelo y restos vegetales. De este modo, los contaminantes del suelo se pueden propagar a las semillas comestibles antes o durante el descascarillado (FAO, 2012).

Uno de los principales factores que propicia la sobrevivencia de los microorganismos patógenos en las semillas y en consecuencia la aparición de brotes de enfermedad asociados a su consumo es el alto índice de ácidos grasos, el cual puede ejercer un efecto protector para los patógenos expuestos al medio ambiente y contra los ácidos gástricos permitiendo el paso de organismos viables al intestino una vez que han sido ingeridos. Dichos brotes son difíciles de estudiar debido a la larga vida de anaquel de este tipo de alimentos (FAO, 2012).

Hasta la fecha, la mayor parte de los brotes asociados con alimentos de bajo contenido de humedad se han vinculado a *Salmonella* spp. Sin embargo, en 2011 se produjo un brote de enfermedad asociada a la *E. coli* enterohemorrágica derivada del consumo de avellanas con cáscara, así como un brote posiblemente asociado al consumo de nueces (FAO, 2012). Se ha demostrado que *Salmonella* es capaz de sobrevivir por largos periodos de tiempo en ambientes de baja actividad de agua (Burnett *et al.*, 2000).

2.6.2 *Salmonella*

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram negativos móviles que no fermentan la lactosa, aunque la mayoría produce sulfuro de hidrógeno o gas por fermentación de los hidratos de carbono. En la naturaleza podemos encontrar a las bacterias de este género en animales tanto de sangre fría como de sangre caliente, en los seres humanos y en el medio ambiente por lo general, incluido el suelo y el agua. *Salmonella* spp. tiene la capacidad de crecer o multiplicarse en un lapso promedio de 40 minutos en un rango de temperatura de entre 6°C y 46°C; sin embargo, su temperatura óptima es de 37°C y un rango de pH para su desarrollo de 4 a 9, y un pH óptimo de 7 a 7.5 (D'Aoust, 1994). En condiciones favorables, *Salmonella* spp. puede crecer en el rango a_w de 0.94 hasta más de 0.99, siendo 0.99 el a_w óptimo para el crecimiento (Fernández-Escartín, 2008).

2.6.1.2. Presencia de *Salmonella* en frutos secos

Se ha demostrado que la mayoría de los productos agrícolas como granos, especias y frutos secos, pueden albergar a *Salmonella* y otros patógenos. Eglezos *et al.* (2008) y Little *et al.*, (2009b), reportaron una incidencia de *Salmonella* de 1.7% en almendras crudas, de igual forma encontraron un índice de aislamiento total de 0.87% en almendras crudas de California tomadas en un periodo de 5 años.

Beuchat & Mann, (2014), estudiaron la presencia y sobrevivencia de *Salmonella* en arándanos, pasas y fresas deshidratadas y se encontró una clara tendencia a la inactivación, siendo más rápida dicha reducción en los frutos almacenados a 25°C que si fueran almacenados a 4°C. En pasas y arándanos el patógeno se inactivó a los 21 días, en fresas a los 42 días y en pasta de dátil a los 84 días. De tal manera que quedó demostrado que *Salmonella* es un género que se adapta bastante bien a los bajos niveles de actividad de agua y los bajos valores de pH que presentan estos frutos.

Juárez-Arana *et al.* (2018), estudiaron el comportamiento de *S. enterica* en dulces mexicanos, elaborados con semillas y concluyeron que las condiciones que exhiben los cacahuates garapiñados, las palanquetas de semilla de calabaza y las alegrías de semilla de amaranto no permiten el desarrollo de *Salmonella* pero si la sobrevivencia por tiempos prolongados (40 días en cacahuete garapiñado, 44 días en palanquetas y 38 días en alegrías de amaranto), lo cual sugiere un riesgo potencial de la presencia de *Salmonella*.

2.7 Brotes de enfermedad asociados a semillas

Durante el 2009-2010, se reportaron en EE. UU. un total de 1,527 brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos (675 en 2009 y 852 en 2010), lo que resultó en 29,444 casos de enfermedad, 1,184 hospitalizaciones y 23 muertes. De los 790 brotes, las bacterias causaron 413 (52%) brotes, los virus 336 (42%), los químicos y toxinas 39 (5%) y los parásitos solamente 2 (0.2%).

En el periodo de 1998-2008 el CDC reportó 7,724 brotes asociados a alimentos o algún ingrediente contaminado, se incluyeron 17 categorías de productos básicos

predefinidos: pescado, crustáceos, moluscos, lácteos, huevo, carne de res, carne de cerdo, pollo, granos y semillas, aceites, azúcares, frutas y nueces, hongos, vegetales de hoja, vegetales de raíz, brotes y vegetales de vaina o tallo. Las semillas, nueces y frutos secos se ubicaron como el sexto grupo de alimentos que más frecuentemente se asoció con casos de enfermedad (CDC, 2010). La mayoría de los brotes de salmonelosis en EE.UU. relacionados con alimentos de baja actividad de agua refieren el consumo de alimentos procesados como chocolate o semillas tostadas (FAO, 2012).

En los últimos años la FAO ha reportado y asociado brotes de salmonelosis con el consumo de nueces y también de otros frutos secos como almendras, piñones crudos y coco seco, así como productos derivados de frutos secos como la mantequilla de cacahuate tostado y los productos de semillas de ajonjolí (por ejemplo, halva y tahina) (FAO, 2012) (Tabla 5).

Tabla 5. Brotes de enfermedad asociados al consumo de frutos y semillas secas en los cuales *Salmonella* se ha relacionado como agente causal

Vehículo	Año	Lugar	Patógeno	No. de casos
Almendras crudas	2003- 2004	EE. UU. (Oregon) y Canadá (12 estados)	S. Enteritidis	34
Almendras	2005	Suecia	S. Enteritidis	15
Crema de cacahuate	2008- 2009	43 estados de EE. UU.	S. Typhimurium	550
Piñones	2011	Meryland, New Jersey, New York, Pennsylvania, Virginia	S. Enteritidis	43
Chocolate	2006	Reino Unido	S. Montevideo	45
Chocolate con nueces	2007	Reino Unido	S. Schwarzengrund	90
Semilla de chía	2014	16 estados de EE. UU.	S. Newport	31

Pasta de ajonjolí	2013	9 estados de EE. UU.	S. Montevideo	16
Coco rallado	2018	9 estados de EE. UU.	S. Newport	27

(CDC, 2018).

Desafortunadamente la información epidemiológica en México es muy limitada y no se tienen datos a cerca de brotes relacionados con semillas; sin embargo, la venta irregular de este tipo de alimentos podría representar un riesgo al consumidor ya que no se vigila la venta a granel y cada vez es más común encontrar puestos ambulantes en semáforos y cruceros donde la inocuidad de los productos no se cuestiona, ni controla. Sumado a este factor, la falta de información y estudios relacionados con el riesgo de consumir este tipo de alimentos dejan un gran campo de acción para la investigación.

2.8 Control microbiano de frutos secos

Actualmente se han propuesto algunas estrategias para el control de microorganismos patógenos y no patógenos en semillas y frutos secos: métodos térmicos, radiación y tratamientos físicos. La decisión de usar uno u otro depende de factores como la conservación de las características organolépticas y nutricionales del producto y, en gran medida, a la aceptación del consumidor (Atungulu *et al.*, 2012).

2.8.1 Tratamientos térmicos

Los tratamientos térmicos que se aplican comúnmente a los frutos secos son: agua caliente, aire forzado a alta temperatura o vapor, siendo éstos los más usados ya que no representan riesgos significativos para la salud y, como resultado, las semillas tratadas mediante estas tecnologías son aceptados por los consumidores. La efectividad del proceso depende tanto de la temperatura de exposición como del tiempo requerido a esta temperatura para lograr la tasa de destrucción deseada y de la resistencia del microorganismo (ABC, 2004). Por ejemplo, en la industria de las almendras se ha probado que el tostado en aceite es efectivo para la inactivación de *S. Enteritidis* PT30 logrando una reducción de hasta 5 Log UFC; sin embargo,

las almendras tratadas por este método tienen la tendencia a perder propiedades similares a las frescas (color, sabor y textura) (Du *et al.*, 2010).

Por otro lado, la FDA ha recomendado el uso de vapor caliente (HTST) como control de *Salmonella* en semillas, y se ha aplicado con éxito en almendras logrando reducciones de hasta 5 Log UFC en menos de 5 s para *S. Enteritidis*; sin embargo, las características físicas, organolépticas y nutricionales de los productos se ven altamente afectadas, pues al aplicar el vapor aumenta la humedad en las almendras y esto provoca el ablandamiento de la corteza, la aparición de arrugas, pérdida de nutrientes y disminución de la vida de anaquel (Chang *et al.*, 2010; Perren, 2008).

Otro de los métodos térmicos que se han aplicado en nueces es el calor seco, logrando reducciones de hasta 6 Log de *Salmonella* con aire caliente a 70°C pues la condensación y evaporación de humedad en la superficie de la semilla altera la resistencia térmica de la bacteria acelerando la inactivación de la misma (Jeong *et al.*, 2009).

2.8.2 Radiación

El uso de radiación ionizante se aplica a los alimentos en general por ser un método eficiente y ecológicamente limpio, estos métodos implican la exposición del alimento a una cantidad de energía (partículas o rayos) cuidadosamente controlada a una alta velocidad, ejemplos de estos tratamientos son: rayos gamma, electrones energéticos y rayos X (Atungulu *et al.*, 2012).

El tratamiento con radiación en granos y semillas se aplica en dosis de entre 2-7 kGy y puede eliminar eficazmente bacterias patógenas que no forman esporas, como *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes* o *E. coli* O157:H7 con ligeros cambios en las características generales de los alimentos ya que no se eleva la temperatura. La sensibilidad de las células microbianas a la irradiación depende del contenido de humedad; en condiciones de baja humedad, como en las semillas, las moléculas de agua producen menos radicales y, por lo tanto, tienen menos efectos indirectos en el ADN de las células

microbianas. Prakash *et al.* (2010), aplicaron radiación ionizante en almendras crudas (5 kGy) logrando una disminución de hasta 4 Log UFC g⁻¹ de *S. Enteritidis*; sin embargo, la calidad del grano se alteró. Sánchez-Bel *et al.* (2008), informaron de manera similar la disminución de las puntuaciones sensoriales de almendras crudas con respecto al dulzor y el color cuando se utilizó la irradiación con haz de electrones para la descontaminación.

Además de los efectos sobre los alimentos antes mencionados, en los últimos años el uso de radiaciones ionizantes como método de control sanitario ha generado gran controversia. Por ejemplo, en la Unión Europea el uso de radiaciones ionizantes se reguló desde 1999 y solo es aprobada en una lista bastante corta de alimentos catalogados como “hierbas aromáticas desecadas, especias y condimentos vegetales”, ya que se ha observado poca aceptación de parte de los consumidores hacia alimentos tratados con estas tecnologías (Farkas & Mohácsi-Farkas, 2011).

2.9 Tecnologías emergentes

Como se ha señalado antes, los alimentos de baja actividad de agua (como las semillas) requieren métodos de control sanitario que garanticen la conservación de vitaminas, nutrientes, antioxidantes, características físicas y sensoriales; para ello se ha propuesto el uso de nuevas tecnologías.

Las tecnologías emergentes comenzaron a surgir hace más de dos décadas, basadas en avances tecnológicos o de vanguardia para abordar problemas de productividad, ampliando la vida útil del producto sin afectar el contenido nutricional, atributos organolépticos y especificaciones del producto. A pesar de que se han desarrollado desde principios del siglo XX, sus aplicaciones para alimentos todavía están en una fase que necesita una cantidad sustancial de investigación para demostrar su factibilidad pragmática (Jermann *et al.*, 2015).

2.9.1 Luz UV-C

La luz ultravioleta es la región del espectro electromagnético que varía de 100 a 400 nm. Esta variedad puede dividirse adicionalmente y clasificarse como

UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm), UV-C (200-280 nm) y el rango de vacío UV (100-200 nm) (Baysal *et al.*, 2013).

Se ha demostrado que la luz UV-C tiene efectos letales sobre bacterias, levaduras, hongos y virus (Basyal *et al.*, 2013). Esto se debe a la capacidad de la luz UV-C para penetrar a través de la pared celular, bloqueando la transcripción de ADN y replicación, lo que finalmente detiene la capacidad del microorganismo para crecer y reproducirse (Azimi *et al.*, 2014).

Es una tecnología prometedora para la conservación de alimentos y para el aseguramiento de la inocuidad porque es barata y fácil de usar, no genera grandes cantidades de residuos químicos, y es letal para la mayoría de los microorganismos.

2.9.2 Uso de aire caliente forzado

El secado de frutas y verduras es una de las formas más antiguas de preservación de alimentos y es el proceso más usado en el mundo ya que tiene un gran efecto en la calidad de los productos secos. El objetivo principal es secar los productos agrícolas, es decir, la reducción del contenido de humedad a un nivel que permite un almacenamiento seguro durante un período prolongado (Wankhade *et al.*, 2013).

La eliminación de la humedad impide el crecimiento y la reproducción de microorganismos que causan la descomposición, y minimiza muchas de las reacciones de deterioro mediadas por la humedad (Badui Dergal, 2006).

Actualmente, el secado con aire caliente es el método más utilizado en la tecnología poscosecha de productos agrícolas. Con este método, se puede obtener un producto más uniforme, higiénico y de características organolépticas aceptables.

A pesar de que el aire caliente no se ha usado con el fin de reducir o eliminar el contenido de bacterias patógenas de un modo directo, se sabe que tiene efectos positivos para la inocuidad de alimentos. Por ejemplo, Venkitasamy *et al.* (2017) aplicaron un tratamiento con aire caliente a pistaches y lograron reducciones de *Enterococcus faecium* de hasta 6 Log UFC en periodos de aplicación de 2 y 4 horas a 70°C. Pan *et al.* (2006) y Wang *et al.* (2014) reportaron disminuciones de hasta 5

Log de esporas de *Aspergillus flavus* en granos de arroz tratado con aire caliente-IR a 60°C por 120 minutos.

2.9.3 Uso de microorganismos subrogados para la evaluación de proceso de desinfección.

La FDA define a un subrogado microbiano como una especie o cepa no patógena que responde a un tratamiento en particular de una manera equivalente a otra especie o cepa patógena (Hu & Gurtler, 2017).

Los microorganismos subrogados son cepas seleccionadas especialmente para su uso en laboratorio o industrial que disminuye significativamente el riesgo de trabajar con microorganismos patógenos en cadenas de producción de alimentos o en ambientes poco controlados.

Busta *et al.* (2003) enlistaron 8 características que debe poseer un microorganismo para ser considerado como subrogado: 1) características de crecimiento estables y consistentes; 2) facilidad para cultivar en concentraciones altas o adecuadas; 3) estabilidad en la concentración de la población hasta el momento de ser utilizados; 4) facilidad de crecimiento y contabilización; 5) fácil de diferenciar de entre la microbiota del producto; 6) capacidad de reacción similar a la del patógeno ante la presencia de factores externos; 7) no deben inducir el deterioro de los alimentos para los cuales se desean usar; 8) susceptibilidad a lesiones parecidas a las del microorganismo patógeno.

En múltiples ocasiones, cuando se desea validar el uso de alguna cepa no patógena como subrogado se recurre al análisis mediante modelos matemáticos de regresiones, numerosos estudios han demostrado que la cepa de *Enterococcus faecium* NRRL B-2354 (ATCC 8459) puede usarse como subrogado de *Salmonella enterica* en procesos de desinfección térmica debido a que su comportamiento antes el estrés es muy parecido (Hu & Gurtler, 2017).

Ceylan y Bautista (2015) evaluaron el posible uso de *E. faecium* NRRL B-2354 como un subrogado de un coctel de *S. enterica* en procesos térmicos de alimentos de baja

a_w , para su estudio se inocularon ambos microorganismos en alimento seco para mascotas (<9 % de humedad) y se evaluaron a 60, 65, 71, 76, 82 y 88°C, finalmente se concluyó que *E. faecium* NRRL B-2354 es un subrogado adecuado para su uso en validación de procesos térmicos en alimentos de baja a_w .

Por su parte la Almond Board of California (ABC), validó el uso de *E. faecium* NRRL B-2352 como un subrogado apropiado de *S. Enteritidis* PT30 en procesos de validación térmica (como el tostado) de almendras; Jeong *et al.* (2011) también validaron el uso de la misma cepa de *E. faecium* como subrogado de *Salmonella* PT30 en procesos con uso de vapor y aire húmedo en el mismo alimento.

3. OBJETIVOS

3.3 Objetivo general

Evaluar el efecto del uso de luz UV-C y aire caliente forzado en la inactivación de *E. faecium* (como subrogado de *S. enterica*) inoculado en semillas, así como en la capacidad antioxidante, composición bromatológica y el color de semillas de chíá, amaranto y ajonjolí.

3.4 Objetivos específicos

- Determinar parámetros físicos, químicos y capacidad antioxidante (contenido de fenoles totales y flavonoides) de semillas de chíá, amaranto y ajonjolí obtenidas en sitios de comercialización.
- Cuantificar el contenido de microorganismos indicadores de calidad sanitaria y determinar la prevalencia y concentración de *S. enterica* en semillas de chíá, amaranto y ajonjolí obtenidas en sitios de comercialización.
- Determinar el comportamiento de *S. enterica* en semillas de chíá, amaranto y ajonjolí bajo condiciones ambientales de almacenamiento.
- Evaluar el efecto de la aplicación de luz UV-C y aire caliente forzado en la inactivación de *E. faecium* (subrogado de *S. enterica*) inoculado sobre semillas de chíá, ajonjolí y amaranto, así como en la calidad de estas.

