



# Oleogeles basados en biopolímeros como sustitutos de lípidos saturados en productos alimentarios

J. C., Metri-Ojeda\*, D. K., Baigts-Allende y M. M., Ramírez-Rodrigues

\*Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos  
Correo electrónico: [jorge.metrio@udlap.mx](mailto:jorge.metrio@udlap.mx)

## RESUMEN

Los lípidos, en especial los saturados, son un ingrediente fundamental en la elaboración de productos alimentarios, ya que pueden desarrollar características sensoriales (textura y palatabilidad) deseadas. Sin embargo, el consumo excesivo de lípidos saturados ha sido relacionado con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Por ello, la industria alimentaria tiene un gran interés por reducir los lípidos saturados en productos alimentarios. Una alternativa novedosa es la utilización de aceites gelificados (oleogeles) mediante el uso de biopolímeros. Los oleogeles basados en biopolímeros han sido usados en diferentes productos (panadería, chocolates y cárnicos), no obstante, es importante determinar el efecto de su incorporación en las propiedades físicas de los productos, ya que estas determinan en gran medida su aceptabilidad. El objetivo de esta revisión es explorar los métodos para desarrollar oleogeles utilizando biopolímeros, así como sus características, aplicaciones y efectos en la textura de los productos alimentarios.

**Palabras clave:** lípidos, oleogeles, biopolímeros.

## ABSTRACT

Lipids, especially saturated fats, are a fundamental ingredient in food products, as they may develop desirable sensory characteristics (texture and palatability). However, the excessive consumption of saturated fats has been related to the development of cardiovascular diseases. Therefore, the food industry has a great interest in reducing the saturated fat content in food products. A novel alternative is the utilization of gelled oils (oleogels) using biopolymers. Biopolymer-based oleogels have been used in different food products (bakery, chocolates, and meat), nevertheless, it is important to determine the impact of these systems in the physical characteristics of food products because they determine in a great extent their acceptability. The aim of this review is to explore the methods to obtain oleogels using biopolymers, as well as its characteristics, applications, and the effects in food products texture.

**Keywords:** lipids, oleogels, biopolymers.

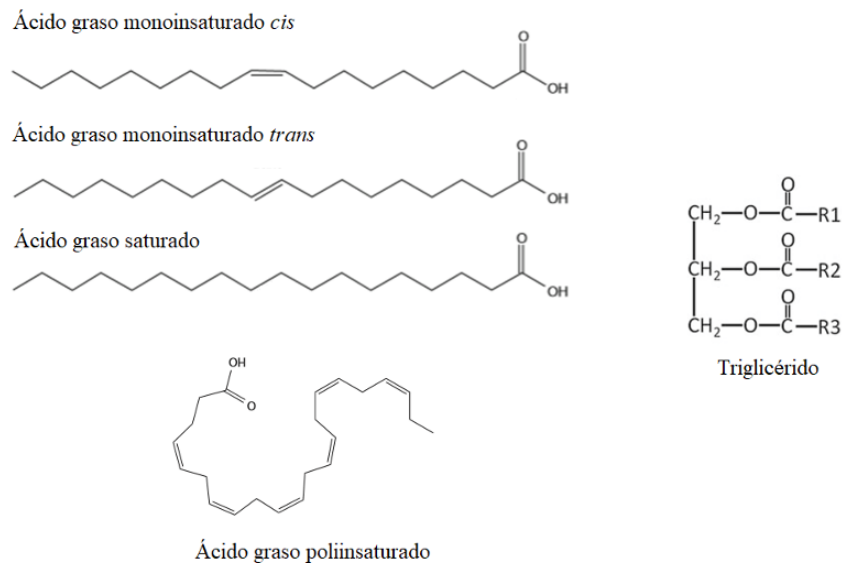
## INTRODUCCIÓN

Los polímeros son moléculas complejas que se componen de unidades repetitivas de monómeros unidos por enlaces covalentes. Los polímeros de base biológica, también conocidos como biopolímeros, a diferencia de los derivados de petrolatos (sintéticos), se producen a partir de organismos vivos (Brigham, 2018). El uso de este tipo de moléculas se ha preferido debido a que son degradables y provienen de fuentes renovables.

Dentro de los biopolímeros más empleados en diferentes sectores industriales, se encuentran los polisacáridos provenientes de plantas, entre ellos se encuentran el almidón y fibras solubles (gomas). Dado que contienen un gran número de grupos hidroxilo en su estructura, estos biopolímeros tienen gran afinidad por medios acuosos, aumentando su solubilidad (Ozilgen y Bucak, 2018; Peng y Yao, 2017; Saha y Bhattacharya, 2010). Las moléculas proteicas son biopolímeros que, gracias a sus características anfipáticas (poseen grupos hidrofóbicos e hidrofílicos) han sido utilizadas —además de

como agentes gelificantes en alimentos como el tofu—, como estabilizantes de espumas y emulsiones alimentarias en yogures, helados, productos cárnicos procesados, entre otros (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2001).

A últimas fechas, el interés por reemplazar los lípidos saturados y/o lípidos parcialmente hidrogenados (fuente de ácidos grasos *trans*) por lípidos más saludables (lípidos insaturados) en alimentos procesados se ha incrementado. Los consumidores son cada vez más conscientes acerca de los efectos negativos que la ingesta de lípidos saturados y *trans* ocasiona en la salud (Martins *et al.*, 2018; Patel y Dewettinck, 2016; Puşcaş *et al.*, 2020). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado sustituir los lípidos saturados por lípidos insaturados, debido a que ello trae consigo beneficios a la salud, como la promoción del desarrollo cognitivo, una mayor cardioprotección y beneficios antiinflamatorios (Husted y Bouzinova, 2016; Orsavova *et al.*, 2015; Puşcaş *et al.*, 2020; Vieira *et al.*, 2015). En la figura 1 se muestra una representación general de los ácidos grasos saturados, *trans*, monoinsaturados y poliinsaturados.



**Figura 1.**

Representación esquemática de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, ácidos grasos *trans* y triglicéridos (R1, R2 y R3 representan los ácidos grasos 1, 2 y 3, respectivamente). Adaptada de Winkler-Moser y Mehta (2015), y Shahidi y Ambigaipalan (2018).

Especialistas en el área de la industria alimentaria han puesto en marcha estrategias para reemplazar lípidos saturados con productos que imiten las características sensoriales y físicas de los productos convencionales (Puşcaş *et al.*, 2020; Vieira *et al.*, 2015). Como parte de estos esfuerzos, se ha buscado controlar el comportamiento físico de aceites vegetales líquidos (fuente de lípidos insaturados), mediante el uso de técnicas como la oleogelación, para que puedan ser utilizados como lípidos sólidos. Los oleogeles son aceites estructurados por moléculas anfífilas que presentan interacciones de tipo no covalente entre ellas, formando una red tridimensional, que atrapa a un líquido oleoso por fuerzas de capilaridad (Singh *et al.*, 2017). Estos sistemas tienen la característica de ser aceites sólidos a temperatura ambiente gracias a la presencia de un agente gelificante que permite la formación y estabilización de una estructura tridimensional (Martins *et al.*, 2018; Patel y Dewettinck, 2016).

El objetivo de la siguiente revisión bibliográfica es explorar los métodos para desarrollar oleogeles utilizando biopolímeros, así como sus características, aplicaciones, y efectos en la textura de los productos alimentarios.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1. Técnicas de oleogelación usando biopolímeros

Los métodos de oleogelación pueden clasificarse en directos e indirectos con base en el tipo de agente gelificante y su forma de solubilización. En la tabla I se muestra un resumen de oleogeles elaborados con biopolímeros, el método empleado, el agente gelificante y sus características. A continuación, se describirán los métodos utilizados (directos e indirectos) para obtener oleogeles utilizando biopolímeros como polisacáridos y proteínas.

**Tabla I.** Oleogeles elaborados con biopolímeros: métodos, materiales y características

Tipo de método	Agente gelificante	Características del oleogel	Referencia
Directo	EC 10cP, EC 20cP, EC 50cP, EC 100cP y EC 200cP 4 - 6 %	La firmeza de los oleogeles se ve favorecida al utilizar EC 100cP. El enfriamiento paulatino en un rango de 80 - 100 °C produce oleogeles más firmes por la formación de redes biopoliméricas ordenadas.	Davidovich-Pinhas, Gravelle <i>et al.</i> (2015); Ye <i>et al.</i> (2019)
Hidrogel	k-carragenina 0.4 %, 1 %, 2 %.	El aumento de la concentración del biopolímero aumenta la resistencia estructural, la capacidad de sorción de aceite. El aumento de concentración de k-carragenina disminuyó la retención de aceite en el oleogel.	Manzocco <i>et al.</i> (2017)
Emulsión	HPMC 0.1 - 1 %	El aumento de la concentración de biopolímero aumenta la firmeza y módulo de almacenamiento. No demuestran comportamiento termorreversible.	Basucas <i>et al.</i> (2020) Meng <i>et al.</i> (2018)
Espuma	HPMC 4000 cP 2 %	Características similares a los oleogeles obtenidos con HPMC con modelo de emulsión. No demuestran recuperación estructural.	Patel <i>et al.</i> (2013)
Emulsión	MC 4, MC 50, MC 400, MC1500, MC 4000 2 %	La MC 4 y 50 no logran estructurar el aceite. La MC 4000 produce un gel no manipulable. MC 400 y 1500 son aptos para la obtención de oleogeles.	Patel, Lewille <i>et al.</i> (2014)