4. METODOLOGÍA

4.1 Materiales y Equipos

4.1.1. Alimentos secos

Semillas de chía

Semillas de ajonjolí

Semillas de amaranto

4.1.1 Material biológico

S. Enteritidis ATCC 13076

S. Typhimurium ATCC 23595

S. Typhimurium ATCC 14028

S. Thompson ATCC 8391

S. Montevideo ATCC 8387

E. faecium ATCC 8459

4.1.2 Soluciones y reactivos

Agarosa al 2, 3 y 5 % (Bioline)

Agua estéril libre de DNAsas-RNAsas (Invitrogen)

Buffer TAE 1X

Cloroformo (Sigma-Aldrich)

Etanol 75 % (preparado con agua DEPC)

Isopropanol (Sigma-Aldrich)

Marcador de peso molecular DNA 100 bp (Promega)

Soluciones de Trolox

Solución de ácido gálico (0.1 mg mL⁻¹)

Solución de carbonato de sodio (7%)

Solución salina isotónica estéril (0.085 %)

Sybr safe (Invitrogen)

4.1.3 Medios de cultivo

Agar de Bilis Azida Esculina (DIBICO)

Agar soya tripticasa (DIBICO)

Agar hierro y triple azúcar (BD Bioxon)

Agar hierro y lisina (DIBICO)

Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (BD Difco)

Agar sulfito de bismuto (DIBICO)

Agar de dextrosa y papa (DIBICO)

Caldo soya tripticasa (DIBICO)

Caldo infusión cerebro corazón (DIBICO)

Caldo urea (DIBICO)

Caldo Muller-Kauffmann Tetratonate Novobiocina (Sigma)

Caldo Rappaport Vassiliadis (BD Difco)

Caldo lauril sulfato de sodio con mug (DIBICO)

Caldo verde brillante bilis al 2% (DIBICO)

Diluyente de peptona (DIBICO)

4.1.4 Equipos

AquaLab LITE (Decagon Devises Inc.)

Cámara con lámpara UV-C

Cámara de electroforesis (BIO-RAD)

Campana de bioseguridad tipo II tipo A/B3 (LABCONCO)

Centrífuga 5702 (Eppendorf)

Equipo para aplicación de aire caliente forzado

Espectrofotómetro (NanoDrop ND-1000)

Fuente de voltaje PowerPac 200 (BIO-RAD)

Fotodocumentador de luz UV (Kodak DC190)

Homogenizador mecánico Stomacher (Seward, London, England)

Incubadora CO2 HERAcCell 150i (Thermo Scientific)

Sistema de documentación de geles Gel Doc XR (BIO-RAD)

Termociclador Mastercycler® personal (Eppendorf)

4.2 Programa de muestreo

En mercados públicos y supermercados de la ciudad de Querétaro, se colectaron muestras de semillas:

- Chía
- Ajonjolí
- Amaranto

Se realizaron dos muestreos (en junio y diciembre 2018). Se colectaron de manera aséptica 100 muestras de cada semilla en mercados de la ciudad de Querétaro. Las muestras se transportaron al Laboratorio para la Evaluación y Control de Riesgos

Microbianos en Alimentos de la Universidad Autónoma de Querétaro (LECRIMA-UAQ) para llevar a cabo los análisis físicos, químicos y microbiológicos.

4.3 Análisis bromatológicos a las semillas

Se tomaron muestras completamente aleatorizadas de cada uno de los productos y se sometieron a análisis fisicoquímicos siguiendo las determinaciones y los métodos sugeridos en la Norma Oficial Mexicana para calidad de semillas, cereales y sus subproductos (NOM-247-SSA1-2008). Todas las pruebas se hicieron por triplicado

4.3.1 Humedad

Se tomaron porciones de 10 g de cada producto y se colocaron en una cápsula (previamente tarada) en la estufa a 95°C hasta que el peso fue constante (NMX-F-083-1986).

4.3.2 pH

Se tomaron porciones de 10 g de cada producto y se trituraron en mortero, se mezclaron con 2 mL de agua destilada hasta formar una pasta. Luego se sumergió el electrodo del potenciómetro (previamente calibrado) y se midió el valor de pH.

4.3.3 Actividad de agua (a_w)

Se usó un Aqualab (previamente calibrado) con higrómetro a punto de rocío, según la AOAC, 978.18. Se colocaron las muestras en charolas y se midió la a_w de acuerdo con las especificaciones del equipo.

4.4 Capacidad antioxidante

La actividad antioxidante de los frutos se evaluó utilizando dos métodos antioxidantes: DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazilo) (AOAC 22) y ABTS ((2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio)) (AOAC 23). Los resultados se expresaron en equivalentes de Trolox por gramos de muestra seca.

4.4.1 Extracción de los compuestos antioxidantes

Se tomó 1 g de cada muestra de alimento por separado y se extrajo con una mezcla de metanol: agua (80:20 v/v) acidificada con HCl (0.1%) (Ariza *et al.*, 2018). Los extractos se agitaron durante 2 horas a temperatura ambiente y en ausencia de luz para finalmente ser centrifugados a 3000 rpm durante 15 minutos, se filtraron y el sobrenadante se congeló a -80°C hasta su utilización. Todas las extracciones se hicieron por triplicado.

4.4.2 Técnica DPPH

Se preparó una solución patrón disolviendo 2 mg de trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) en 10 mL de metanol al 80%. Se realizaron diluciones (Tabla 6) para elaborar la curva estándar. Para preparar el radical DPPH se pesaron 1.5 mg de DPPH en un matraz aforado (previamente aforado y protegido contra la luz), y se disolvió con 20.5 mL de metanol al 80%, se completó el aforo con agua destilada; la solución se sonicó durante 5 minutos.

Para medir el poder antioxidante se tomaron alícuotas de distintos volúmenes (los mismos que para trolox referidos en la Tabla 6. Curva estándar de trolox para DPPH de los extractos de cada muestra y se colocaron en una microplaca de 96 pozos, luego se adicionó (con ayuda de una pipeta multicanal) 200 μ L de DPPH y se dejó reposar por 6 minutos protegido de la luz. Finalmente se leyó la microplaca a 520 nm durante 0, 4, 10, 30, 60 y 90 minutos (Brand-Williams *et al.*, 1995). Los resultados se expresaron en equivalentes de trolox/g de muestra seca.

Tabla 6. Curva estándar de trolox para DPPH

Tubo	Solución trolox (μL)	Metanol (μL)
1	10	990
2	20	980
3	50	950
4	100	900
5	200	800
6	400	600
7	600	400
8	800	200

4.4.3 Técnica ABTS

Se preparó una solución patrón disolviendo 2.5 mg de trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) en 10 mL de metanol al 80%. Se realizaron diluciones para elaborar una curva estándar (Tabla 7).

Tabla 7. Curva estándar de trolox para ABTS

Tubo	Solución de trolox (μL)	Metanol (μL)
1	5	995
2	10	990
3	25	975
4	50	950
5	100	900
6	500	500
7	600	400

Para preparar el radical, se pesaron 19.2 mg de ABTS en un matraz aforado (protegido de la luz) y se disolvieron con 5 mL de agua HPLC; por otro lado, se preparó una solución 140 μL de persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) usando agua HPLC.

Se tomaron 5 mL de la solución de ABTS y se mezclaron con 88 μL de la solución de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ en un vial ámbar y se incubó durante 12 horas a temperatura ambiente con la finalidad de la formación del radical. Pasadas las 12 horas de incubación, se tomaron 500 μL de la solución incubada y se mezcló con 24 mL de etanol y se comprobó que esta solución tenía una absorbancia de entre 0.7 y 1 (usando un espectrofotómetro a 730 nm).

Para elaborar la curva estándar se usó una microplaca de 96 pozos y en cada pozo se pusieron 230 μL de la solución anteriormente preparada de ABTS y 20 μL de solución de trolox (de acuerdo con las concentraciones de la Tabla 8).

Para medir el poder antioxidante se tomaron alícuotas de distintos volúmenes (los mismos que para trolox de la Tabla 7) de los extractos de cada muestra y se colocaron en una microplaca de 96 pozos, luego se adicionó (con ayuda de una pipeta multicanal) 230 μL de la solución de ABTS y se dejó reposar por 6 minutos protegido de la luz para finalmente ser leídas a 734 nm (Pellegrini *et al.*, 1999).

4.5 Contenido fenólico total (CFT)

El CFT se estimó utilizando el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Cai. *et al.*, 2004). Se preparó una solución patrón de ácido gálico (0.1 mg mL^{-1}), reactivo de Folin-Ciocalteu (1 N) y una solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 7% y se realizaron diluciones para elaborar una curva estándar (Tabla 8).

Tabla 8. Curva estándar de ácido gálico para CFT.

Tubo	Solución de ácido gálico (μL)	Agua HPLC (μL)	Reactivo de Folin (μL)	Na_2CO_3 (μL)
1	0	500	250	1250
2	20	480	250	1250
3	40	460	250	1250
4	80	420	250	1250
5	100	400	250	1250
6	120	380	250	1250
7	160	340	250	1250

8	200	300	250	1250
9	300	200	250	1250
10	400	100	250	1250
11	500	0	250	1250

Los tubos se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente y en la oscuridad, finalmente se midió la absorbancia a 760 nm.

Para medir el CFT de las muestras, se tomaron alícuotas de distintos volúmenes (los mismos que de ácido gálico de la Tabla 9), se complementaron con los demás reactivos, se incubaron a las mismas condiciones que la curva de calibración y se midió la absorbancia a 760 nm. Los resultados se expresaron como equivalente de ácido gálico (GAE), es decir, mg de ácido gálico/g de peso seco de las muestras.

4.6 Contenido total de flavonoides

Se llevó a cabo mediante la metodología propuesta por Adom & Liu (2002). Se utilizó una solución estándar de rutina (2.5 mg mL^{-1}) para hacer una curva estándar (Tabla 9).

Tabla 9. Curva estándar para determinación de flavonoides totales.

Tubo	Solución de rutina (μL)	Metanol (μL)
1	0	2000
2	4	1996
3	8	1992
4	16	1984
5	40	1960
6	80	1920
7	160	1840
8	320	1680

Se tomaron 50 μL de cada una de las concentraciones de la curva de calibración y se colocaron en una microplaca con 120 μL de una solución de 2-aminoetilfenilborato al 1 % y se leyó la absorbancia a 404 nm.

Para determinar la cantidad de flavonoides totales en las muestras se tomaron 50 μL de cada una de las muestras, se adicionaron 180 μL de metanol y 20 μL de la solución de 2-aminoetilfenilborato al 1% y se leyó la absorbancia a 404 nm. Este procedimiento se hizo por triplicado para cada muestra.

4.7 Análisis microbiológicos

4.7.1 Cuantificación de microorganismos indicadores

Se pesaron porciones de 10 g de muestra y se les adicionaron 90 mL de diluyente de peptona. Las muestras se mezclaron en un homogenizador mecánico (*Stomacher*) por un minuto y se prepararon series de diluciones decimales en tubos con diluyente de peptona. Se llevó a cabo la cuantificación de microorganismos indicadores (bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales, *E. coli*, mohos y levaduras).

4.7.1.1 Bacterias mesófilas aerobias (BMA)

El recuento de BMA se llevó a cabo mediante la técnica de vaciado en placa en agar cuenta estándar, con condiciones de incubación de $35 \pm 1^\circ \text{C}$ por 48 h (NOM-092-SSA1-1994).

4.7.1.2 Coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *E. coli*

La cuantificación de los CT, CF y *E. coli* se realizó mediante la técnica de número más probable (NMP) (NOM-112-SSA1-1994). Para la prueba presuntiva se empleó una batería de 9 tubos con caldo lactosado los cuales se incubaron a $35 \pm 1^\circ \text{C}$ por 48 h. De cada tubo positivo (los que presentaron turbidez y formación de gas dentro del tiempo de incubación) se tomaron alícuotas (100 μL cada una) y se inocularon por separado dos tubos con caldo lactosa bilis verde brillante (CLBVB) (3 mL), un tubo con caldo lauril sulfato con MUG (3 mL) y otro con agua peptonada (1 mL). Uno

de los tubos con CLBVB se incubó a $35 \pm 1^\circ \text{C}$ por 48 h; el tubo restante de CLBVB, el de caldo lauril sulfato con MUG y el tubo de agua peptonada se incubaron a 44.5°C en un baño de precisión durante 48 h. Para el CLBVB la presencia de gas evidenció que la prueba fue positiva y para el caldo lauril sulfato con MUG el tubo fue positivo debido a la formación de gas y fluorescencia a luz UV (365 nm). La producción de indol con el reactivo de Kovac se evidenció en los tubos de agua peptonada.

4.7.1.3 Mohos y levaduras

Se llevó a cabo por la técnica de vaciado en placa en agar papa dextrosa enriquecido con ácido tartárico al 10 % a pH 3.5. Las cajas se incubaron a $25 \pm 1^\circ \text{C}$ por un lapso de 120 h (NOM-111-SSA1-1994).

4.7.2 Detección de *Salmonella* spp.

Se siguió el procedimiento descrito en la NOM-210-SSA1-2014. Brevemente, se pesaron 25 g de muestra en condiciones asépticas en un frasco estéril de boca ancha y tapa de rosca de 500 mL. Se agregaron 225 mL de caldo soya tripticasa. Se mezclaron y dejaron en reposo con la tapa bien cerrada, durante 60 ± 5 min a temperatura ambiente. Finalmente se aflojó la tapa a 1/4 de vuelta y se incubó durante 24 ± 2 h a $36 \pm 1^\circ \text{C}$.

Finalizada la incubación se tomó una alícuota de 1 mL de la muestra pre-enriquecida y se transfirió a un tubo del 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RVS) y 1 mL a un tubo con 10 mL de caldo Tetrionato-Novobiosina (MKTTn). Se incubó el caldo RVS a $41.5 \pm 1^\circ \text{C}$ por 24 ± 3 h y el caldo MKTTn a $36 \pm 1^\circ \text{C}$ por 24 ± 3 h. Posteriormente se procedió al aislamiento de *Salmonella* en los medios selectivos agar XLD y ASB. Las colonias sospechosas de ser pertenecientes al género *Salmonella* se inocularon en agar TSI (triple azúcar hierro), agar LIA (agar lisina-hierro) y en caldo urea para realizar una confirmación bioquímica; a las colonias con la morfología característica se les hicieron pruebas serológicas mediante el uso de suero polivalente *Salmonella* O Antiserum Poly A-I & Vi. Finalmente se hizo la confirmación mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR).

4.7.2.1 Confirmación de *Salmonella* mediante PCR

La mezcla de reacción se preparó con 10 µL de GoTaq Colorless Master Mix 2x, 0.77 µL *InvA* F primer (1.25 mM) (CGCGCGTTGATGAGCTTTACC) (Sigma Aldrich), 1.14 µL *InvA* R primer (1.25 mM) (CTCGTAATTCGCCGCCATTG) (Sigma Aldrich), 7 µL agua libre de RNasas y 1 µL de ADN de la muestra por cada reacción.

La confirmación mediante PCR se realizó en 30 ciclos según las condiciones propuestas por Liu *et al.*, 2002 (Tabla 10).

Tabla 10. Condiciones de PCR para *Salmonella*.

Etapa	Condiciones
Desnaturalización	95°C/5 min
Desnaturalización (30 ciclos)	95°C/30 s
Alineación	60°C/90 s
Extensión	72°C/90 s
Extensión final	72°C/5 min

Posteriormente los productos amplificados se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 2 % a 100 W durante 30 minutos, transcurrido este tiempo se observó el gel de agarosa en un fotodocumentador de luz UV (Kodak DC190) para analizar el tamaño de las ampliaciones generadas.

Finalmente, las cepas de *Salmonella* se almacenaron a -70°C para llevar a cabo estudios posteriores.

4.7.2.2 Cuantificación del contenido de *Salmonella* en semillas

Una vez seleccionadas aquellas muestras en las que *Salmonella* estuvo presente, se cuantificó su contenido mediante la técnica de número más probable (NMP) de acuerdo con el Bacteriological Analytical Manual (BAM, 2008) y las normativas mexicanas (NOM-SSA1-210-2014).

4.8 Evaluación del comportamiento de *S. enterica* en semillas.

4.8.1. Preparación del inóculo

Cinco cepas de *S. enterica* (*S. Enteritidis* ATCC 13076, *S. Typhimurium* ATCC 23595, *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. Thompson* ATCC 8391 and *S. Montevideo* ATCC 8387) resistentes a rifampicina fueron incubadas, de manera independiente, en caldo soya tripticaseína (Bioxon, BD) a 35° C por 24 h. Las cepas se lavaron dos veces en solución salina isotónica (NaCl, 0.085%) y las células fueron resuspendidas en solución amortiguadora de fosfatos a pH 7.2. Volúmenes iguales de cada una de las cepas fueron mezcladas en un tubo estéril y se hicieron diluciones decimales en diluyente de peptona. La concentración final del coctel de cepas fue calculada mediante la técnica de extensión en superficie en agar soya tripticaseína (Bioxon BD) suplementada con rifampicina (200 ppm). Las placas fueron incubadas a 35° C por 24 h.

4.8.2. Inoculación de las muestras.

Un kg de semillas de chíá, amaranto y ajonjolí se extendieron de manera independiente en charolas de acero inoxidable estériles y se colocaron en el interior de una campana de bioseguridad. Se inocularon por aspersion con 15 mL de un coctel de 5 cepas de *S. enterica enterica* (*S. Enteritidis* ATCC 13076, *S. Typhimurium* ATCC 23595, *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. Thompson* ATCC 8391 and *S. Montevideo* ATCC 8387) resistentes a rifampicina (8 Log UFC mL⁻¹). Las semillas inoculadas se secaron durante 45 min en el interior de la campana de flujo laminar (hasta alcanzar la a_w inicial), se determinó la concentración final de *S. enterica* mediante recuentos de diluciones seriadas en placas de AST con rifampicina (200 ppm) y luego se almacenaron en bolsas de plástico herméticamente selladas a temperatura ambiente y protegidas de la luz.

4.8.3 Cuantificación de *Salmonella*.

En periodos de 48, 72 y 242 h, se cuantificó la población de *Salmonella* empleando la técnica de extensión en superficie en placas de agar soya tripticasa adicionado de rifampicina (200 ppm); las placas se incubaron a 35°C durante 24 h (Gabriel, Tongco, & Barnes, 2017).