**Tabla 1.** Oleogeles elaborados con biopolímeros: métodos, materiales y características (continuación)

Tipo de método	Agente gelificante	Características del oleogel	Referencia
Emulsión	Proteína de soya 0.6, 0.8, 1 y 1.2 % y alginato de sodio 0.1 %	La retención de aceite incrementa proporcionalmente a la concentración de proteína (mayor a 95 %). Módulo de almacenamiento similar a oleogeles de gelatina y aislado de suero de leche.	Wijaya <i>et al.</i> (2019).
Espuma	Proteína de soya y alginato de sodio (concentraciones no especificadas)	Disminución en la capacidad de retención de aceite (30 %) comparado con oleogeles de proteína de soya-alginato de sodio elaboradas con emulsiones.	Chen y Zhang (2020).
Emulsión	Caseinato de sodio	El uso de caseinato de sodio, goma xantana y goma guar en proporciones de 4 %, 0.5 % y 1 % produce oleogeles con mayor estabilidad.	Meissner <i>et al.</i> (2019)
Emulsión	Gelatina (1.2 %), goma de linaza (0.6 %) y ácido tánico (0.075 %)	Recuperación estructural de 60 - 80 % y comportamiento termorreversible.	Qiu <i>et al.</i> (2018)
Espuma	Gelatina (1.6 %) y goma xantana (0.6 %)	Recuperación estructural del 60 % y comportamiento termorreversible.	Patel, Cludts <i>et al.</i> (2014)
Hidrogel	Aislado de suero de leche (20 %)	Módulo de almacenamiento de hasta 1000 kPa.	De Vries <i>et al.</i> (2020)
Agregados de proteína	Aislado de suero de leche 4 %	Las propiedades reológicas ( $G'$ ) de los oleogeles con 4 % de proteínas pueden ser mejoradas (de 1000 Pa a 100,000 Pa) al agregar 0.2 - 0.3 g de agua por g de proteína.	De Vries <i>et al.</i> (2018) Meissner <i>et al.</i> (2019)

### 1.1. Métodos directos

En los métodos directos, la solubilización del agente gelificante se disuelve directamente en la fase oleosa. Existen distintos compuestos que se pueden utilizar por dispersión directa, como la lecitina, los monoglicéridos, las ceras y fitoesteres, los cuales pueden dispersarse y reestructurar los lípidos mediante procesos de cristalización (Martins *et al.*, 2019). Por otro lado, en el caso de los biopolímeros, la etilcelulosa (EC) es el único biopolímero que se ha empleado por métodos directos para la elaboración de oleogeles (Patel y Dewettinck, 2016).

La EC es un polisacárido derivado de la celulosa; está formado por unidades de D-glucosa unidas por enlaces  $\beta$ -1,4. Este biopolímero se modifica parcialmente (48-49.5 %) para aumentar su hidrofobicidad; la cual consiste en el reemplazo de las subunidades hidrofílicas (OH-) de las moléculas de glucosa por grupos etilo (grupos hidrofóbicos) (Gravelle *et al.*, 2013). De manera breve, el método consiste en añadir la EC al aceite y calentarlo por encima de la temperatura de transición vítrea del polisacárido (140-150 °C) durante 45 minutos, posteriormente,

la mezcla debe enfriarse paulatinamente hasta los 4 °C para inducir la asociación de cadenas biopoliméricas y, por lo tanto, la gelificación (Gravelle *et al.*, 2013; Munk *et al.*, 2018; Zetzel *et al.*, 2012). De acuerdo con sus características microestructurales, estos oleogeles se estabilizan mediante puentes de hidrógeno establecidos entre moléculas de EC, formando estructuras multicapas en las cuales se retiene el aceite (Davidovich-Pinhas, Barbut *et al.*, 2015; Laredo *et al.*, 2011).

Existen diferentes factores que afectan las características físicas de los oleogeles obtenidos con EC, por ejemplo, el peso molecular del biopolímero, la concentración del biopolímero y la velocidad de enfriamiento. La EC se puede obtener con diferentes pesos moleculares, identificados por su viscosidad en cP, como EC7 cP, EC20 cP, EC50 cP, EC100 cP y EC200 cP. Se ha demostrado que el uso de EC100 cP genera oleogeles con mayor firmeza y viscosidad aparente, y una menor migración (pérdida) de aceite; esto se atribuye principalmente a que un mayor tamaño de la cadena biopolimérica, favorece un mayor número de enlaces y una red tridimensional más fuerte. En este sentido, los oleogeles

obtenidos con EC100 cP son más firmes (175.94 g) comparados con los resultantes de EC7 cP, EC20 cP o 50 cP (13.5 g-130 g). Al igual que la firmeza, la viscosidad aparente aumenta al utilizar la EC100 cP comparada con una EC de menor tamaño molecular. Por el contrario, la migración de aceite disminuye de un 7.5 % hasta un 3 % al usar EC100 cP (Ye *et al.*, 2019).