Finalmente, los resultados obtenidos se modelaron mediante el modelo de Baranyi (Baranyi & Roberts, 1994) usando el programa DMfit v3.0 (ComBase; <http://www.combase.cc/tools/>) y se calculó la tasa de inactivación.

4.9 Verificación del uso de *E. faecium* como subrogado de *S. enterica*

Para verificar el uso de *E. faecium* como subrogado de *S. enterica* se determinó su comportamiento en semillas. Para ello se inoculó 1 Kg de cada una de las semillas con 15 mL del microorganismo ($8 \text{ Log UFC mL}^{-1}$) resistente a rifampicina (100 ppm) siguiendo la metodología descrita en el apartado 4.8. Periódicamente (cada 24 y 48 h) se cuantificó la población de *E. faecium* en Agar Soya Trypticaseína adicionada con rifampicina (100 ppm).

Los resultados fueron comparados con los obtenidos del comportamiento de *S. enterica* y se determinó la similitud estadística.

4.10 Aplicación de radiación UV-C y aire caliente para la descontaminación de semillas

La evaluación del efecto de la luz UV-C y de aire caliente se llevó a cabo en el Centro de Investigación en Ciencias Aplicadas y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional Campus Querétaro. Se diseñaron los equipos tomando en cuenta el tipo de alimento a tratar.

4.10.1 Preparación de las muestras

Se adquirieron semillas de chíá, amaranto y ajonjolí en establecimientos de la ciudad de Querétaro de calidad promedio, tamaño uniforme y libre de suciedad

aparente. Las semillas se extendieron sobre charolas estériles y se les midió la a_w (Ver apartado 4.4.3).

4.10.2 Preparación del inóculo.

Se preparó el inóculo a partir del *E. faecium* (subrogado de *Salmonella*) almacenado a -70°C en caldo soya tripticaseína con glicerol al 15 %.

Se tomaron tres porciones de 100 μL del cultivo *E. faecium* y se transfirieron a tubos con 3 mL de caldo soya tripticaseína y se incubaron a 35°C por 24 h; este procedimiento se realizó en tres ocasiones consecutivas. Una vez realizados los 3 pases se realizó una centrifugación a 15000 rpm durante 2 minutos, seguido de un lavado con solución salina isotónica estéril al 0.085%, se realizó nuevamente una centrifugación y otro lavado con solución salina; las células lavadas se suspendieron en diluyente de peptona en botellas estériles con aspersores para ser empleados en la inoculación de las muestras.

4.10.3 Inoculación de las muestras.

Se tomaron porciones de 25 g de cada una de las semillas y se extendieron en una charola estéril dentro de una campana de bioseguridad. Cada porción se inoculó por aspersión con 3 mL del inóculo de *E. faecium* con una concentración de 8 Log UFC mL^{-1} se secaron a flujo laminar durante 45 minutos.

Para verificar la presencia de *E. faecium* se hicieron recuentos antes y después del secado mediante la técnica de extensión en superficie en placas de agar selectivo ABAE; las placas se incubaron a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 h.

4.10.4 Exposición a UV-C

Se diseñó un equipo de UV-C que constaba de un tubo de acrílico envuelto por una capa externa de aluminio, y en el interior una lámpara de luz UV-C (254 nm) (EVANS) de 6 x 6 x 60 cm. (Ver anexo 1).

Se colocaron 10 y 30 g (de manera independiente) de cada tipo de semilla (inoculada previamente) en el equipo a no más de 2 cm de distancia con la lámpara

emisora. Se sometieron a radiación UV-C usando una potencia constante de 4 kJ/m² (Li *et al.*, 2014), en una campana de bioseguridad, usando vueltas germicidas fluorescentes (GE 30 W) con un pico de emisión de 254 nm.

La dosis de radiación se varió usando el tiempo de exposición entre 1 y 5 minutos, mientras que la intensidad de radiación se mantuvo constante a 21.2 W/m².

4.11 Exposición a aire caliente

El equipo constaba de una pistola de aire caliente (STEINEL) con control de temperatura y flujo de aire sujeta a un soporte universal mediante un anillo de metal y un tazón de vidrio refractario cubierto por una malla de metal de 0.25 mm de poro y una base giratoria de metal y madera (Ver anexo 2).

Se tomaron como referencia la metodología propuesta por Venkitasamy *et al.*, (2017). Se tomaron 10 y 50 g (de manera independiente) de cada tipo de semilla previamente inoculadas con *E. faecium* y se transfirieron al recipiente del secador de aire caliente forzado a flujo de aire constante de 1 m/s, los tiempos probados fueron de 1 a 5 minutos y las temperaturas 100, 120 y 140°C.

4.12 Cuantificación de *E. faecium*

Después de la aplicación de los tratamientos de luz UV-C y aire caliente se cuantificó la población de *E. faecium* sobreviviente mediante la técnica de extensión en superficie en medio selectivo ABAE. Las placas se incubaron a 36 ± 1°C por 24 h.

Para cada tratamiento se calcularon los valores de reducción de las poblaciones microbianas, se construyeron las gráficas de muerte y se calcularon las ecuaciones de la recta en base a un modelo lineal.

Con la ecuación de la recta se calculó el valor D para cada tecnología y para tiempo de exposición de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$D_t = \frac{1}{b}; b = \text{valor de la pendiente}$$

4.13 Determinación de la capacidad antioxidante, composición bromatológica y color en las semillas tratadas.

Semillas no inoculadas se sometieron a los tratamientos de UV-C y aire caliente que mostraron la mayor tasa de inactivación de *E. faecium*. A las semillas tratadas se les determinó el poder antioxidante de acuerdo con la metodología propuesta en el apartado 4.2., y los cambios en la composición bromatológica se midieron de acuerdo con la metodología descrita en el apartado 4.3.

El color se midió con un colorímetro (modelo Color-Snap de Sherwin Williams) y se determinaron las variables a^* , b^* y L . Se calculó el ΔE para conocer los cambios de color totales en cada tipo de semilla.

4.14 Análisis estadístico

Los resultados del contenido de microorganismos indicadores fueron transformados a Log UFC g^{-1} y se calcularon las medianas. Se aplicó una comparación no paramétrica de las poblaciones microbianas mediante la prueba de Wilcoxon/Kruskal-Wallis. El contenido de *S. enterica* se expresó en Log NMP g^{-1} y la prevalencia en porcentaje (%).

Para la comparación del comportamiento de *E. faecium* y *S. enterica*, en las tres especies de semillas analizadas, se usó un análisis de varianza (ANDEVA) bajo la hipótesis de que las medias de ambas poblaciones a los distintos tiempos de exposición eran iguales.

Para cada tratamiento de exposición a luz UV-C y aire caliente se seleccionaron las mejores condiciones de acuerdo con un modelo bifactorial completamente aleatorizado en donde la variable respuesta fue la tasa de inactivación de *E. faecium* para ambos casos. Para comparar los resultados de las reducciones se aplicó un ANDEVA de una vía.

Para la comparación del comportamiento de *E. faecium* y *S. enterica* se usó un ANDEVA bajo la hipótesis de que las medias de ambas poblaciones a los distintos tiempos de exposición eran iguales.

Todas las pruebas estadísticas se hicieron empleando el programa JMP 10.0.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC) y los gráficos fueron modelados en GraphPad Prism 5.0.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Caracterización física, química y bromatológica de semillas de chía, amaranto y ajonjolí.

Las semillas de las tres especies analizadas poseen una actividad de agua (a_w) <0.8 , lo cual confirma su clasificación como alimentos de baja actividad de agua, mientras que el pH de las semillas es cercano a la neutralidad (Tabla 11). Los valores obtenidos para ambos parámetros sugieren que las semillas no son perecederas si se conservan en condiciones de baja humedad relativa (Badui-Dergal, 2006). En relación con los análisis bromatológicos, el amaranto mostró el mayor porcentaje de carbohidratos (69.1 %), mientras que el ajonjolí contiene la mayor concentración de lípidos (45.1 %) y proteínas (23.8 %). Éstos resultados coinciden sensiblemente con lo reportado por Paula *et al.* (2013); Hassan *et al.* (2018) y Bojórquez-Velázquez *et al.* (2018)

Tabla 11. Caracterización bromatológica de las semillas

Semilla	a_w	pH	Humedad ¹	Lípidos ²	Proteínas ²	Minerales ²	Carbohidratos ²
g 100 g ⁻¹							
Chía	0.46	7.14	4.65 ± 0.54	33.93 ± 0.84	20.65 ± 0.95	6.09 ± 0.55	34.68 ± 0.43
Amaranto	0.51	7.22	4.49 ± 0.70	6.57 ± 0.07	16.70 ± 0.17	3.13 ± 0.18	69.10 ± 0.38
Ajonjolí	0.49	7.06	3.04 ± 0.37	45.07 ± 2.85	23.80 ± 0.47	6.25 ± 0.61	21.82 ± 0.27

¹ Media de 5 muestras; ² Media de 3 muestras. Los resultados se expresan en base seca

Los nutrientes presentes en las semillas podrían representar un excelente sustrato para el desarrollo de las bacterias y en algunos casos también una barrera de protección para los microorganismos. Por ejemplo, se ha reportado que los lípidos presentes en el chocolate proporcionan una barrera protectora para que *S. enterica* sobreviva a pesar de la baja humedad del producto (Nascimento *et al.*, 2015; D'Aoust *et al.*, 2013).

5.2 Contenido fenólico total (CFT), flavonoides y capacidad antioxidante en las semillas.

Los compuestos fenólicos, constituidos por flavonoides, ácidos fenólicos y taninos, determinan la capacidad antioxidante de un producto y como se ha mencionado con anterioridad, éstos compuestos presentan propiedades biológicas y nutricionales importantes para la salud humana. Dichos compuestos neutralizan las especies reactivas de oxígeno colaborando, así, en la reducción de la degradación de biomoléculas (Mercado-Mercado *et al.*, 2013). Por otro lado, el consumo de compuestos antioxidantes reduce la producción de compuestos terminales de la oxidación lipídica en el sistema digestivo (Ariza *et al.*, 2018).

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, se observa que las semillas de las tres especies analizadas presentan valores importantes de capacidad antioxidante. Específicamente las semillas de chía presentaron mayor contenido de flavonoides totales ($0.083 \text{ mg QE g}^{-1}$) y contenido fenólico total ($0.22 \text{ mg EAG g}^{-1}$) que las semillas de amaranto y ajonjolí. En cuanto a la capacidad antioxidante, independientemente del método empleado las semillas de chía mostraron también los valores más altos ($5.42 \text{ mM TE g}^{-1}$ para ABTS y 0.9 mM TE g^{-1} para DPPH), seguido de las semillas de amaranto (5.38 y $0.83 \text{ mM ET g}^{-1}$, por el método ABTS y DPPH, respectivamente) y finalmente las semillas de ajonjolí (3.67 y $0.81 \text{ mM ET g}^{-1}$, por el método ABTS y DPPH, respectivamente).

Tabla 12. Contenido total de flavonoides, fenólico total (CFT) y capacidad antioxidante en semillas

Semilla	Flavonoides	CFT	Capacidad antioxidante	
	(mg QE g ⁻¹)	(mg GAE g ⁻¹)	Método ABTS	Método DPPH
			(mM TE g ⁻¹)	
Chía	0.083 ± 0.04 ^a A	0.224 ± 0.005 ^a A	5.42 ± 0.13A	0.900 ± 0.03A
Amaranto	<0.08	0.025 ± 0.001B	5.38 ± 0.13A	0.828 ± 0.01A
Ajonjolí	<0.08	0.035 ± 0.003C	3.67 ± 0.16B	0.812 ± 0.00A

^a Se muestra la media ± desviación estándar (N=9), letras distintas indican diferencias estadísticas (p < 0.05)

*Valores por debajo del límite de detección de la técnica (<0.08 mg QE g⁻¹)

CFT: contenido fenólico total

QE: equivalentes de quercetina

GAE: equivalentes de ácido gálico

TE: equivalente de trólox

Los valores del contenido de flavonoides, contenido fenólico total y capacidad antioxidante en las tres especies de semillas en nuestro estudio coinciden con los reportado por otros autores (Alcántara *et al.*, 2018; Alghawi *et al.*, 2017; Bodoira *et al.*, 2017; Oliveira-alves *et al.*, 2017).

El hecho de que las semillas de chía presentaron un mayor contenido de compuestos fenólicos y, por ende, de capacidad antioxidante, puede asociarse a la presencia de ácido omega-3 (presente en el aceite de la semilla) (Ixtaina *et al.*, 2011) y a la cantidad significativa de la fibra dietaria proveniente, en su mayor parte, del polisacárido mucilaginoso que rodea a la semilla (Muñoz *et al.*, 2013).

5.3 Cuantificación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria.

Durante los meses de junio (2018) a febrero (2019) se colectaron de mercados, supermercados y vendedores ambulantes de la ciudad de Querétaro, 100 muestras de cada una de las semillas seleccionadas para este estudio.

Tabla 13. Contenido de microorganismos indicadores en semillas comercializadas en Querétaro

Semilla	BMA	Mohos	Levaduras	CT	CF
	Log UFC g ⁻¹			Log NMP g ⁻¹	
Chía	2.1 (<1.0-5.1) ^a A	<1.0 (<1.0-3.0)A	<1.0 (<1.0-4.5)A	0.48 (<0.48-3.0)A	<0.48 (<0.48-3.0)A
Amaranto	2.4 (<1.0-5.5)A	<1.0 (<1.0-2.3)A	<1.0 (<1.0-4.6)A	0.48 (<0.48-3.0)A	0.48 (<0.48-3.0)B
Ajonjolí	3.8 (<1.0-5.3)B	<1.0 (<1.0-2.5)A	2.3 (<1.0-5.4)B	0.56 (<0.48-3.0)A	0.48 (<0.48-3.0)B

^a Los datos representan la mediana y el rango de 100 muestras. Los valores de las medianas, seguidos de letras distintas, expresan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) usando una comparación no paramétrica de Wilcoxon/Kruskal Wallis.

CT: Coliformes Totales

CF: Coliformes fecales

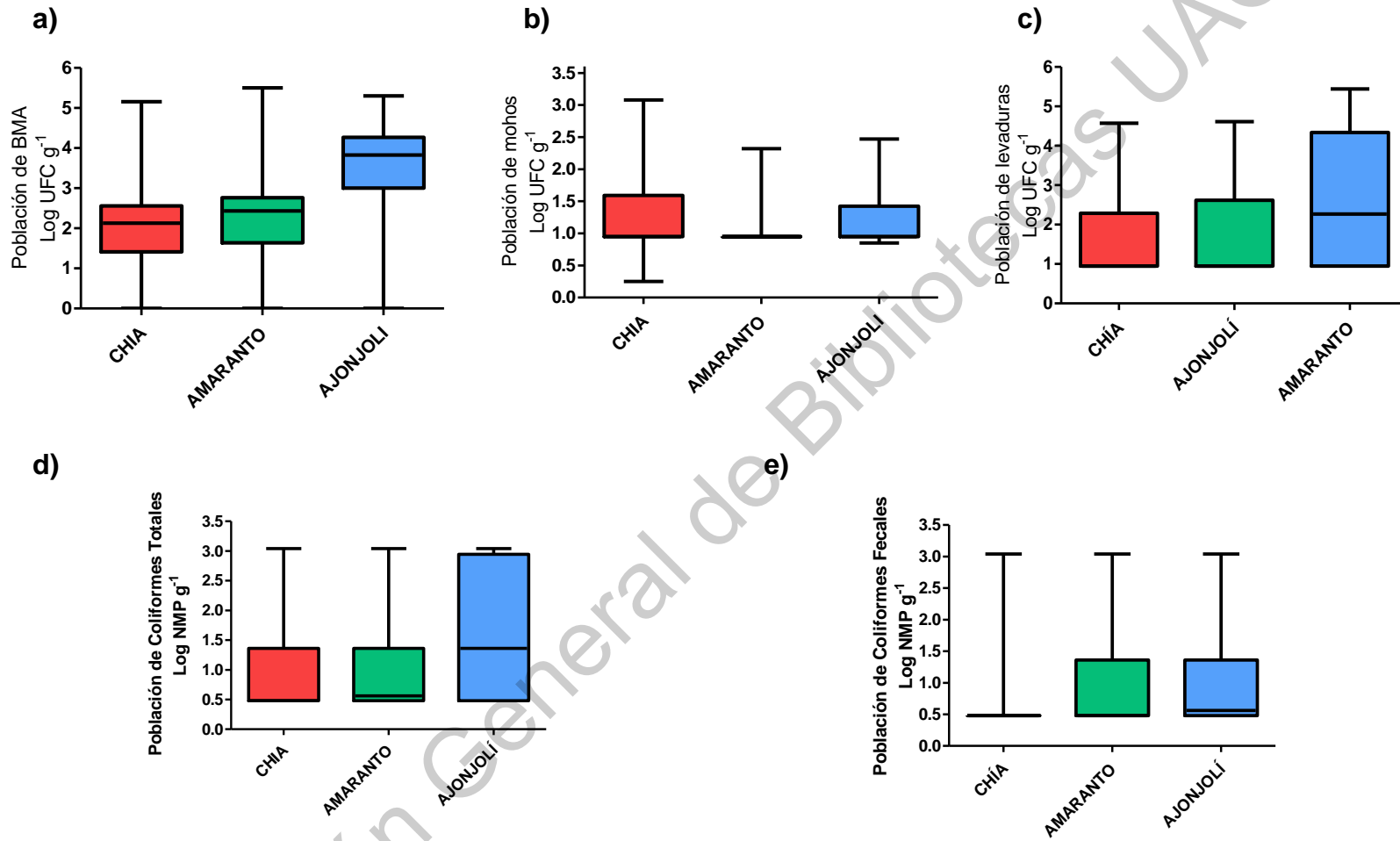


Figura 2. Diagrama de caja y brazos del contenido de bacterias mesófilas aerobias (a), mohos (b), levaduras (c), coliformes totales (d) y coliformes fecales (e) en semillas de chíá, amaranto y ajonjolí. En el gráfico se muestran los valores de la mediana, percentiles (25 y 75 %) y valores mínimos y máximos de 100 muestras analizadas.

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y la Figura 2 se muestran los resultados del contenido de microorganismos indicadores de calidad sanitaria de las semillas de chíá, amaranto y ajonjolí comercializadas en la ciudad de Querétaro.

El contenido de BMA en las semillas de ajonjolí, amaranto y chíá fue de 3.8, 2.4 y 2.1 Log UFC g⁻¹, respectivamente. En todos los casos, los valores de la mediana estuvieron por debajo del límite máximo permitido establecido por la normatividad mexicana (NOM-247-SSA1-2008) para cereales y semillas comestibles (<4 Log UFC g⁻¹).

En la Figura 2 (a) se puede observar que a pesar de que el valor de la mediana de las BMA en los tres productos analizados se encuentra dentro de los límites de calidad que marca la normativa mexicana, los rangos son muy amplios, de tal manera que existen muestras en donde el valor de BMA sobrepasa el límite de aceptación. Un alto contenido de BMA en las muestras evidencia un mal manejo del producto durante su cadena venta.

En el caso del contenido de mohos, en general se encontraron niveles por debajo de los límites de detección de la técnica (<1.0 Log UFC g⁻¹) y por lo tanto el valor de la mediana se encontró dentro de los límites establecidos (<2.47 Log CFU g⁻¹) en la norma para calidad microbiológica en granos y semillas comestibles (NOM-247-SSA1-2008); sin embargo, en el caso de ajonjolí y amaranto algunos valores máximos observados estuvieron muy cerca al límite máximo permitido.

Por otro lado, el contenido de levaduras encontrado en las semillas de chíá y amaranto también estuvieron por debajo del límite de detección de la técnica, mientras que para el ajonjolí se obtuvieron concentraciones de 2.3 Log UFC g⁻¹. La regulación mexicana no especifica los límites de levaduras permitidos en semillas.

En el caso del contenido de coliformes totales fueron muy similares en las tres especies de semillas (0.53 Log NMP g⁻¹ en ajonjolí y 0.45 Log NMP g⁻¹ en amaranto y chíá). En las tres semillas el valor de la mediana cae dentro de los valores establecidos por las instancias mexicanas de calidad (<1.47 Log NMP g⁻¹); sin embargo, nuevamente el valor máximo observado sobrepasa los valores permitidos

para este grupo de microorganismos. En los tres tipos de semillas se encontraron muestras con presencia de coliformes fecales en bajas concentraciones (0.48 a 1.63 Log NMP g⁻¹).

Finalmente, *E. coli* estuvo presente en todos los productos analizados, siendo la semilla de ajonjolí la que presentó la mayor prevalencia (6 %) seguida del amaranto (4 %) y el ajonjolí (1 %) (Tabla 16). La concentración de *E. coli* en las muestras positivas fue baja y osciló entre 0.48 y 1.63 Log NMP g⁻¹. La presencia de este microorganismo en las semillas indica contaminación de origen fecal y podría deberse, entre otras razones, a que este tipo de productos son cosechados a nivel del suelo y a la técnica de secado tradicional en sistemas solares al aire libre.

Tabla 14. Prevalencia y contenido de *E. coli* en semillas colectadas en la ciudad de Querétaro

Semilla	Prevalencia % (P/n) ^a	Contenido Log NMP g ⁻¹
Chía	1	<0.48 (<0.48-1.36) ^b B
Amaranto	4	0.48 (<0.48-1.36)B
Ajonjolí	6	0.48 (<0.48-1.63)B

^a Porcentaje de muestras positivas (Número de muestras positivas/Número total de muestras analizadas).

^b Los valores seguidos de diferentes letras representan diferencias estadísticamente representativas (P < 0.05).

Como se ha mencionado con anterioridad, existe una gran variabilidad en el contenido de los grupos de microorganismos indicadores en las tres especies de semillas. Éste hecho podría ser atribuido a la diversidad de fuentes de contaminación a las que las semillas son expuestas durante el almacenamiento, distribución y venta, que pueden comprometer no solo la calidad, sino también la inocuidad microbiana de los productos.

De manera general, los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con otros estudios en donde se hace referencia al contenido de microorganismos indicadores en alimentos de baja actividad de agua. Comi & Iacumin (2018) reportaron contenidos de $<4.1 \text{ Log UFC g}^{-1}$ de BMA, $<3.1 \text{ Log UFC g}^{-1}$ de coliformes totales y $<1 \text{ Log CFU g}^{-1}$ de *E. coli* en frijol mungo en un periodo de monitoreo de 5 años. Mientras que Eglezos (2010) reportó un contenido de $2.5 \text{ Log UFC g}^{-1}$ de BMA para cacahuates, almendras, nueces de Brasil, nueces de la India y avellanas.

5.4 Prevalencia y contenido de *Salmonella* spp. en semillas

La prevalencia de *Salmonella* spp. en las semillas distribuidas en la ciudad de Querétaro es muy alta (Tabla 14). En semillas de chíá fue del 31 %, mientras que en amaranto y semillas de ajonjolí fue de 15 y 12 %, respectivamente.

Tabla 14. Prevalencia y concentración de *Salmonella* spp. en semillas colectadas en la ciudad de Querétaro.

Semilla	Prevalencia	Concentración
	% (P/n) ^a	Log NMP g ⁻¹
Chía	31	0.56 (<0.48-1.88) ^b B
Amaranto	15	0.48 (<0.48-1.66)A
Ajonjolí	12	0.56 (<0.48-1.63)B

^a Porcentaje de muestras positivas (número de muestras positivas/número total de muestras analizadas)

^b Los valores seguidos de letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

Los reportes de prevalencia de *Salmonella* spp. y otros patógenos en semillas es limitado. Eglezos *et al.* (2008) reportaron una prevalencia de *S. enterica* de 1.7 % en almendras crudas, mientras que Little *et al.* (2010) encontraron que en el mismo producto en un estudio realizado en un periodo de 5 años, el patógeno estaba presente en el 0.87 % de las muestras.

En México, la información referente a la prevalencia de *Salmonella* en semillas es escasa. Aguilar-Vázquez *et al.* (2015) reportaron una prevalencia de *S. enterica* del 31 % en cacahuate crudo, 40 % en nuez pecanera, 30 % en uva pasa, 56 % en jitomate deshidratado y 26 % en chocolate.

Es importante destacar que cuando *Salmonella* spp. estuvo presente en las semillas de chíá, amaranto y ajonjolí, su concentración fue baja y osciló entre 0.48 y 1.88 Log NMP g⁻¹.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio reflejan que la baja A_w y el alto contenido de compuestos antioxidantes (con potencial antimicrobiano) en las semillas, no impiden la supervivencia de bacterias patógenas como *Salmonella*. Beuchat & Mann (2015), observaron que *Salmonella* es una bacteria que se adapta bastante bien a los ambientes de baja actividad de agua ya que evidenciaron su presencia en uva pasa, fresas y arándanos deshidratados y almacenados en condiciones ambientales de temperatura.

La presencia de *Salmonella* en semillas mexicanas podría deberse a una contaminación de origen o bien, a una recontaminación durante el proceso de distribución, ya que como se ha mencionado con anterioridad, fueron colectadas de mercados tradicionales, supermercados y vendedores ambulantes que recurren en la venta a granel de estos alimentos.

Por otro lado, a pesar de que las semillas se someten algunas veces a un proceso de tostado (temperaturas entre los 60 y 100°C), dichos tratamientos no resultan efectivos para la eliminación de bacterias patógenas en las semillas analizadas en este trabajo. Farakos *et al.* (2017), demostraron que *Salmonella* tiene una alta resistencia a la inactivación en productos de baja a_w , como nuez pecanera y mantequilla de cacahuate, aun cuando los productos son sometidos a tratamientos térmicos por encima de los 100°C.

Resulta de especial interés la elevada prevalencia de *Salmonella* en las semillas estudiadas, ya que generalmente se perciben como alimentos listos para el consumo y no reciben ningún tratamiento que asegure su inocuidad antes de ser consumidos.

Esta situación podría complicarse si consideramos que las semillas comúnmente son mezcladas con otros alimentos como ensaladas, jugos, postres, panes, etc., en donde las poblaciones del patógeno podrían aumentar al encontrar condiciones de mayor humedad. Por otro lado, es importante destacar que las semillas al ser alimentos no perecederos tienen una larga vida de anaquel, lo que podría aumentar el riesgo al consumidor ya que este puede disponer del mismo lote contaminado durante un periodo prolongado.

5.5 Relación *Salmonella-E. coli* en semillas.

La presencia de *Salmonella* en los alimentos se asocia a la contaminación de origen fecal. Para evidenciar este tipo de contaminación se lleva a cabo la cuantificación de *E. coli*, que es un miembro de la familia *Enterobacteriaceae* ampliamente distribuido en el intestino de humanos y animales de sangre caliente (Fernández-Escartín, 2008). De tal manera que a *E. coli* se le conoce como organismo “índice” para evidenciar la probabilidad de contaminación con patógenos (como *Salmonella*).

Tabla 15. Relación entre el contenido de *Salmonella* spp. y *E. coli* en semillas colectadas en la ciudad de Querétaro

Producto	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	
		Ausencia ¹	Presencia ²
Chía	Ausencia	68	31
	Presencia	1	0
Amaranto	Ausencia	81	15
	Presencia	4	0
Ajonjolí	Ausencia	82	12
	Presencia	6	0

¹ Número de muestras en las cuales no se detectó la presencia de *Salmonella* en ausencia o presencia de *E. coli* según sea el caso que se indica en la casilla.

² Número de muestras en las cuales se detectó la presencia de *Salmonella* en ausencia o presencia de *E. coli* según sea el caso que se indica en la casilla.

Sorprendentemente, en ninguna de las tres semillas se tuvo la presencia simultánea de ambos microorganismos, situación que es alarmante, ya que como se mencionó previamente, en frutos y productos frescos a *E. coli* se le conoce como el microorganismo índice de *Salmonella* (Fernández-Escartín, 2008) (Tabla 15). En las semillas en donde *E. coli* estuvo presente en ausencia del patógeno (11 muestras), al igual que las semillas en las cuales ambos microorganismos estuvieron presentes (231 muestras), la relación *E. coli*-*Salmonella* resultó ser la adecuada.

Según estudios realizados por Aguilar-Vázquez (2015), en alimentos de baja a_w , como el cacahuate, nuez, uva pasa y jitomate deshidratado, la presencia o ausencia de *E. coli* no reflejan el comportamiento de *Salmonella*, al igual que en nuestro estudio. Por su parte, Eglezos *et al.* (2008) no reportan la presencia de *E. coli* en productos similares, pese a que si tuvieron muestras positivas para *Salmonella*.

Leal-Cervantes *et al.* (2018), reportan que en tomates cherry frescos la detección de *S. enterica* y *E. coli* concordó en un 92 % de las muestras, de tal manera que concluyen que *E. coli* es un buen índice de *S. enterica* debido a que las condiciones de almacenamiento favorecen la presencia de ambos microorganismos.

En el caso de productos secos las condiciones de almacenamiento (baja a_w) podrían no favorecer la presencia de *E. coli* en los productos, de tal manera que no se le puede considerar un buen índice en este grupo de alimentos; sin embargo, los estudios que se centran en la relación de estos microorganismos son limitados.

5.6 Comportamiento de *S. enterica* en semillas

Se sabe que los alimentos de baja a_w , como las semillas, se estabilizan microbiológicamente mediante el proceso de secado y tostado, ya que se disminuye el número de microorganismos que pudieran estar presentes en estos productos; sin embargo, también se sabe que poblaciones de *Salmonella* que pudieran resistir a estos procesos térmicos, se adaptan muy bien logrando sobrevivir por periodos muy prolongados de tiempo (FAO, 2012).

En la Figura 3, se observa que *S. enterica* sobrevive en todos los productos, con una clara tendencia a la inactivación, aunque de manera lenta. A los 240 días (aproximadamente 8 meses) de almacenamiento de la semilla de chía, amaranto y ajonjolí se observaron reducciones de 3.3, 2.5 y 2.6 UFC g⁻¹, respectivamente. La velocidad de muerte de *Salmonella* en amaranto fue menor en relación con la observada en chía y ajonjolí ($P < 0.05$) (Tabla 12). Es decir, el patógeno tiene una mayor capacidad para sobrevivir cuando está presente en amaranto.

Las diferencias entre los tiempos de sobrevivencia del patógeno en las semillas no están claras, aunque probablemente sea debido a las diferencias en el contenido bromatológico, además Hertwig *et al.* (2018) han propuesto que el hecho de que un microorganismo se adapte mejor a un fruto puede depender de la matriz y las características superficiales del mismo fruto.

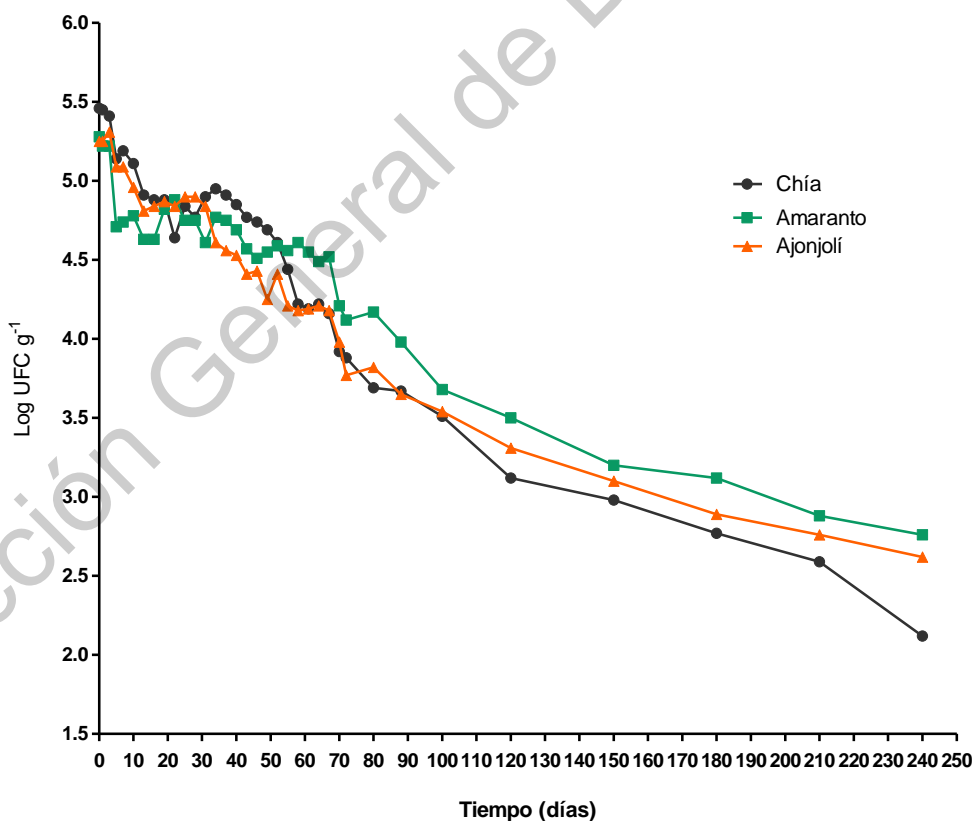


Figura 3. Comportamiento de *S. enterica* en semillas de chía, amaranto y ajonjolí durante el almacenamiento a temperatura ambiente (~25° C)

Tabla 16. Tasa de inactivación de *S. enterica* en semillas

Producto	Velocidad de inactivación (Log UFC h ⁻¹)
Chía	0.018 ± 0.0002 ^a A
Amaranto	0.012 ± 0.0001 B
Ajonjolí	0.017 ± 0.0002 A

^a Los valores representan el promedio de 9 datos. Los valores seguidos de letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$)

Con las tasas de inactivación se hizo una estimación de los tiempos que serían necesarios para la completa muerte de una población de 5.5 Log UFC g⁻¹ de *S. enterica* en condiciones ambientales de almacenamiento en Querétaro. Se requerirían de 67, 46 y 44 semanas para que el patógeno ya no pudiera ser detectado en amaranto, ajonjolí y chía, respectivamente.

Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con los reportados por otros autores. Harris *et al.* (2012) observaron que *S. Enteriditis* fagotipo 30 puede sobrevivir hasta por 550 días en almendras almacenadas a condiciones ambientales. Por su parte, Farakos *et al.* (2017), monitorearon la sobrevivencia de un coctel de *S. enterica* (11 Log UFC g⁻¹) en diferentes especies de nueces almacenadas a 25°C durante un año, y estimaron la inactivación del patógeno en 24 semanas en avellanas, 34 semanas en nuez pecanera y 52 semanas en piñones. En otro estudio, Beuchat & Mann (2015), reportaron la sobrevivencia de un coctel de *S. enterica* en mantequilla de cacahuete y en una crema de chocolate para galletas rellenas en 70 y 112 días, respectivamente.

El hecho de que este patógeno pueda sobrevivir durante más de 240 días en las semillas indica que es urgente el desarrollo de estrategias para el control (inactivación) de *Salmonella* de estos alimentos, ya que si durante el almacenamiento se dan condiciones más favorables, la población de la bacteria podría incrementarse

y posiblemente el grado de virulencia tras el estrés al cual fue sometido también podría aumentar (Finn, Condell, McClure, Amézquita, & Fanning, 2013).

5.7 Verificación del uso de *E. faecium* como subrogado de *S. enterica* en las semillas

Como ya se ha mencionado con anterioridad, la USDA define a un subrogado como cualquier cepa o especie no patógena que se comporte equivalentemente, ante un tratamiento específico, a otra cepa o especie patógena (Hu & Gurtler, 2017).