Al igual que el tamaño molecular del biopolímero, la temperatura de enfriamiento de los oleogel elaborados con EC también afecta la firmeza de los sistemas finales, esto se debe a que, al disminuir drásticamente la temperatura, la formación de los puentes de hidrógeno entre las moléculas de EC se vuelve aleatoria, dando lugar a una red menos resistente. Un estudio mostró que, cuando el periodo de gelificación de la EC (posterior a la dispersión) se mantiene en un rango de 80-100 °C, la firmeza de los oleogel es de aproximadamente 120 N, mientras que, al disminuir la temperatura de gelificación a 50 °C, 20 °C y 4 °C, la firmeza disminuye a 60 N, 30 N y 70 N, respectivamente (Davidovich-Pinhas, Gravelle *et al.*, 2015).

Los aceites vegetales son apreciados por su contenido en ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos poliinsaturados y de compuestos bioactivos como carotenoides y tocoferoles, sin embargo, los ácidos grasos poliinsaturados son inestables a altas temperaturas (llegando incluso a perder sus insaturaciones), mientras que los carotenoides y tocoferoles —precursor de vitaminas y antioxidantes— son termosensibles. Por lo tanto, el uso de las altas temperaturas en el proceso de la elaboración de oleogel con EC, podría afectar la calidad nutricional del aceite, especialmente aquellos ricos en ácidos grasos poliinsaturados (aceite de girasol, soya y maíz), además podría disminuir la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos del aceite (Ghosh *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2019; Zambiasi *et al.*, 2007).

## 1.2. Métodos indirectos

Los métodos indirectos implican la formación previa de un sistema más complejo mediante el uso de biopolímeros, como emulsiones y espumas, los cuales se disuelven en la fase acuosa. Estos sistemas sirven como base estructural en la formación del oleogel (Martins *et al.*, 2018).

Los métodos indirectos utilizan, en general, dos procedimientos: la emulsión y la espuma. Cuando el sistema estructural se compone de un aceite en agua, se le conoce como «método con base en emulsiones». En estos casos, es importante que la concentración de aceite se mantenga relativamente alta (>60 %)

utilizando altas velocidades de homogeneización (>6000 rpm). Este sistema se somete a un proceso de deshidratación, ya sea mediante secado por convección, vacío o liofilización, dando como resultado un oleogel rico en lípidos (>96 % de aceite), en donde los biopolímeros forman la parte restante actuando como agentes estabilizantes (Martins *et al.*, 2018; Patel y Dewettinck, 2016). Por otro lado, encontramos el «método con base en espumas», cuya metodología de preparación consiste en la formación del sistema espumante mediante un homogeneizador de rotor, por ejemplo, Ultraturrax, a altas velocidades (>6000 rpm). Una vez que la fase acuosa se deshidrata, el sistema se somete a inmersión en el aceite para obtener el oleogel (Martins *et al.*, 2018; Patel y Dewettinck, 2016). Una de las desventajas del uso de modelos de espuma es que la exposición al oxígeno durante el proceso de inmersión podría producir rancidez en el aceite.

### 1.2.1 Oleogel utilizando polisacáridos

La hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) es un derivado de la celulosa que posee grupos funcionales hidrofóbicos ( $\text{CH}_3$ ) e hidrofílicos ( $\text{OH}$ -), y ha sido empleada para la elaboración de oleogel utilizando emulsiones (Bascuas *et al.*, 2020; Meng *et al.*, 2018a, 2018b) y espumas (Patel *et al.*, 2013) como base.

Al utilizar sistemas de emulsiones aceite/agua con una concentración de más del 60 % de aceite como base para obtener oleogel, la combinación de HPMC con goma xantana (GX) mejora las propiedades de los oleogel, principalmente porque las gomas (como GX) actúan como estabilizante y previenen la coalescencia de la emulsión durante el secado. En cuanto a las propiedades de los oleogel elaborados con HPMC, se ha observado un comportamiento sólido ( $G' > G''$ ). El módulo de almacenamiento ( $G'$ ) demostró valores en un rango de 6.88-9.88 x  $10^4$  MPa y se ha reportado una recuperación estructural del 50-70 %. La firmeza de los oleogel se puede encontrar en un rango de 230.1 g-578.2 g (Bascuas *et al.*, 2020; Meng *et al.*, 2018a, 2018b). A diferencia de lo observado en otros estudios, estos oleogel no demostraron un comportamiento termorreversible, lo cual podría limitar su uso para alimentos que requieren procesos con altas temperaturas.

Se ha utilizado la HPMC4000 cP en la elaboración de oleogel con espumas como base. Las espumas obtenidas, después de ser deshidratadas, se usan como estructura física para la adsorción de aceite. Estos oleogel presentan las características reológicas de un gel ( $G' > G''$ ), con módulos de almacenamien-

to de hasta 10,000 Pa. Es importante notar que estos oleogeles no demuestran recuperación estructural posterior a la aplicación de una fuerza de corte (Patel *et al.*, 2013). Por lo tanto, resultaría más conveniente utilizar emulsiones como base para oleogeles con HPMC, ya que estos sí son capaces de reordenar su estructura después del proceso de homogeneización.