Una de las finalidades de nuestro estudio fue evaluar distintas alternativas para el control de *S. enterica* en semillas, para ello se usó *E. faecium* ATCC 8459 como microorganismo subrogado de *S. enterica* en semillas de chía, amaranto y ajonjolí.

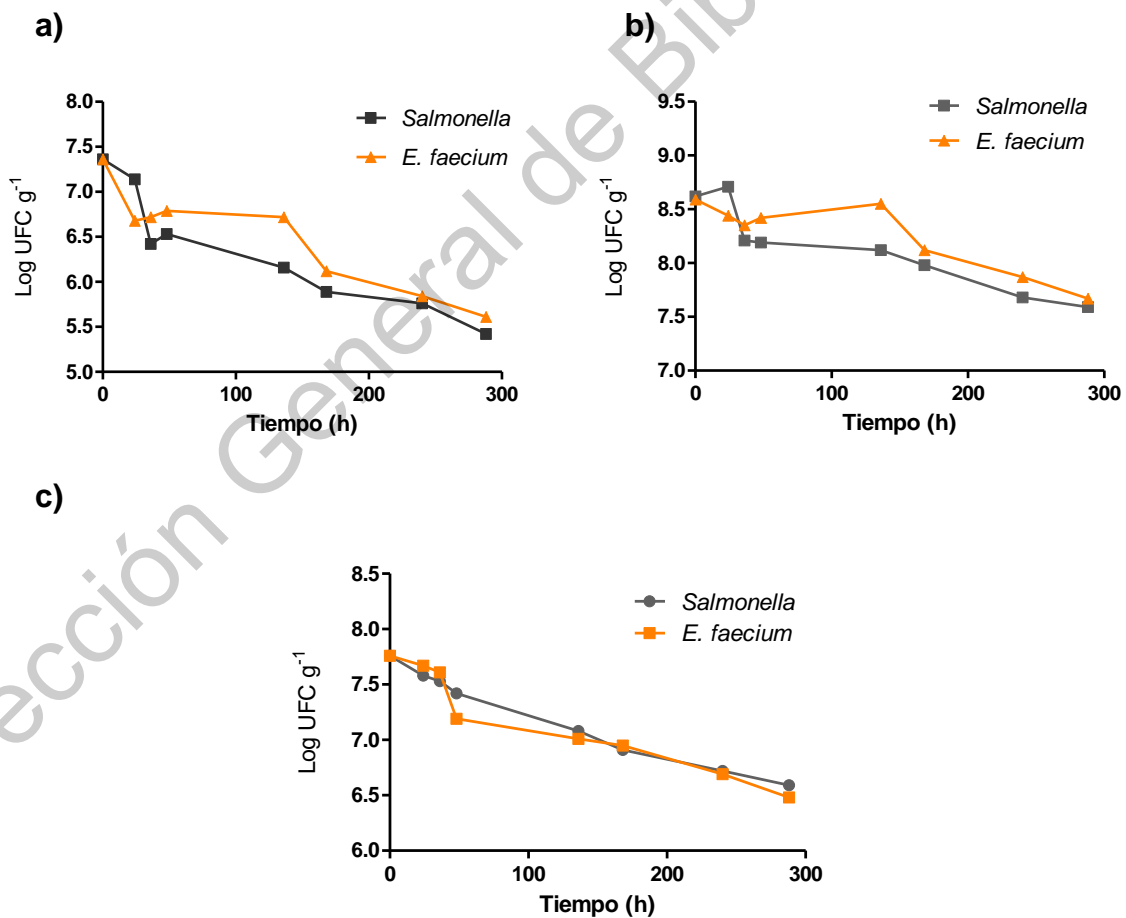


Figura 4. Comparación del comportamiento de *E. faecium* y *S. enterica* en semillas de chía (a), amaranto (b) y ajonjolí (c)

En la Figura 4 se observa que el comportamiento de *E. faecium* es similar al de *S. enterica* durante las 300 h en las que se monitoreó la población. Ambas bacterias tienden a la inactivación lenta en los tres productos probados como se había observado en el estudio previo en el que se evaluó la sobrevivencia de *Salmonella*.

En la Tabla 17 se muestran las velocidades de inactivación tanto de *E. faecium* como de *S. enterica* predichas por DMfit bajo el modelo de Baranyi (Baranyi & Roberts, 1994). Se observa que el comportamiento de ambas bacterias es similar al no encontrarse diferencia estadísticamente significativa ($P \geq 0.05$) entre las velocidades de inactivación de ambos microorganismos en cada una de las semillas.

Tabla 17. Velocidad de inactivación de *S. enterica* y *E. faecium* en semillas.

Semilla	Velocidad de inactivación (Log UFC h ⁻¹)	
	<i>S. enterica</i>	<i>E. faecium</i>
Chía	0.0058 ± 0.0001 A	0.0049 ± 0.0002 ^a A
Amaranto	0.0034 ± 0.00012 A	0.0027 ± 0.0001 A
Ajonjolí	0.0039 ± 0.00014 A	0.0041 ± 0.0002 A

^a Las medias seguidas de letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

En base a los resultados obtenidos del comportamiento de *E. faecium* ATCC 8459 en semillas de chía, amaranto y ajonjolí se comprobó que esta bacteria podía ser usada como subrogado de *S. enterica* en este grupo de alimentos de baja a_w .

5.8 Uso de tecnologías emergentes como control de *S. enterica* en semillas: luz UV-C y aire caliente forzado.

En este trabajo se evaluaron dos tecnologías emergentes para el control de microorganismos patógenos en semillas: la luz UV-C y el aire caliente forzado. Para probar el efecto de ambas tecnologías fue necesario primeramente desarrollar los equipos, esto se hizo en colaboración con el Centro de Investigación en Ciencia

Aplicada y Tecnología Avanzada (CICATA) del Instituto Politécnico Nacional (IPN) campus Querétaro.

Para estandarizar el funcionamiento de ambos equipos, se realizaron una serie de ensayos preliminares probando distintas porciones de muestra. En el caso del equipo de aire caliente forzado se elaboró una rampa de temperatura con la finalidad de conocer las condiciones reales alcanzadas por el equipo y soportadas por las semillas.

Finalmente, y en base a los estudios preliminares en los equipos y la información obtenida de otros estudios, se establecieron las condiciones a probar para cada tecnología.

5.8.1 Luz UV-C

Se evaluó el efecto de la luz UV-C a una longitud de onda constante de 254 nm sobre semillas de chíá, amaranto y ajonjolí inoculadas con *E. faecium*, que como se mencionó anteriormente se usa como subrogado de *S. enterica*. La radiación se aplicó sobre porciones de 10 y 30 g de producto durante 1, 2, 3, 4 y 5 min.

Tabla 18. Reducción de la población de *E. faecium* por efecto de la aplicación de luz UV-C en semillas.

Tiempo (min)	Reducciones (Log UFC g ⁻¹)					
	Chía		Amaranto		Ajonjolí	
	10 g	30 g	10 g	30 g	10 g	30 g
1	3.52 ± 0.17*A	3.30 ± 0.27*A	2.99 ± 0.39A	2.44 ± 0.17A	3.29 ± 0.04A	3.33 ± 0.23A
2	4.19 ± 0.14B	4.02 ± 0.18B	2.96 ± 0.11A	3.01 ± 0.19B	4.06 ± 0.37B	3.54 ± 0.17A
3	5.09 ± 0.25C	4.32 ± 0.15B	3.48 ± 0.18B	3.11 ± 0.18B	4.29 ± 0.29B	3.97 ± 0.12A
4	5.18 ± 0.12C	4.50 ± 0.19B	3.98 ± 0.12B	3.80 ± 0.22B	4.69 ± 0.12C	4.31 ± 0.22B
5	5.68 ± 0.16D	4.84 ± 0.21C	4.21 ± 0.16C	4.19 ± 0.18C	4.94 ± 0.29C	4.54 ± 0.29B

*Media ± desviación estándar de 18 datos. Letras distintas representan diferencias estadísticas en prueba de Tukey (p < 0.05).

Al primer minuto de contacto con la luz UV-C en las porciones de 10 g de las semillas de chíá, amaranto y ajonjolí se observaron reducciones en las poblaciones de *E.*

faecium de 3.52, 2.99 y 3.29 Log UFC g⁻¹, respectivamente. Al aumentar el tiempo de exposición de las semillas también se observó un incremento en la muerte microbiana; a los 5 minutos de contacto se redujeron 5.68 Log UFC g⁻¹ en semillas de chía, 4. 21 Log UFC g⁻¹ en semillas de amaranto y 4.94 Log UFC g⁻¹ en semillas de ajonjolí. En las porciones de 30 g la tendencia observada fue estadísticamente similar tras 5 minutos de exposición.

De acuerdo con la FDA, para la descontaminación de alimentos de bajo contenido de humedad para consumo humano, se recomienda la disminución de al menos 5 Log UFC g⁻¹ (99.99% de la carga microbiana) (FDA, 2016), de tal manera que usando la luz UV-C y bajo las condiciones del equipo ensamblado, se cumple la recomendación de la FDA en el caso de las semillas de chía desde los 3 minutos de exposición. Aunque en amaranto y ajonjolí el valor promedio de la reducción no fue de 5 Log si fue muy cercano.

En la Figura 5 se presenta las poblaciones de *E. faecium* sobrevivientes en las tres especies de semillas analizadas tras la aplicación de los tratamientos; se incluye la línea de tendencia (bajo un comportamiento lineal) y la ecuación en el gráfico. Con la información obtenida de la Figura 5, se calcularon los valores D correspondientes a las reducciones de *E. faecium* por efecto de la exposición a la luz UV-C en las tres semillas (Tabla 19).

Tabla 19. Valor D para la inactivación de *E. faecium* en semillas expuestas a luz UV-C.

Producto	Valor D (min)
Chía	1.02 ± 0.040* A
Amaranto	1.42 ± 0.038 A
Ajonjolí	1.20 ± 0.063 A

*Media ± desviación estándar de 18 datos para cada tipo de muestra. Los valores seguidos de letras diferentes indican diferencia estadística significativa en prueba de Tukey (P < 0.05).

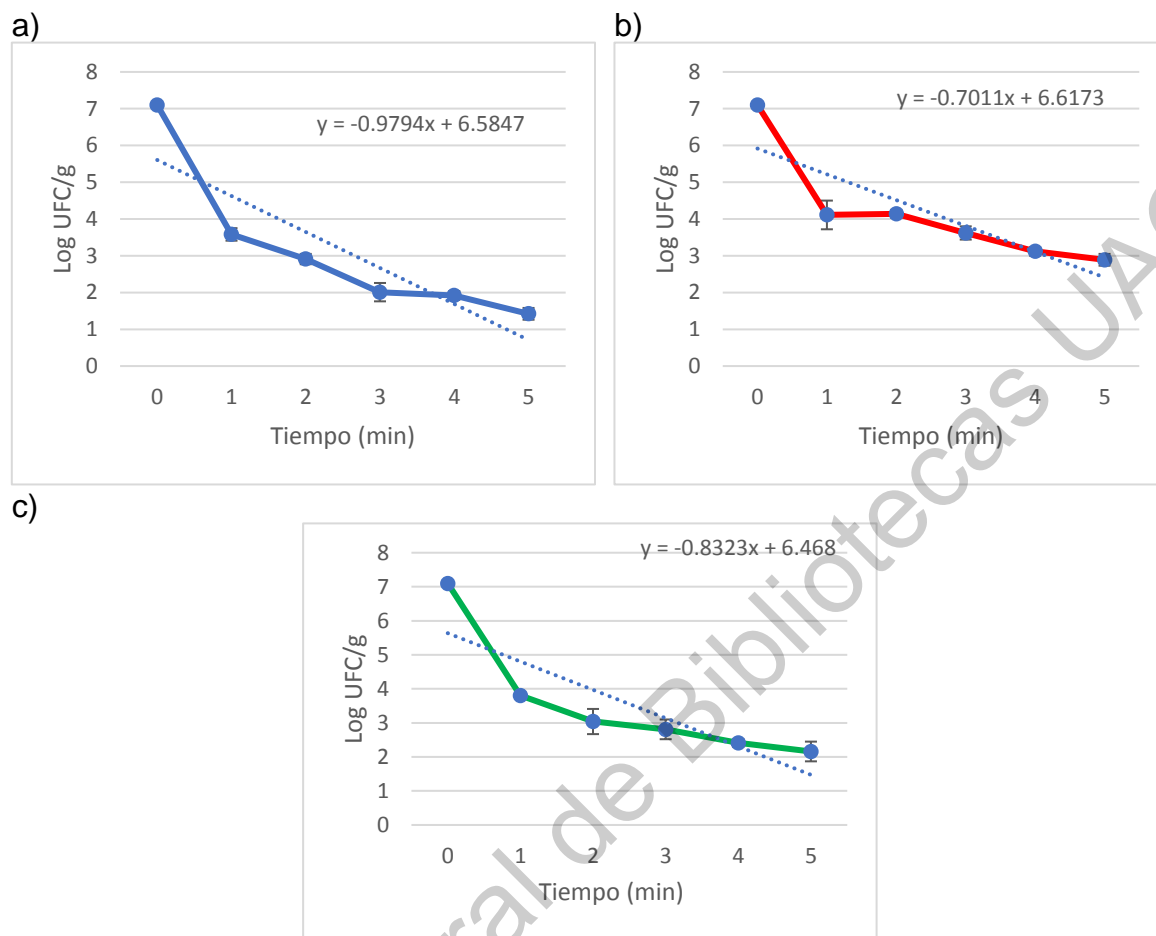


Figura 5. Efecto de la luz UV-C en la viabilidad de *E. faecium* inoculado en semillas de chíá (a), amaranto (b) y ajonjolí (c).

Los valores D que se obtuvieron en nuestro estudio contrastan con lo obtenido en otros estudios tanto para productos frescos como de baja a_w .

Gabriel *et al.* (2017) reportaron reducciones de *S. enterica* de entre 3.01 y 3.04 Log UFC g^{-1} en porciones de 2 g de hojuelas de coco rallado y deshidratado tras 40 min de exposición en una cámara semiabierta provista de una lámpara de luz UV-C (254 nm de longitud de onda). También reportaron que la mayor inactivación del patógeno ocurrió durante el primer minuto de exposición con valores D entre 0.65 y 0.82 minutos; sin embargo, observaron que luego del primer minuto de exposición la reducción del patógeno fue más lenta, y aunque se sugiere algún tipo de adaptación de *Salmonella* a la radiación no se muestran más datos ni información de este

fenómeno. Finalmente, los autores concluyeron que el valor D en coco deshidratado rallado era de 24.2 minutos.

En otro estudio, Sommers *et al.* (2010), reportaron reducciones de hasta 3.8 Log UFC g⁻¹ de *Salmonella* spp. en tomates romanos frescos tras 5 min de exposición continua a radiación UV-C.

Por su parte Lim & Harrison (2016) reportaron reducciones de 4.39 Log UFC g⁻¹ de *S. enterica* en tomates frescos tras una exposición de 4 minutos a una cámara de luz UV-C (254 nm) recubierta con un reflector de radiación. Los autores sugieren que para incrementar la eficiencia de penetración la radiación a los alimentos y/o superficies es necesario usar algún tipo de material reflejante.

En nuestro caso, los valores D finales oscilaron entre 1.02 y 1.42 minutos para las tres semillas analizadas, de tal manera que, y en contraste con otros estudios, el equipo de radiación UV-C construido fue más eficiente para la inactivación de *E. faecium*. Esto puede deberse a que: a) el equipo diseñado en este estudio está provisto de una lámina de metal que refleja la radiación hacia todas las direcciones y b) permite la rotación de producto, eliminando así las sombras que se formarían al acomodar el alimento en capas sobre una superficie plana.

Como perspectiva a futuro se sugiere aumentar la cantidad de producto que se somete al tratamiento para evaluar si se tienen las mismas reducciones bacterianas con cantidades más grandes, esto con la finalidad de poder usar el equipo de luz UV-c a escalas industriales.

5.8.1 Aire caliente forzado

Porciones de 10 g de las semillas inoculadas con *E. faecium* se trataron en el equipo de aire caliente a 100, 120 y 140° C hasta por 5 minutos.

Como se puede observar en la Tabla 20, para todas las especies de las semillas probadas, se obtuvieron reducciones considerables siendo la semilla de amaranto la que mostró la mayor reducción tras 10 minutos de tratamiento constante a 100°C

(4.21 Log UFC g⁻¹), seguido de la semilla de ajonjolí y la de chía (3.91 y 3.42 Log UFC g⁻¹, respectivamente).

En el caso de este tratamiento, no se logró la reducción de los 5 Log UFC g⁻¹ que recomienda la FDA; sin embargo, las reducciones alcanzadas son aceptables considerando que hay pocas alternativas de desinfección efectivas en este tipo de productos.

En la misma Tabla 20 se muestran las reducciones alcanzadas para las tres especies de semillas probadas con un tratamiento de aire caliente constante a 120°C. Se observa que se logró eliminar a una mayor proporción de la población del subgrupo de *Salmonella*. La semilla con la mayor reducción fue la de chía (4.89 Log UFC g⁻¹) seguida del ajonjolí y el amaranto (4.87 y 4.39 Log UFC g⁻¹, respectivamente).

Tabla 20. Reducciones de *E. faecium* en 10 g de semillas tratadas con aire caliente forzado.

Tiempo (min)	Chía			Amaranto			Ajonjolí		
	100°C	120°C	140°C	100°C	120°C	140°C	100°C	120°C	140
	Reducción (Log UFC g ⁻¹)								
1	0.82 ± 0.23*A	3.71 ± 0.57A	4.10 ± 0.06A	2.01 ± 0.32A	2.74 ± 0.45A	3.17 ± 0.25A	1.71 ± 0.09A	3.18 ± 0.40A	3.94 ± 0.50A
2	1.37 ± 0.38A	4.39 ± 0.23B	4.77 ± 0.24B	2.47 ± 0.20B	3.24 ± 0.23B	4.06 ± 0.30B	1.88 ± 0.19A	3.96 ± 0.18B	4.09 ± 0.25A
3	2.01 ± 0.09B	4.39 ± 0.68B	5.17 ± 0.62B	2.88 ± 0.29B	3.25 ± 0.25B	4.18 ± 0.31B	2.51 ± 0.20B	4.09 ± 0.18B	3.91 ± 0.34A
4	2.16 ± 0.07B	4.44 ± 0.33B	5.17 ± 0.38B	3.28 ± 0.19C	3.17 ± 0.14B	4.47 ± 0.36B	3.76 ± 0.54C	4.45 ± 0.19C	4.37 ± 0.22B
5	2.88 ± 0.30C	4.76 ± 0.19B	5.17 ± 0.19B	3.49 ± 0.14C	3.57 ± 0.12B	5.19 ± 0.20C	3.73 ± 0.12C	4.73 ± 0.10C	4.70 ± 0.14C
10	3.42 ± 0.24D	4.89 ± 0.23C	5.29 ± 0.44C	4.21 ± 0.19D	4.39 ± 0.23C	5.31 ± 0.19C	3.91 ± 0.17C	4.87 ± 0.23C	5.02 ± 0.21D

*Media ± desviación estándar de 18 datos por muestra. Letras distintas entre columnas representan diferencias estadísticas bajo la prueba de Tukey (p < 0.05)

A pesar de las variaciones observadas para los dos tamaños de muestras, se puede considerar que el uso de aire caliente forzado es un tratamiento efectivo pues se lograron reducciones considerables del microorganismo probado.

Finalmente, se muestran las reducciones de *E. faecium* alcanzadas con un tratamiento de aire caliente constante a 140° C; se observa nuevamente que hay mucha dispersión en los resultados obtenidos. Para este tratamiento la mayor reducción se obtuvo en las semillas de amaranto (5.31 Log UFC g⁻¹), seguido por las de chíá y el ajonjolí (5.29 y 5.02 Log UFC g⁻¹, respectivamente).

En este caso si se alcanzaron los 5 Log UFC g⁻¹ de reducción que recomienda la FDA, lo cual indica que a pesar de la dispersión de datos se puede establecer este método de desinfección como efectivo para el caso de semillas con baja a_w.

Con el propósito de evaluar el comportamiento del microorganismo ante una cantidad mayor de producto se sometieron 50 g de cada semilla (de manera independiente) al tratamiento con aire caliente forzado a 120°C, debido que fue en esta temperatura donde se alcanzaron las mayores reducciones de *E. faecium* (Tabla 21).

Tabla 21. Reducciones de *E. faecium* en 50 g de semillas tratadas con aire caliente forzado a 120°C.

Tiempo (min)	Reducciones (Log UFC g ⁻¹)		
	Chía	Amaranto	Ajonjolí
1	0.98 ± 0.18*A	1.12 ± 0.21A	0.89 ± 0.12A
2	1.21 ± 0.31A	1.84 ± 0.32B	1.32 ± 0.11B
3	1.71 ± 0.21B	2.28 ± 0.21B	1.71 ± 0.21C
4	1.96 ± 0.19B	2.79 ± 0.19C	2.29 ± 0.34D
5	3.31 ± 0.21C	3.21 ± 0.09D	2.93 ± 0.27E
10	3.98 ± 0.22D	4.01 ± 0.23E	3.75 ± 0.19F

*Media ± desviación estándar de 18 datos por muestra. Letras distintas entre columnas representan diferencias estadísticas bajo la prueba de Tukey (p < 0.05)

En la Tabla 21 se observa que con 50 g de producto los resultados de reducción de *E. faecium* son iguales a los obtenidos con 10 g de producto ($P < 0.05$). Se observó que al aumentar la cantidad de producto en el equipo la rotación de la semilla fue más lenta, lo que podría llevar a una reducción menor en cantidades más grandes de semilla.

Al igual que con la luz UV-C se establece como perspectiva a futuro, probar la tecnología con cantidades más grandes de semilla, con la finalidad de adaptar la técnica a un nivel industrial de desinfección.

En base a los resultados obtenidos de los experimentos a las distintas temperaturas, se calcularon los valores D para *E. faecium* (Tabla 22).

Tabla 22. Valores D para *E. faecium* en semillas tratadas con aire caliente forzado.

Producto	Temperatura (°C)	Valor D (min)
Chía	100	1.83 ± 0.10 ^a A
	120	0.62 ± 0.04 B
	140	0.66 ± 0.06 B
Amaranto	100	1.61 ± 0.18 A
	120	1.02 ± 0.09 B
	140	1.06 ± 0.25 B
Ajonjolí	100	1.37 ± 0.10 A
	120	0.93 ± 0.12 B
	140	0.93 ± 0.01 B

^a Media ± desviación estándar; los valores seguidos de letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

En el caso de la implementación del aire caliente, para todas las especies de semillas probadas en este estudio, las temperaturas que produjeron la mayor reducción en las poblaciones de *E. faecium* fueron 120 y 140°C; ambos tratamientos fueron igualmente efectivos ($P < 0.05$). Por lo tanto, se concluyó que el tratamiento con aire caliente forzado más eficiente para la reducción de *E. faecium* como subrogado de *S. enterica* fue 120° C durante 10 minutos de exposición constante.

Desafortunadamente existen pocos estudios relacionados con el uso de aire caliente forzado como método de descontaminación para alimentos de baja a_w como el caso de las semillas, siendo más bien una tecnología que se emplea para desinfectar superficies y utensilios.

Entre los estudios en donde han implementado esta tecnología en alimentos, se encuentra lo reportado por Venkitasamy *et al.* (2017), quienes combinaron la tecnología de aire caliente con la irradiación IR en un mismo equipo con la finalidad de reducir la humedad y mejorar la calidad sanitaria en pistachos frescos. Observaron que tras 2 horas de tratamiento con aire caliente a 70°C se alcanzaron reducciones de 2 Log UFC g⁻¹ de *E. faecium* en los pistachos. Concluyeron que para aumentar la reducción del microorganismo era necesario combinar el aire caliente con algún otro método de descontaminación, pues cuando se combinaron 1 h de radiación IR con 2 horas de aire caliente se lograron reducciones de hasta 5 Log UFC g⁻¹ en el mismo producto.

En contraste con nuestro estudio, Venkitasamy *et al.* (2017) reportaron reducciones menores en mayores tiempos de exposición, lo cual se puede explicar debido a que su equipo está provisto de una lámina vibratoria que mantiene el alimento en constante movimiento pero sin lograr el giro de los pistachos.

En el equipo diseñado en este trabajo, debido a que la fuente de aire es directa sobre la semilla y al ligero peso de esta, se logra un giro completo y constante de la semilla haciendo que el calor llegue a todos los sitios del alimento, logrando con esto un mejor efecto sobre la reducción del microorganismo. Sin embargo, es importante destacar que las temperaturas probadas en nuestro trabajo fueron más elevadas a las que se evaluaron en el estudio de Venkitasamy *et al.* (2017).

Por su parte, Ding *et al.* (2015) reportaron que al someter granos de arroz a un tratamiento de aire caliente combinado con radiación IR puede obtenerse el mismo nivel de humedad que si se secura el producto al sol mejorando considerablemente la calidad y disminuyendo los tiempos de producción.

En otro estudio, Wang *et al.* (2014) observaron que al someter arroz y nueces de macadamia a aire caliente intermitente seguido de un atemperado, mejora la calidad de ambos productos pues se reduce la aparición de insectos y se disminuye la humedad.

Bingol *et al.* (2011) reportaron reducciones de hasta 4 Log UFC g⁻¹ de *E. faecium* en almendras crudas tratadas con aire caliente y radiación IR a 80°C durante 22 minutos. Este resultado es parecido a lo encontrado en nuestro trabajo; sin embargo, el tiempo de exposición es superior reportándose cambios sensoriales importantes en las almendras.

Por otra lado Pasquali *et al.* (2010), sometieron huevos enteros contaminados con *S. enterica* serovar Enteritidis a aire caliente a 600°C durante 8 s seguido de una ráfaga de aire frío durante 30 s, con la finalidad de descontaminar la superficie de los huevos. Los autores reportaron un valor D de 6.7 s con una reducción de 2 Log UFC g⁻¹. En contraste a nuestro estudio la inactivación fue superior; sin embargo, es importante considerar que la matriz del alimento es distinta, de tal manera que si se quisiera someter las semillas a estas condiciones se tendrían que considerar otras variables físicas como el quemado de esta.

A pesar de las diferencias encontradas en cada uno de los estudios referidos, en el trabajo realizado en este proyecto de investigación se obtuvieron reducciones significativas (entre 4 y 5 Log UFC g⁻¹) del subrogado de *S. enterica* para las tres especies de semillas estudiadas y por lo tanto, en la mayoría de los casos, se cumple con lo establecido por la FDA.

5.9 Efecto de la aplicación de luz UV-C y aire caliente forzado sobre la calidad física, química y bromatológica de las semillas

Las condiciones a las cuales hubo mayor reducción de *E. faecium* en cada especie de las semillas probadas fueron:

- Luz UV-C: 5 minutos de exposición continua a 254 nm.
- Aire caliente forzado: 120°C durante 5 minutos.

Una vez establecidas estas condiciones, fue necesario evaluar su efecto sobre las características físicas, químicas y bromatológicas de las semillas.

Para ello se sometieron 10 g de cada producto, de manera independiente, nuevamente al tratamiento en ambos equipos bajo las condiciones señaladas en el párrafo anterior, pero esta vez sin inocular y se determinó el contenido de flavonoides, CFT, capacidad antioxidante, características bromatológicas, posibles cambios en el color y la oxidación de lípidos.

5.9.1 Efecto de la aplicación de luz UV-C y aire caliente forzado sobre el contenido de flavonoides, CFT y capacidad antioxidante de semillas

Tabla 23. Contenido de flavonoides, CFT y capacidad antioxidante en semillas tratadas con UV-C y aire caliente.

Producto	Tratamiento	Flavonoides (mg QE g ⁻¹)	CFT (mg GAE g ⁻¹)	Capacidad antioxidante	
				ABTS	DPPH
				(mM TE g ⁻¹)	
Chía	S/T	0.08 ± 0.04 ^a A	0.22 ± 0.05 ^a A	2.07 ± 0.10 A	0.82 ± 0.01 A
	UV-C	0.13 ± 0.02 C	0.35 ± 0.01 C	5.53 ± 0.04 B	0.90 ± 0.01 B
	AC	0.12 ± 0.04 B	0.38 ± 0.10 B	5.54 ± 0.02 B	0.90 ± 0.01 B
Amaranto	S/T	0.04 ± 0.03 A	0.06 ± 0.02 A	5.46 ± 0.15 A	0.83 ± 0.08 A
	UV-C	0.06 ± 0.02 C	0.10 ± 0.02 C	5.62 ± 0.03 A	0.86 ± 0.01 B
	AC	0.06 ± 0.08 B	0.09 ± 0.02 B	5.44 ± 0.15 A	0.86 ± 0.02 B
Ajonjolí	S/T	0.03 ± 0.01 A	0.06 ± 0.03 A	3.67 ± 0.16 A	0.82 ± 0.06 A
	UV-C	0.06 ± 0.02 B	0.10 ± 0.02 B	5.63 ± 0.06 B	0.85 ± 0.01 B
	AC	0.06 ± 0.00 B	0.10 ± 0.02 B	5.53 ± 0.04 B	0.90 ± 0.08 B

^a Media ± desviación estándar (n=9); letras diferentes expresan diferencias estadísticamente significativas (Prueba de Tukey P < 0.05).

QE: equivalentes de quercetina

GAE: equivalentes de ácido gálico

TE: equivalente de trólox

S/T: muestras sin tratamiento (control)

UV-C: muestras tratadas con luz UV-C (5 min a 254 nm).

AC: Muestras tratadas con aire caliente forzado (120°C por 5 min).

En la Tabla 23 se pueden observar los cambios que ocurrieron en el contenido de flavonoides, CFT y la capacidad antioxidante de las tres especies de semillas analizadas luego de la aplicación de los tratamientos con luz UV-C y aire caliente. En las tres semillas se observó un incremento en el contenido de flavonoides después de la aplicación de ambos tratamientos probados (luz UV-C durante 5 minutos y aire caliente forzado a 120° C por 5 minutos) en relación con las muestras no tratadas. La misma tendencia se observó en el CFT, y en la capacidad antioxidante (en ambos métodos).

El aumento en el contenido de flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante puede estar relacionado con la respuesta de protección de las plantas ante factores externos, como la radiación UV. Yang *et al.* (2019) reportaron que durante la exposición a rayos UV-A/B/C a organismos vegetales (pre y post cosecha) se generan cambios en la expresión genética (específicamente los genes *VcLAR* y *VcANR*) los cuales están estrechamente relacionados con la biosíntesis de compuestos fenólicos.

Se ha reportado en diversos estudios que al someter a los frutos a radiación UV se promueve la generación de compuestos fenólicos, y se ha explorado el uso de esta tecnología como una herramienta que ayuda a producir frutos más saludables. El efecto de la radiación UV promovió la acumulación de flavonoides en peras (Zhang *et al.*, 2013), fresas (Xie *et al.*, 2015), manzanas (Ubi *et al.*, 2006), uvas (Zhang *et al.*, 2012) y arándanos (Nguyen *et al.*, 2014).

Yang *et al.* (2018) reportaron que el efecto de la radiación sobre el fruto depende, entre otras cosas, de la longitud de onda a la que se someten y aunque el mecanismo que llevan a cabo los frutos durante la post cosecha para llevar cabo estos procesos son aún desconocidos, se sabe que además del contenido de compuestos fenólicos, se retrasa la senescencia y por ende aumenta la vida de anaquel del producto.

Recientemente, un análisis transcriptómico reveló que el gen regulador *VvMYBF1* (inducido por la luz UV-C) está altamente relacionado con la expresión de *VvFLS1* y la biosíntesis de flavonoides y compuestos fenólicos (Czemmel *et al.*, 2017).

Por otro lado, se ha reportado también que al someter frutos a distintas variaciones de temperatura se pueden ver aumentados los niveles de compuestos fenólicos. Por ejemplo, Mphahlele *et al.* (2016) reportaron un aumento en la concentración fenólica total en cáscara de granada tras haberla sometido a distintos tratamientos de secado al horno (40, 60 y 80°C).

En otro estudio, Asami *et al.* (2016) observaron que el secado con aire caliente promueve la oxidación y condensación de compuestos fenólicos si se expone el fruto durante periodos prolongados al calor. Sin embargo, también reportan que cuando se liofiliza la cáscara de granada, esta aumenta la concentración de compuestos fenólicos de manera considerable.

En nuestro estudio se muestra un aumento (aunque no considerable) de los compuestos fenólicos en las semillas. Esto se puede deber al hecho de que un gran porcentaje de estos compuestos están unidos a estructuras celulares, y los tratamientos de deshidratación liberan fitoquímicos unidos de la matriz para hacerlos más accesibles en la extracción aumentando, por ende, la concentración de compuestos con capacidad antioxidante (Mphahlele *et al.*, 2016).

El aumento de compuestos antioxidantes como efecto de los tratamientos de luz UV-C puede explicarse debido a que se considera que las semillas están en un periodo de quiescencia, lo cual significa que se encuentran en un periodo de reposo, han perdido agua, se ha interrumpido la transcripción genética y la síntesis de proteínas, se ha reducido la respiración, pero aún conservan un metabolismo; es decir, aún son viables para germinar y por lo tanto aún reaccionan (aunque en menor grado) a los estímulos del exterior, como a la luz UV-C (Mantilla, 2016).

5.9.2 Efecto de la aplicación de luz UV-C y aire caliente forzado sobre la composición bromatológica de semillas

Como se ha expresado con anterioridad, el consumo de semillas ha ido en aumento en los últimos años, entre otras cosas, debido a la composición bromatológica de estas; por lo que es de vital importancia medir cualquier tipo de modificación en

cuanto a su composición luego de haber recibido los tratamientos de desinfección con luz UV-C y aire caliente.

En la Tabla 24 se muestran las comparaciones de la composición bromatológica de las semillas antes y después de cada uno de los tratamientos recibidos.

Tabla 24. Efecto del aire caliente forzado y la luz UV-C sobre la composición bromatológica de semillas.

Producto	Tratamiento	Humedad	Lípidos	Proteínas	Minerales	Carbohidratos
		g 100 g ⁻¹				
Chía	S/T	4.65 ± 0.54 ^a A	33.93 ± 0.84 A	20.65 ± 0.95 A	6.09 ± 0.55 A	34.68 ± 0.43 A
	UV-C	4.97 ± 0.09 A	27.21 ± 0.19 B	22.89 ± 0.04 B	5.25 ± 0.22 A	39.67 ± 0.26 B
	A.C	2.06 ± 0.10 B	31.30 ± 0.36 B	23.96 ± 0.13 B	5.12 ± 0.15 A	37.55 ± 0.39 B
Amaranto	S/T	4.49 ± 0.70 A	6.57 ± 0.07 A	16.70 ± 0.17 A	3.13 ± 0.18 A	69.10 ± 0.38 A
	UV-C	4.28 ± 0.21 A	5.93 ± 0.06 A	15.95 ± 0.53 A	3.31 ± 0.41 A	68.52 ± 0.43 A
	A.C	1.67 ± 0.12 B	5.79 ± 0.21 A	15.67 ± 0.49 A	3.33 ± 0.03 A	73.53 ± 0.56 B
Ajonjolí	S/T	3.04 ± 0.37 A	45.07 ± 2.85 A	23.80 ± 0.47 A	6.25 ± 0.61 A	21.82 ± 0.27 A
	UV-C	3.88 ± 0.04 A	44.95 ± 0.23 A	22.17 ± 0.65 A	6.18 ± 0.01 A	22.81 ± 0.22 A
	A.C	1.20 ± 0.01 B	40.42 ± 0.24 B	25.98 ± 0.42 B	6.01 ± 0.13 A	25.51 ± 0.34 B

^a Media ± desviación estándar (n=9); letras diferentes expresan diferencias estadísticamente significativas (Prueba de Tukey P < 0.05).