La metilcelulosa (MC) también es un derivado de la celulosa al que se le añaden grupos metilo ( $\text{CH}_3$ ). Este polisacárido, en combinación con GX, ha sido utilizado para elaborar oleogeles mediante el modelo de emulsiones y un secado convencional a 50 °C. De manera similar a la EC, la MC puede tener diversos pesos moleculares (MC 15, MC 400, MC 1500 y MC 4000), lo cual afecta las propiedades de los oleogeles. La MC 400 y la MC 1500 son las más adecuadas para la producción de oleogeles; utilizando estos biopolímeros, los oleogeles no presentan liberación de aceite y pueden ser manipulados para su incorporación en sistemas alimentarios. En cuanto a su comportamiento reológico, estos oleogeles presentan un comportamiento sólido ( $G' > G''$ ), el módulo de almacenamiento se encuentra en un rango de 275 Pa y su recuperación estructural es del 43 % (Patel, Cludts *et al.*, 2014). Los oleogeles obtenidos por medio de MC, presentan una estructura menos resistente comparada con las de los oleogeles de HPMC, como indica la diferencia drástica en el módulo de almacenamiento entre ambos sistemas. Además, la recuperación estructural es menor comparada con los oleogeles de HPMC (obtenidos con emulsiones como base).

Los hidrogeles (geles con una fase continua acuosa) también se usan para obtener una estructura física capaz de retener aceite por absorción capilar. Este método indirecto ha sido utilizado para la elaboración de oleogeles con k-carragenina. Los hidrogeles son altamente sensibles y pueden debilitarse durante los procesos de deshidratación convencionales (estufa) y liofilización, debido al encogimiento de la estructura y la formación de cristales, respectivamente (Plazzotta *et al.*, 2019). Manzocco *et al.* (2017) utilizaron un proceso de secado con  $\text{CO}_2$  supercrítico que favorece la integridad de la estructura formada por los hidrogeles. Los hidrogeles elaborados con k-carragenina (0.4, 1 y 2 %) se sumergieron en soluciones etanólicas y fueron secados con fluidos supercríticos ( $\text{CO}_2$ ) a una presión de 2-8 MPa a 45 °C. El aumento de la concentración de

k-carragenina incrementó drásticamente la retención de aceite, registrando un  $15 \text{ g}_{\text{aceite}}/\text{g}_{\text{aerogel}}/\text{cm}^3$  al utilizar 2 % de concentración del biopolímero, mientras que en la de los oleogeles con 1 % se observó únicamente un  $2.5 \text{ g}_{\text{aceite}}/\text{g}_{\text{aerogel}}/\text{cm}^3$ . Sin embargo, utilizar el 2 % de k-carragenina promovió la formación de poros más grandes, lo cual resulta en una menor estabilidad (retención de aceite) comparada con la de los oleogeles de 1 % y 0.4 % del biopolímero (62.21 %, 82.18 %, 83 %, respectivamente). La firmeza de los oleogeles deshidratados con  $\text{CO}_2$  supercrítico es mayor (158.33-311.70 N) comparada con la de los oleogeles deshidratados mediante liofilización (1.7 N-61.24 N) (Manzocco *et al.*, 2017; Plazzotta *et al.*, 2019). Vemos entonces que, aunque el secado por medio de fluidos supercríticos otorga beneficios en la estabilidad de los oleogeles comparado con la liofilización, el costo elevado de este proceso (secado por fluidos supercríticos) puede representar una desventaja para su uso a gran escala.

### 1.2.2. Oleogeles utilizando proteínas

Para la elaboración de oleogeles, se han utilizado proteínas de diversas formas; entre los métodos más explorados están las emulsiones y, en menor medida, las espumas y agregados proteicos.

En cuanto al uso de emulsiones, es necesario lograr una estructura estable ante la coalescencia, ya que cuando la emulsión se somete a deshidratación, la fase oleosa puede aglomerarse, desestabilizando e incluso colapsando el sistema por coalescencia. Es posible estabilizar las emulsiones utilizando proteínas, puesto que, gracias a la estructura anfipática de estos biopolímeros, actúan como agentes emulgentes al disminuir la tensión interfacial mediante la formación de capas interfaciales y el aumento de las cargas netas. También se ha reportado que la combinación de proteínas con otros biopolímeros, como los polisacáridos, puede mejorar la estabilidad de las emulsiones. Esto se debe a un aumento en la viscosidad, el volumen de la capa interfacial y las repulsiones electrostáticas entre las partículas de la emulsión (Abdolmaleki *et al.*, 2019; Chen y Zhang, 2020; De Oliveira *et al.*, 2016; Patel, Lewille *et al.*, 2014).

Las proteínas de origen animal más utilizadas en la producción de oleogeles, son los aislados de suero de leche, el caseinato de sodio y la gelatina, gracias a las características físicas y reoló-

gicas específicas que les confieren a los sistemas, y a que son elementos de grado alimentario. En un estudio realizado con mezclas binarias y ternarias de caseinato de sodio (CS), goma xantana (GX) y goma guar (GG), enfocado en la disminución de la pérdida de aceite en los oleogel, se demostró que las combinaciones ternarias (CN/GX/GX) producen oleogel con una alta retención de aceite (98 %). Se observó que estos oleogel tuvieron una viscosidad aparente ( $\mu_{ap} = 279.26 \text{ Pa s} - 275.36 \text{ Pa s}$ ) y módulos de almacenamiento ( $G' = 275,362 \text{ Pa}$ ) similares a una margarina industrial ( $\mu_{ap} = 330 \text{ Pa s}$  y  $G' = 246,287 \text{ Pa}$ ), pueden ser una opción viable para la elaboración de margarinas con alto contenido de ácidos grasos insaturados (Abdolmaleki *et al.*, 2019).

La gelatina es una proteína utilizada en la industria alimentaria por sus propiedades gelificantes, sin embargo, se ha implementado como ingrediente en la formulación de oleogel a partir de emulsiones y espumas. Patel, Lewille *et al.* (2014) utilizaron emulsiones con un volumen del 60 % de aceite, deshidratadas a 70 °C o mediante liofilización. Los oleogel obtenidos a partir de esta formulación presentan una firmeza de 0.6-1.19 N al utilizar deshidratación por liofilización y de 0.46 - 0.63 N cuando son secados por convección. De acuerdo con el comportamiento reológico, estos oleogel tienen un comportamiento pseudoplástico con una fuerte estructura indicada por un aumento de  $G'$  (10,000 Pa) con respecto a la  $G''$  (1000 Pa). Aunque estos oleogel presentan una disminución de la viscosidad en función de una mayor velocidad de corte y temperatura, tienen la capacidad de una recuperación parcial de la estructura. Estas características reológicas y capacidades de recuperación estructural han sido reportadas de manera similar en formulaciones de gelatina (1.2 %), goma de linaza (0.6 %) y ácido tánico (0.075 %) (Qiu *et al.*, 2018). La microestructura de los oleogel obtenidos a partir de emulsiones, los oleogel están estabilizados por la formación de una monocapa interfacial, la cual se establece por medio de interacciones proteína-proteína, de esta manera, el aceite es retenido en las estructuras polihédricas (Mezzenga y Ulrich, 2010; Patel *et al.*, 2015; Romoscanu y Mezzenga, 2006; Wijaya *et al.*, 2019).

Otra alternativa reportada ha sido el uso de gelatina a partir de espumas, en este caso, la espuma deshidratada forma una estructura porosa que es capaz de absorber hasta un 51 % de

su peso en aceite. De acuerdo con su capacidad de retención de aceite (96 % de retención de aceite), se considera que estos oleogel tienen alta estabilidad física. Entre las propiedades físicas de estos oleogel, se reporta una estructura resistente característica de un gel, donde la  $G'$  ( $2.59 - 8.63 \times 10^4 \text{ MPa}$ ) es hasta 11 veces más alta comparada con  $G''$ . Estos oleogel también demostraron una recuperación de hasta 60 % de su estructura después de aplicar fuerzas de corte ( $0.1 - 10 \text{ s}^{-1}$ ). De acuerdo con estas características, estos oleogel han sido propuestos para la elaboración de productos que requieren altas temperaturas u horneado (Abdollahi *et al.*, 2020).

Además de las propiedades emulgentes y espumantes de las proteínas de origen animal, la capacidad de formar hidrogel también ha sido aprovechada para la formación de oleogel a través de un método conocido como «intercambio de solvente». Este método ha sido descrito por De Vries, Hendriks, Van der Linden y Scholten (2015). Una vez obtenido el hidrogel por desnaturalización parcial térmica (85 °C por 30 minutos), se le elimina el agua al sumergirlo en un solvente intermedio (acetona). Posterior a la eliminación de agua, la estructura tridimensional formada por las proteínas se sumerge en el aceite, el cual ingresa al sistema por medio de fenómenos de difusión y es retenido por fuerzas capilares para formar el oleogel.

Este método ha sido mejorado y modificado, sustituyendo el uso de un hidrogel por un agregado de proteínas (obtenido por desnaturalización térmica), el cual es utilizado para el procedimiento de intercambio de solventes, en donde el agregado proteico actúa como agente gelificante del aceite de interés. El mecanismo de gelificación en este método se basa en las interacciones de los residuos hidrofóbicos de las proteínas con el medio oleoso, y la estabilización de una red tridimensional por puentes hidrógeno entre los residuos hidrofílicos de las proteínas. Las propiedades reológicas de estos oleogel están determinadas por dos factores, la concentración de proteína utilizada para formar el oleogel y por la adición de agua al oleogel (adición directa durante el proceso de gelificación). Se ha reportado que el uso de concentraciones de proteína <6 % reduce drásticamente el módulo de almacenamiento (1000 Pa), comparado con oleogel al 15 % de concentración de proteína ( $G' = 1000 \text{ kPa}$ ) (De Vries *et al.*, 2015; De Vries *et al.*, 2017). Sin

embargo, al añadir agua en una concentración de 0.3 g de agua/g de proteína, la  $G'$  puede incrementar hasta 100,000 Pa utilizando solamente 4 % de concentración de proteínas (De Vries *et al.*, 2018; Meissner *et al.*, 2019).