S/T: muestras sin tratamiento (control).

UV-C: muestras tratadas con luz UV-C (5 min a 254 nm).

A.C: Muestras tratadas con aire caliente forzado (120°C por 5 min).

En el caso de la semilla de chía, es evidente la variación en el contenido de humedad tras el tratamiento de aire caliente, lo cual se asocia con la exposición de las semillas a la fuente de calor, que ayudó a la remoción de agua libre. En cuanto al contenido de lípidos también se aprecia una variación, aunque esta no está completamente definida, mismo caso que para el contenido de proteínas y carbohidratos, mientras que para el contenido de minerales los valores no cambiaron entre una tecnología y otra con respecto a las muestras sin tratamiento.

En las semillas de amaranto se observa la misma tendencia en relación con el contenido de humedad que lo observado en la chía; en este caso, no hubo variaciones estadísticamente significativas para los valores de lípidos, proteínas y

minerales. A pesar de que en los carbohidratos hubo una diferencia estadísticamente significativa, esto no representa una variación mayor.

Finalmente, la semilla de ajonjolí también disminuyó su contenido de humedad tras la exposición con aire caliente; se observan también ligeras variaciones en el contenido de lípidos, proteínas, minerales y carbohidratos, aunque estas variaciones no representan un daño mayor a las semillas.

De manera general se puede decir que existen variaciones menores y aunque son estadísticamente significativas no representan un cambio realmente significativo (si tomamos en cuenta las desviaciones estándar) a las semillas tras aplicar cada uno de los tratamientos. Además, a excepción de la humedad que disminuye considerablemente con el aire caliente, no se observa una tendencia clara en las variaciones obtenidas.

En otros estudios se ha observado que la radiación UV-C, además de poseer un efecto germicida, puede alterar algunas de las propiedades nutricionales del producto, como lo es el contenido de minerales y vitaminas (Caminiti *et al.*, 2012). Caminiti *et al.* (2012) reportan que al exponer jugo de manzana a radiación UV-C no ocurren cambios significativos en el contenido de sólidos solubles totales, pH, acidez ni alteraciones a los compuestos nutricionales de este producto, pese a que fue expuesto a varias dosis de radiación (de 3 a 53 J cm⁻²). Por otro lado, Maza & Guerrero (2013) reportan variaciones poco significativas en el contenido de nutrientes de *berries* luego de haber sido sometidas a radiación UV-C, siendo la vitamina C el compuesto con mayor afectación.

Pan & Zu, (2012) reportan la conservación de los compuestos bromatológicos en rebanadas de piña frescas tras la exposición a radiación UV-C hasta por 60 s; sin embargo, también hubo una disminución significativa de vitamina C.

Venkitasamy *et al.* (2017) exploraron los posibles efectos que tiene la aplicación de aire caliente forzado sobre la calidad nutricional de pistachos y reportan que no existen variaciones importantes; sin embargo, si encontraron modificaciones en la calidad de los lípidos como respuesta a la oxidación ante el calor.

Ding *et al.* (2015) establecieron que al someter huevos a un tratamiento de aire caliente forzado (600°C durante 8 s) no se generan modificaciones importantes sobre la calidad nutricional de las proteínas del producto; sin embargo, también reportaron que el valor de la humedad disminuye como efecto del calor.

Por su parte, Mphahlele *et al.* (2016) tampoco reportaron modificaciones significativas en el contenido nutricional de granada tras un secado a 60°C y después de someter el producto a un proceso de la liofilización.

5.9.3 Efecto de la aplicación de luz UV-C y aire caliente forzado sobre el color de las semillas

Uno de los aspectos más importantes en los tratamientos de desinfección de cualquier alimento es la preservación de las características sensoriales. Por lo que, en este estudio, aunque no se realizó un análisis sensorial, se midieron las modificaciones de color en las semillas sometidas a los tratamientos de UV-C y aire caliente.

Para ello se midieron los valores a^* (coordenadas rojo-verde), b^* (coordenadas amarillo-azul), L (luminosidad) y el valor ΔE (diferencial total de color) (Tabla 25).

Tabla 25. Efecto de la luz UV-C y aire caliente sobre el color de semillas

Producto	Tratamiento	L	a^*	b^*	ΔE
Chía	S/T	43.38 ± 1.28 A	6.16 ± 2.57 A	6.12 ± 1.67 A	-
	UV-C	45.24 ± 1.79 A	6.50 ± 2.62 A	6.76 ± 1.35 A	3.71 ± 0.21
	AC	44.80 ± 2.08 A	5.16 ± 3.11 B	8.22 ± 2.82 B	2.73 ± 0.12
Amaranto	S/T	80.24 ± 3.49 A	6.54 ± 1.31 A	19.18 ± 3.38 A	-
	UV-C	76.98 ± 3.67 C	5.92 ± 2.09 A	18.16 ± 3.57 B	3.22 ± 0.14
	AC	82.56 ± 1.61 B	5.66 ± 1.72 A	21.90 ± 3.32 A	3.79 ± 0.18
Ajonjolí	S/T	80.32 ± 1.93 A	5.46 ± 1.69 A	24.12 ± 1.80 A	-
	UV-C	79.67 ± 3.35 A	7.88 ± 2.99 C	26.14 ± 0.56 B	2.00 ± 0.16
	AC	79.54 ± 1.00 A	3.78 ± 1.32 B	26.60 ± 1.60 B	3.10 ± 0.09

^a Media ± desviación estándar (n=9); letras diferentes expresan diferencias estadísticamente significativas (Prueba de Tukey $P < 0.05$).

S/T: muestras sin tratamiento (control)

UV-C: muestras tratadas con luz UV-C (5 min a 254 nm).

AC: muestras tratadas con aire caliente forzado (120°C por 5 min).

En el caso de la semilla de chíá se presentaron ligeras variaciones en cuanto a las mediciones de a^* y b^* , no siendo así en cuanto al valor L . Los valores de ΔE después de la aplicación de luz UV-C y aire caliente fueron 3.71 y de 2.73, respectivamente.

En la semilla de amaranto no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en el valor a^* , pero si hubo variaciones para los valores de L y b^* obteniéndose una variación total de color (ΔE) de 3.79, para el tratamiento con aire caliente, y de 3.22 tras la aplicación de la luz UV-C.

Finalmente, la semilla de ajonjolí no presentó cambios en el valor de L , pero si para los valores de a^* y b^* , con una variación total de color (ΔE) de 3.1 con el tratamiento de aire caliente, y 2.0 tras la exposición a luz UV-C.

De manera general se sabe que el ΔE (diferencial de color) expresa que tan distinto es un color con respecto a un estándar (en nuestro caso la diferencia entre las muestras tratadas y las no tratadas), siendo perceptible para el ojo humano no entrenado cuando esta valor sobrepasa los 3.5 – 4.0 (Carranza-Gallardo, 2002).

En nuestro estudio, los valores ΔE presentan un rango de entre 2.73 y 3.79 tras el tratamiento de aire caliente, y de entre 2.0 y 3.71 luego de la aplicación de luz UV-C; es decir, se encuentran el límite de la percepción humana.

Dichos cambios de color pueden explicarse debido a la transformación química que sufren los compuestos coloridos en los frutos (en este caso las semillas) luego de haberse sometido al calor o la radiación (Rawson *et al.*, 2011).

Gabriel *et al.* (2017) reportan cambios ligeros en el color de hojuelas de coco deshidratadas luego de someterlas durante 5 minutos a radiación UV-C, siendo el valor de a^* el que presentó los mayores cambios, en su estudio alcanzan un promedio de ΔE de 2.3 (catalogado como no perceptible para el ojo humano no entrenado).

Nuestro estudio concuerda con lo reportado por Rawson *et al.* (2011), quien establece que uno de los efectos de someter frutos a tecnologías no térmicas (como

la radiación UV-C) pueden ser alteraciones en el color debido a la transformación y/o degradación de compuestos coloridos como las antocianinas y carotenos.

Por su parte, Bingol et al. (2011) afirmaron que al someter nueces de macadamia y almendras crudas a una pasteurización con calor a temperaturas de entre 100 y 140°C, no existen cambios estadísticamente significativos en el color ni en la apreciación que un panel sensorial tuvo sobre el producto final.

En otro estudio, Ding *et al.* (2015) exploraron el uso de aire caliente forzado como una tecnología para mejorar el color y la aceptabilidad del arroz blanco, debido a que al someter el producto a temperaturas de 60° C se mejoró la aceptación del arroz.

Para efectos de nuestro estudio no fue posible la evaluación sensorial de las semillas luego de haberlas sometido a los distintos tratamientos; sin embargo, como perspectiva a futuro podría evaluarse la capacidad que tiene el consumidor de detectar realmente los cambios en el color o bien, si mejora la aceptación como en algunos casos descritos en la bibliografía.

5.9.4 Efecto de la aplicación de luz UV-C y aire caliente forzado sobre la oxidación de lípidos de semillas

Uno de los mayores problemas de deterioro que presentan las semillas y en general los productos de baja a_w , es la rancidez oxidativa de los lípidos presentes. Es por esta razón que en este estudio se evaluaron los cambios oxidativos en los productos.

Tabla 26. Efecto de la luz UV-C y el aire caliente sobre la oxidación de lípidos de las semillas

Producto	Tratamiento	Índice de oxidación (mEq Kg ⁻¹)
Amaranto	Sin tratamiento	0.53 ± 0.023 ^a A
	Luz UV-C	0.68 ± 0.032 B
	Aire caliente	0.59 ± 0.018 A

^a Media ± desviación estándar (n=3); letras diferentes expresan diferencias estadísticamente significativas (Prueba t de significancia p<0.05).

S/T= muestras sin tratamiento (control)

UV-C= muestras tratadas con luz UV-C (5 min a 254 nm).

A.C= Muestras tratadas con aire caliente forzado (120° C por 5 min).

En la Tabla 26 se puede observar el índice de oxidación de lípidos de las semillas de amaranto luego de la aplicación de los tratamientos. No se registraron cambios estadísticamente significativos en los valores obtenidos luego de la aplicación del tratamiento con aire caliente con respecto a las muestras sin tratar, pero sí en aquellas que fueron sometidas a radiación UV-C. No se muestran los resultados de las semillas de chía y ajonjolí debido que no se obtuvieron datos verídicos en la determinación, debido a que se presentaron interferencias estequiométricas entre las muestras y los reactivos del método empleado.

Según lo reportado por la Almond Board of California, el límite máximo de peróxidos que debe haber en una nuez, almendra o semilla debe ser $<5 \text{ mEq Kg}^{-1}$ para ser aceptado como un producto de calidad (referencia); de tal manera que, para el caso de la semilla de amaranto, pese a haber mostrado diferencias estadísticamente significativas, pueden considerarse como aceptables.

Por otro lado, Venkitasamy *et al.* (2017) informa que el índice de peróxidos que alcanzan los pistachos luego de haber sido sometidos a un tratamiento de aire caliente (6 h a 80°C) fue de 0.85 mEq Kg^{-1} y que al someter el mismo producto a un secador solar, el índice de peróxidos es 1.3 mEq Kg^{-1} , de tal manera que resulta mejor el tratamiento de aire caliente que la deshidratación solar.

6. CONCLUSIONES

Como resultado de esta investigación, se estableció el perfil microbiano de algunas especies de semillas mexicanas (chía, amaranto y ajonjolí), así como algunas de sus características físicas y químicas más importantes.

Se evidenciaron las malas prácticas higiénicas en el manejo de los productos de baja a_w de venta a granel en mercados y supermercados de la ciudad de Querétaro, ya que se encontró una elevada prevalencia y concentración de *S. enterica* en las tres especies de semillas analizadas (31 % en chíá, 15 % en amaranto y 12 % en ajonjolí).

Es inminente el riesgo que existe al consumir estos productos, pues *Salmonella* es capaz de sobrevivir por largos periodos (hasta 8 meses) en las semillas almacenadas a temperatura ambiente.

Los experimentos realizados permitieron verificar que *E. faecium* puede ser usado como un subrogado confiable para *S. enterica* en tratamientos térmicos y no térmicos en semillas.

La aplicación de UV-C y aire caliente forzado a las semillas de chíá, amaranto y ajonjolí logró reducir considerablemente las poblaciones de *E. faecium*, cumpliendo en su mayoría con la recomendación de la FDA que especifica que para que un tratamiento destinado al control de los microorganismos patógenos en los alimentos sea efectivo, debe eliminar al menos 5 ciclos logarítmicos la población microbiana.

Con la aplicación de la UV-C no se afectaron negativamente la composición bromatológica y el color de las tres especies de semillas, y en el caso de amaranto, tampoco afectó el índice de oxidación de grasas. En el caso de la aplicación de aire caliente si se observaron variaciones estadísticas en la composición bromatológica.

Las semillas sometidas a los tratamientos con luz UV-C y aire caliente forzado mostraron un aumento en el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y capacidad antioxidante.

De manera global el tratamiento con luz UV-C, podría considerarse la mejor opción para la descontaminación de las semillas, ya que cumple con los criterios establecidos, no afecta las características de las semillas y aumenta el contenido de los compuestos fenólicos con capacidad antioxidante, que es una de las razones que motiva a los consumidores a comprar este tipo de alimentos.

Aún queda un gran espacio para la investigación en torno a la aplicación de nuevas tecnologías en alimentos de baja a_w como las semillas. La realización de este trabajo es una gran aportación ya que propone el uso de dos tecnologías para mejorar la inocuidad de las semillas que se producen y comercializan en México.

En colaboración con el CICATA-IPN Querétaro, se construyeron dos equipos de desinfección microbiana efectivos para semillas, lo cual es evidencia de que el trabajo interdisciplinario en la investigación es esencial para el mejoramiento de la inocuidad y calidad de los alimentos y con ello mejorar las problemáticas del sector productivo del país.

7. LITERATURA CITADA

- ABC (Almond Board of California) (2004), Almonds from Bloom to Market. Available from: <http://www.almondboard.com/Resources/content.cfm?ItemNumber=637&snItemNumber=461>
- ANIAME. Asociación Nacional de Industriales de aceites y mantecas comestibles. la extraordinaria versatilidad del ajonjolí. Enero/marzo. 2011. Año XXIV. Vol 14 Número 71. pág. 5.
- Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6182–6187. <https://doi.org/10.1021/jf0205099>
- Aguilar-Vázquez, J. C. (2015). *Incidencia y comportamiento de Salmonella en alimentos de baja actividad de agua*. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Alcántara, M. A., Lima, I. De, Polari, B., Lins, B. R., Meireles, D. A., Eduardo, A., ... Cesar, J. (2018). Effect of the solvent composition on the profile of phenolic compounds extracted from chia seeds. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.133>
- Alghawi, S., Albroumi, M., Alameri, S., Jabeen, F., Hussain, Z., Al-harrasi, A., ... Shah, J. (2017). New design of experiment combined with UV–Vis spectroscopy for extraction and estimation of polyphenols from Basil seeds, Red seeds, Sesame seeds and Ajwan seeds Fazal. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.01.051>
- Ariza, M. T., Reboredo-Rodríguez, P., Cervantes, L., Soria, C., Martínez-Ferri, E., González-Barreiro, C., ... Simal-Gándara, J. (2018). Bioaccessibility and potential bioavailability of phenolic compounds from achenes as a new target for strawberry breeding programs. *Food Chemistry*, 248(June 2017), 155–165. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.105>
- Ariza, M. T., Reboredo-Rodríguez, P., Mazzoni, L., Forbes-Hernández, T. Y., Giampieri, F., Afrin, S., Mezzetti, B. (2016). Strawberry achenes are an important

- source of bioactive compounds for human health. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijms17071103>
- Atungulu, G. G., Davis, C., & Pan, Z. (2012). *Microbial decontamination of nuts and spices. Microbial decontamination in the food industry: Novel methods and applications*. Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9780857095756.1.125>
- Azimi, Y., Allen, D. G., & Farnood, R. R. (2014). Enhancing disinfection by advanced oxidation under UV irradiation in polyphosphate-containing wastewater flocs. *Water Research*, 54, 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.01.011>
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos. Química de los alimentos*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, 23(3–4), 277–294. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0)
- Baysal, A. H., Molva, C., & Unluturk, S. (2013). UV-C light inactivation and modeling kinetics of Alicyclobacillus acidoterrestris spores in white grape and apple juices. *International Journal of Food Microbiology*, 166(3), 494–498. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.08.015>
- BEUCHAT, L. R., & MANN, D. A. (2014). Survival of Salmonella on Dried Fruits and in Aqueous Dried Fruit Homogenates as Affected by Temperature. *Journal of Food Protection*, 77(7), 1102–1109. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-549>
- BEUCHAT, L. R., & MANN, D. A. (2015). Survival of Salmonella in Cookie and Cracker Sandwiches Containing Inoculated, Low–Water Activity Fillings. *Journal of Food Protection*, 78(10), 1828–1834. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-15-142>
- Bingol, G., Yang, J., Brandl, M. T., Pan, Z., Wang, H., & Mchugh, T. H. (2011). Infrared

pasteurization of raw almonds. *Journal of Food Engineering*, 104(3), 387–393.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.034>

Bodoira, R., Velez, A., Andreatta, A. E., Martínez, M., & Maestri, D. (2017). Extraction of bioactive compounds from sesame (*Sesamum indicum* L .) defatted seeds using water and ethanol under sub-critical conditions. *Food Chemistry*, 237, 114–120. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.102>

Bojórquez-Velázquez, E., Velarde-Salcedo, A. J., De León-Rodríguez, A., Jimenez-Islas, H., Pérez-Torres, J. L., Herrera-Estrella, A., ... Barba de la Rosa, A. P. (2018). Morphological, proximal composition, and bioactive compounds characterization of wild and cultivated amaranth (*Amaranthus* spp.) species. *Journal of Cereal Science*, 83, 222–228. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.09.004>

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

Brusin, S., Coulombier, D., Jansa, J., Kotila, S., Niskanen, T., & Palm, D. (2017). *RAPID RISK ASSESSMENT Cluster of new Salm onella serotype cases with antigenic formula 11 : z41 : enz15 in four EU Member States Public health issue Consulted experts.*

Burnett, S. L., Gehm, E. R., Weissinger, W. R., & Beuchat, L. R. (2000). Survival of *Salmonella* in peanut butter and peanut butter spread. *Journal of Applied Microbiology*, 89(3), 472–477. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01138.x>

Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74(17), 2157–2184. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.09.047>

Caminiti, I. M., Palgan, I., Muñoz, A., Noci, F., Whyte, P., Morgan, D. J., ... Lyng, J. G. (2012). The Effect of Ultraviolet Light on Microbial Inactivation and Quality

Attributes of Apple Juice. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 680–686.
<https://doi.org/10.1007/s11947-010-0365-x>

Carranza-Gallardo, J. (2002). Manejo de las fórmulas de diferencias de color vs límites de aceptabilidad. *Instituto de Astrofísica, Óptica y Electrónica*, (1).

CDC. (2010). *Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks—United States, 2006. Annals of Emergency Medicine* (Vol. 55).
<https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2009.11.004>

Chang, S., Han, A. R., Powers, J. R., & Kang, D. (2010). Evaluation of steam pasteurization in controlling Salmonella serotype Enteritidis on raw almond surfaces, 50, 393–398. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02809.x>

Comi, G., & Iacumin, L. (2018). Microbial Quality of Raw and Ready-To-Eat Mung Bean Sprouts Produced in Italy. *Nutrition & Food Science International Journal*, 3(1), 371–377. <https://doi.org/10.19080/nfsij.2017.03.555601>

Correa, M. F. (2011). *Estudio de Mercado Snacks de Fruta Deshidratada EE.UU. ProChile Los Angeles Oficina Agrícola de Wasintong*. Retrieved from http://www.prochile.gob.cl/wp-content/blogs.dir/1/files_mf/documento_08_12_11174052.pdf

D'Aoust, J. Y. (1994). Salmonella and the international food trade. *International Journal of Food Microbiology*, 24(1–2), 11–31. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90103-1](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90103-1)

D'Aoust, J. Y., Aris, B. J., Thisdele, P., Durante, A., Brisson, N., Dragon, D., ... Laidley, R. (2013). Salmonella eastbourne outbreak associated with chocolate. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 8(4), 181–184. [https://doi.org/10.1016/s0315-5463\(75\)73804-x](https://doi.org/10.1016/s0315-5463(75)73804-x)

da Silva, B. P., Anunciação, P. C., Matyelka, J. C. da S., Della Lucia, C. M., Martino, H. S. D., & Pinheiro-Sant'Ana, H. M. (2017). Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places. *Food Chemistry*, 221, 1709–1716.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.115>

- Di Sarpio, O., Bueno, M., Busilacchi, H., & Severin, C. (2008). Chía : Importante Antioxidante Vegetal. *Revista Agromensajes de La Facultad de Ciencias Agrarias*, 2–4. <https://doi.org/16698584>
- Ding, C., Khir, R., Pan, Z., & Zhao, L. (2015). Improvement in Shelf Life of Rough and Brown Rice Using Infrared Radiation Heating. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1480-5>
- Dixon, R. A., & Paiva, N. L. (1995). Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism. *The Plant Cell*, 7(7), 1085. <https://doi.org/10.2307/3870059>
- Du, W., Abd, S. J., Carthy, K. L. M. C., & Harris, L. J. (2010). Reduction of Salmonella on Inoculated Almonds Exposed to Hot Oil, 73(7), 1238–1246.
- Eglezos, S. (2010). The Bacteriological Quality of Retail-Level Peanut, Almond, Cashew, Hazelnut, Brazil, and Mixed Nut Kernels Produced in Two Australian Nut-Processing Facilities over a Period of 3 Years. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(7), 863–866. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0471>
- Eglezos, S., Huang, B., & Stuttard, E. . (2008). A Survey of the Bacteriological Quality of Preroasted Peanut, Almond, Cashew, Hazelnut, and Brazil Nut Kernels Received into Three Australian Nut-Processing Facilities over a Period of 3 Years. *Journal of Food Protection*, 71(2), 402–404. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.2.402>
- ERAM. (2015). PERFIL DE MERCADO DE SEMILLAS DE CHIA EN MEXICO.
- Fao. (2012). Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo – Alcance, causas y prevención. Roma. <https://doi.org/10.3738/1982.2278.562>
- FAO. (2012). Prevención y control de la *Salmonella* y la *E . coli* enterohemorrágica en los frutos secos (Vol. 2).
- Farakos, S. M. S., Pouillot, R., & Keller, S. E. (2017). Salmonella Survival Kinetics on Pecans, Hazelnuts, and Pine Nuts at Various Water Activities and

Temperatures. *Journal of Food Protection*, 80(5), 879–885. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-16-392>

Farkas, J., & Mohácsi-Farkas, C. (2011). History and future of food irradiation. *Trends in Food Science and Technology*, 22(2–3), 121–126. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.002>

FDA. (2016). Hazard Analysis and Risk-Based Preventive Controls for Human Food : Draft Guidance for Industry 1, 4(August), 1–42.

Fernández-Escartín, E. (2008). Microbiología e inocuidad de los alimentos. *Universidad Autónoma de Querétaro*, 967. <https://doi.org/10.1016/B978-84-458-1870-1.50001-6>

Finn, S., Condell, O., McClure, P., Amézquita, A., & Fanning, S. (2013). Mechanisms of survival , responses , and sources of Salmonella in low-moisture environments, 4(November), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00331>

Gabriel, A. A., Tongco, A. M. P., & Barnes, A. A. (2017). Utility of UV-C radiation as anti-Salmonella decontamination treatment for desiccated coconut flakes. *Food Control*, 71, 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.06.026>

Harris, L. J., Uesugi, A. R., Abd, S. J., & Mccarthy, K. L. (2012). Survival of Salmonella Enteritidis PT 30 on inoculated almond kernels in hot water treatments. *FRIN*, 45(2), 1093–1098. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.048>

Hasell, S. K., & Salter, M. A. (2003). Review of the microbiological standards for foods. *Food Control*, 14(6), 391–398. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00039-2](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00039-2)

Hassan, A. B., Mahmoud, N. S., Elmamoun, K., Adiamo, O. Q., & Mohamed Ahmed, I. A. (2018). Effects of gamma irradiation on the protein characteristics and functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds. *Radiation Physics and Chemistry*, 144, 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2017.11.020>

Hertwig, C., Meneses, N., & Mathys, A. (2018). Cold atmospheric pressure plasma

and low energy electron beam as alternative nonthermal decontamination technologies for dry food surfaces: A review. *Trends in Food Science & Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.011>

Hu, M., & Gurtler, J. B. (2017). Selection of Surrogate Bacteria for Use in Food Safety Challenge Studies : A Review, *80*(9), 1506–1536. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-536>

Industry Global, A. (2017). Incremento en el consumo de frutas deshidratadas en México. Una mirada global del mercado Mexicano y Latinoamericano.

International Nut and Dried Fruit. (2018). Statistical Yearbook 2017. *INC*, 76.

Ixtaina, V. Y., Spotorno, V., Mateo, C. M., Martí, M. L., Diehl, B. W. K., Nolasco, S. M., & Toma, M. C. (2011). Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction, *24*, 166–174. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.08.006>

Jeong, S., Marks, B. P., & Orta-ramirez, A. (2009). Thermal Inactivation Kinetics for Salmonella Enteritidis PT30 on Almonds Subjected to Moist-Air Convection Heating, *72*(8), 1602–1609.

Jermann, C., Koutchma, T., Margas, E., Leadley, C., & Ros-polski, V. (2015). Mapping trends in novel and emerging food processing technologies around the world. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.06.007>

Juárez-Arana, C. D., & Hernández-Iturriaga, M. (2018). *Perfil Microbiológico y comportamiento de Salmonella enterica en dulces tradicionales mexicanos*.

Leal-Cervantes, M. G., Arvizu-Medrano, S. M., Martínez-Peniche, R., Martínez-González, N. E., & Hernández-Iturriaga, M. (2018). Microbiological Quality and Incidence of Salmonella on Cherry Tomatoes at Retail in Quer etaro , M exico, *81*(4), 614–618. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-377>

Li, D., Luo, Z., Mou, W., Wang, Y., Ying, T., & Mao, L. (2014). ABA and UV-C effects on quality, antioxidant capacity and anthocyanin contents of strawberry fruit

- (*Fragaria ananassa* Duch.). *Postharvest Biology and Technology*, 90, 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.12.006>
- Lim, W., & Harrison, M. A. (2016). Effectiveness OF UV light as a means to reduce Salmonella contamination on tomatoes and food contact surfaces. *Food Control*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.043>
- Little, C. L., Rawal, N., Pinna, E. De, & Mclauchlin, J. (2010). Survey of Salmonella contamination of edible nut kernels on retail sale in the UK. *Food Microbiology*, 27(1), 171–174. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.08.003>
- Luna-Guevara, J. J., & Guerrerp-Beltrán, J. A. (2010). Algunas características de compuestos presentes en los frutos secos y su relación con la salud. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. Retrieved from [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No4-Vol-1/TSIA-4\(1\)-Luna-Guevara-et-al-2010.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No4-Vol-1/TSIA-4(1)-Luna-Guevara-et-al-2010.pdf)
- Mantilla, A. . (2016). Desarrollo y germinación de las semillas, (October 2008).
- Maza, J. F. H., & Guerrero, J. A. (2013). Efecto de la radiación UV-C en frutas y verduras, 1, 68–77.
- Mercado-Mercado, G., Carrillo, L. de la R., Wall-Medrano, A., Díaz, J. A. L., & Álvarez-Parrilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutricion Hospitalaria*, 28(1), 36–46. <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6298>
- Mohammed, F., Abdulwali, N., Guillaume, D., Tenyang, N., Ponka, R., Al-Gadabi, K., ... Naji, K. M. (2018). Chemical composition and mineralogical residence of sesame oil from plants grown in different Yemeni environments. *Microchemical Journal*, 140(April), 269–277. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.04.011>
- Mphahlele, R. R., Fawole, O. A., Makunga, N. P., & Opara, U. L. (2016). Effect of drying on the bioactive compounds , antioxidant , antibacterial and antityrosinase activities of pomegranate peel. *BMC Complementary and Alternative Medicine*,

1–12. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1132-y>

Muñoz, L. ., Cobos, A., Diaz, O., & Aguilera, J. M. (2013). Chia seed (*Salvia hispanica*): An ancient grain and a new functional food, (August 2013), 37–41. <https://doi.org/10.1080/87559129.2013.818014>

Nascimento, M. S., Reolon, E. M., Santos, A. R. B., Moreira, V. E., & Silva, N. (2015). Enterobacteriaceae contamination in chocolate processing. *Food Control*, 47, 291–297. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.020>

NOM-111-SSA1-1994. (1994). Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

NOM-112-SSA1-1994. (1994). Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable. *Diario Oficial de La Federación*.

NOM-247-SSA1-2008. (n.d.). Cereales y sus productos. cereales, harinas de cereales, semolas o semolinas. alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, semolas o semolinas o sus mezclas. productos de, 117.

Oliveira-alves, S. C., Vendramini-costa, D. B., Cazarin, B. B., Roberto, M., Júnior, M., Borges, J. P., ... Bronze, M. R. (2017). Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L .) seeds , fiber flour and oil. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.002>

Pan, Y., & Zu, H. (2012). Effect of UV-C Radiation on the Quality of Fresh-cut, 37(*Cems*), 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2012.04.212>

Pasquali, F., Fabbri, A., Cevoli, C., Manfreda, G., & Franchini, A. (2010). Hot air treatment for surface decontamination of table eggs. *Food Control*, 21(4), 431–435. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.07.003>

Paula, J., Lilia, M., & Vilma, Q. (2013). Chemical composition of chia seed, flaxseed and rosehip and its contribution in fatty acids omega-3. *Revista Chilena de Nutrición*, 40(2), 155–160. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182013000200010>

Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. (1999).

- Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical, 26(98), 1231–1237.
[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Perren, R. (2008). Almond Pasteurization, (April), 2008.
- Peterson, D. G., Totlani, V. M., & Shahidi, F. (2005). Phenolics in Foods and Natural Health Products, (2), 1–8.
- Prakash, A., Lim, F. T., Duong, C., Caporaso, F., & Foley, D. (2010). The effects of ionizing irradiation on Salmonella inoculated on almonds and changes in sensory properties. *Radiation Physics and Chemistry*, 79(4), 502–506.
<https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2009.10.007>
- Rawson, A., Patras, A., Tiwari, B. K., Noci, F., Koutchma, T., & Brunton, N. (2011). Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products : Review of recent advances. *FRIN*, 44(7), 1875–1887. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.053>
- Ros, E., & Hu, F. B. (2014). Consumption of Plant Seeds and Cardiovascular Health: Epidemiologic and Clinical Trial Evidence, 128(5), 553–565.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.001119>.Consumption
- SAGARPA. (2016). *Vista Global del Sector Agroalimentario: Demanda de Frutos Secos*.
- Sánchez-Bel, P., Egea, I., Romojaro, F., & Martínez-Madrid, M. C. (2008). Sensorial and chemical quality of electron beam irradiated almonds (*Prunus amygdalus*). *LWT - Food Science and Technology*, 41(3), 442–449.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.03.015>
- Sarker, U., Tofazzal Islam, M., Golam Rabbani, M., & Oba, S. (2017). ScienceDirect Variability in total antioxidant capacity, antioxidant leaf pigments and foliage yield of vegetable amaranth. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(0), 60345–60347.
[https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61778-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61778-7)
- Solchem Nature Co. (2017). *Chía (Salvia hispanoca L.): Descripción*. Barcelona,

España. Retrieved from <http://www.solchem.es/ingredientes/dp/DP-chia.pdf>

Soto, C. (2015). Determinación de la capacidad antioxidante de las espigas de la planta de chía., 31.

Venkitasamy, C., Brandl, M. T., Wang, B., Mchugh, T. H., Zhang, R., & Pan, Z. (2017). International Journal of Food Microbiology Drying and decontamination of raw pistachios with sequential infrared drying , tempering and hot air drying. *International Journal of Food Microbiology*, 246, 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.02.005>

Wang, B. E. I., Khir, R., Pan, Z., El-mashad, H., Atungulu, G. G., Haile, M. A., ... Bengang, W. U. (2014). Effective Disinfection of Rough Rice Using Infrared Radiation Heating, 77(9), 1538–1545. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-020>

Wankhade, P. K., Sapkal, R. S., & Sapkal, V. S. (2013). Drying Characteristics of Okra slices on drying in Hot Air Dryer. *Procedia Engineering*, 51(NUICONE 2012), 371–374. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2013.01.051>

Yang, J., Shi, W., Li, B., Bai, Y., & Hou, Z. (2019). Preharvest and postharvest UV radiation affected flavonoid metabolism and antioxidant capacity differently in developing blueberries (*Vaccinium corymbosum* L .) Runing title : Pre- and postharvest UV affect flavonoid & antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 125248. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125248>

Yoshida, T., Mori, K., Hatano, T., Okumura, T., Uehara, I., KOMAGOE, K., ... Okuda, T. (1989). Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 37(7), 1919–1921. <https://doi.org/10.1248/cpb.37.1919>

8. ANEXOS

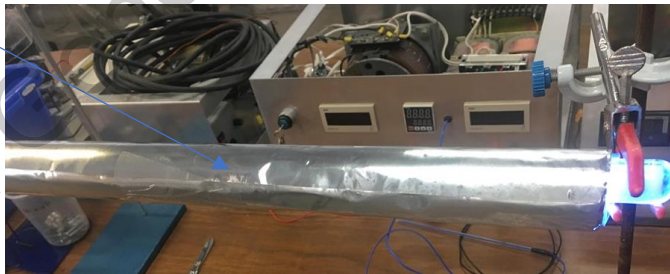
Anexo 1. Equipo de luz UV-C

Lámpara de luz UV-C

Pinzas sujetadoras

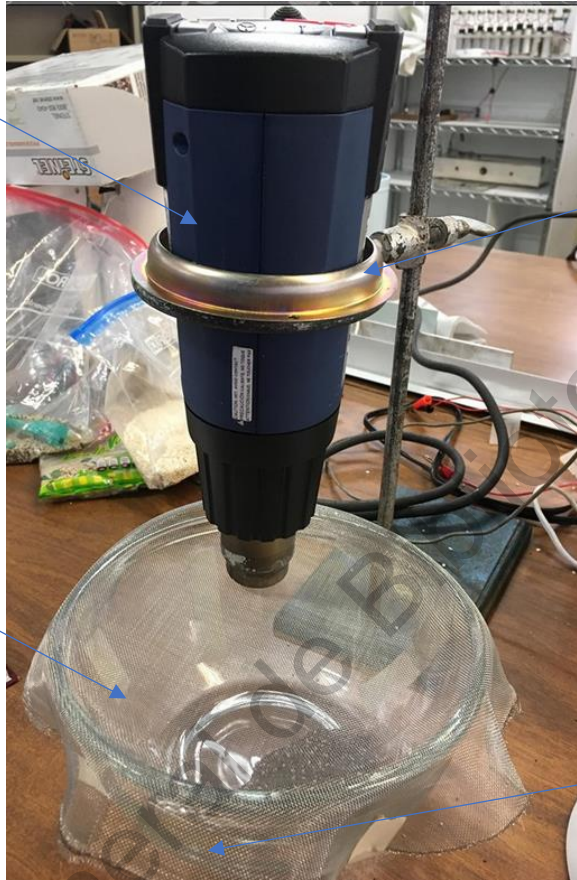


Cubierta de aluminio
refleiante de la luz UV-C



Anexo 2. Equipo de aire caliente forzado

Pistola de aire caliente forzado



Anillo y soporte universal

Tazón contenedor del alimento de vidrio refractario

Base giratoria de metal y madera

Dirección General de Asesorías Técnicas UAQ