La proteína de soya ha sido la única proteína vegetal explorada en la elaboración de oleogeles. Wijaya *et al.* (2019) elaboraron oleogeles utilizando emulsiones estabilizadas con mezclas de proteína de soya (0.6, 0.8, 1 y 1.2 %) y alginato de sodio (0.1 %), en su trabajo, estudiaron el efecto de la concentración de proteína sobre las propiedades finales de los oleogeles. La combinación con mayor concentración de proteínas produjo los oleogeles con mayor estabilidad (>95 % de retención de aceite) y mayor módulo de almacenamiento ( $6-8 \times 10^4$  Pa), lo cual indica una estructura más rígida y resistente. Sin embargo, la capacidad de retención de aceite puede variar de acuerdo con el método de elaboración del oleogel. Al utilizar espumas con proteína de soya, los oleogeles

obtenidos fueron menos estables comparado con los oleogeles a partir de emulsiones, ya que la retención de aceite fue de únicamente 40 % (Chen y Zhang, 2020).

## 2. Aplicación de oleogeles en alimentos

Los oleogeles se han empleado para la elaboración de diferentes tipos de alimentos, por ejemplo, en productos cárnicos, los cuales han sido los más estudiados. Además, se han utilizado para la producción de panes, queso crema, rellenos para galletas, helados y chocolates. En cuanto a la naturaleza de los oleogeles, los más empleados en sistemas alimentarios han sido los elaborados con EC, y en menor medida, aquellos elaborados con otros derivados de celulosa (HPMC y MC) o proteínas. A continuación (tabla II), se presentan los usos de oleogeles en los sistemas alimentarios mencionados anteriormente, así como también se explorará el efecto de dichos oleogeles sobre las características físicas u organolépticas de los productos alimentarios.

**Tabla II.** Oleogeles utilizados en productos alimentarios, nivel de sustitución y efecto en el producto alimentario

Producto alimentario	Lípido saturado reemplazado	Biopolímero y concentración (%)	Lípido insaturado contenido en el oleogel	Efecto en las propiedades sensoriales o físicas del producto	Referencia
Helado	Aceite de coco	10 % EC	Aceite de girasol	Aumento en el tamaño de glóbulos de grasa. Derretimiento más lento al sustituir el aceite de coco.	Munk <i>et al.</i> (2018)
Salchichas tipo Frankfurt	Grasa de cerdo	10 % EC + 1.5 de moestearato de sorbitano	Aceite de canola	Dureza similar la salchicha Frankfurt tradicional con una sustitución del 80 % de grasa de cerdo.	Zetzi <i>et al.</i> (2012) Barbut <i>et al.</i> (2016ab)
Venison español	Grasa de cerdo	1 % de proteína de soya	Aceite de oliva	Disminución de la aceptabilidad general al sustituir más del 25 %, aumento del sabor y olor característico del aceite de oliva	Utrilla <i>et al.</i> (2014)
Paté	Grasa de cerdo	11 % EC + 3.67 % moestearato de sorbitano	Mezcla de aceite de oliva-linaza-pescado (44.39 %-37.87 %-17.74 %, respectivamente)	Textura similar a las muestras control y disminución de la aceptabilidad general fue menor al sustituir la grasa de cerdo	Gómez-Estaca <i>et al.</i> (2018)
Hamburguesa	Grasa de res	4 % HPMC	Aceite de canola	Reducción en la firmeza entre 60 y 70 %. Disminución de aceptabilidad general a partir de un 50 % de sustitución de grasa	Oh <i>et al.</i> (2019)
Margarinas	Proceso de hidrogenación	10 % EC + 1 % TMS	Aceite de soya	Propiedades de higroscopicidad, incorporación de aire y propiedades reológicas similares a margarinas comerciales.	Patel, Cludts <i>et al.</i> (2014) Ye <i>et al.</i> (2019)

**Tabla II.** Oleogel utilizados en productos alimentarios, nivel de sustitución y efecto en el producto alimentario (continuación)

Producto alimentario	Lípido saturado reemplazado	Biopolímero y concentración (%)	Lípido insaturado contenido en el oleogel	Efecto en las propiedades sensoriales o físicas del producto	Referencia
Panes	Manteca vegetal	10 % EC	Aceite de soya	Perfil de textura similar a los panes elaborados con manteca vegetal comercial	Patel, Cludts <i>et al.</i> (2014) Ye <i>et al.</i> (2019)
Muffins	Manteca vegetal	4 % HPMC	Aceite de girasol	Aumento de la dureza y fracturabilidad al sustituir más del 50 % de manteca vegetal.	Oh y Lee (2018)
Relleno cremoso de galletas	Manteca vegetal	3 % HPMC 3 % MC	Aceite de canola	Ligera disminución de la liberación de aceite y aumento de la dureza al sustituir más del 75 % de manteca vegetal.	Tanti <i>et al.</i> (2016)
Chocolate	N.E	2.17 % EC	N.E	Producción de chocolates firmes a temperaturas > 40 °C.	Stortz y Marangoni (2013)
Queso crema	Crema de leche	10 % EC	Aceite de soya	Disminución de la adhesividad y aceptabilidad sensorial al sustituir la crema.	Bemer <i>et al.</i> (2016)

\*N.E: No especificado. EC: Etilcelulosa. HPMC: Hidroxipropilmetilcelulosa. MC: Metilcelulosa. TMS: trigliceril monoestearato.

## 2.1. Productos cárnicos

Los oleogel basados en biopolímeros han sido utilizados mayormente en productos cárnicos, actualmente, existen reportes de su uso en salchichas tipo Frankfurt, embutidos, paté y hamburguesas de carne de res. En alimentos como el paté, la grasa animal es fundamental para el desarrollo de la textura y untabilidad, y la adición de aceite puede incrementar la dureza del producto, además de generar sabores y olores desagradables por la oxidación de lípidos. El uso de oleogel en estos productos puede ser una alternativa para la producción de paté con una textura similar. La sustitución total de grasa de cerdo (15 %) con oleogel de EC (11 % + 3.67 % monoestearato de sorbitano) en muestras de paté, incrementó en gran medida la cantidad de ácidos grasos insaturados (10.62 mg/g) comparado con las muestras control (8.09 mg/g). La adición de oleogel de EC modificó ligeramente la fuerza de penetración en las muestras de paté (1.22 - 1.28 N) comparado con los productos control (0.94 N). Sin

embargo, las propiedades sensoriales sí fueron afectadas negativamente, ya que la aceptabilidad general fue menor en los productos con oleogel (5.3 - 6) comparado con las de las muestras con grasa de cerdo (7.5) (Gómez-Estaca *et al.*, 2018).

Los oleogel de EC también han sido utilizados en la elaboración de salchichas tipo Frankfurt, de manera similar a los patés reducidos en grasa animal, las salchichas elaboradas con oleogel demostraron propiedades de textura similares a los productos con grasa de cerdo. Zetzl *et al.* (2012), estudiaron el efecto de la sustitución de grasa animal con oleogel de EC10 cP. La adición de estos oleogel en la formulación de salchichas no modificó la dureza de los productos con respecto a las salchichas convencionales (42 N y 39 N, respectivamente), así mismo, no se observaron diferencias entre la masticabilidad de las muestras reducidas en lípidos saturados (10 N) y las muestras control (9 N). Por el contrario, el uso de aceite líquido aumentó considerablemente ambas propiedades de textura, esto se atribuye

a un aumento de las interacciones entre las proteínas de la carne, formando una masa con mayor densidad y compactación. De acuerdo con sus propiedades sensoriales, se ha demostrado que se puede sustituir hasta un 80 % de grasa de cerdo con oleogeles de EC10 cP (8 - 10 %) y 1.5 % de monoestearato de sorbitano sin afectar la aceptabilidad de las salchichas tipo Frankfurt (Barbut *et al.*, 2016a, 2016b).

Debido a los cambios en textura y propiedades sensoriales, los oleogeles elaborados con HPMC se pueden utilizar para una sustitución parcial de grasa animal. Al utilizar oleogeles de HPMC para sustituir la grasa de res en hamburguesas, se observó una reducción en la firmeza en un rango de 60-70 % comparado con las muestras control. De acuerdo con la evaluación sensorial, se puede reemplazar hasta un 50 % de grasa de res con oleogeles de HPMC sin afectar el sabor y la aceptabilidad general de las hamburguesas (Oh *et al.*, 2019).

La información de oleogeles elaborados con proteínas y su efecto sobre matrices alimentarias es limitada. Se ha evaluado el efecto del reemplazo parcial (0, 15, 25, 35, 45 y 55 %) de grasa de cerdo por oleogeles elaborados con proteína de soya en muestras de Venison español. Con respecto a la aceptabilidad de los productos, la sustitución de grasa de cerdo en una proporción mayor al 25 % afecta negativamente los atributos de aceptabilidad, sabor, olor y color, principalmente por una predominancia del aroma y sabor característicos del aceite de oliva (Utrilla *et al.*, 2014). El uso de aceites con menor cantidad de compuestos aromáticos podría permitir una mayor sustitución de grasa de cerdo sin comprometer las propiedades de sabor y aroma de los productos adicionados con oleogeles.

## 2.2. Productos de panadería

La margarina y las mantecas vegetales son ingredientes fundamentales para la elaboración de panes, ya que tienen la función de incorporar aire, volumen y controlar las interacciones de proteínas (gluten) en la masa (Zhu *et al.*, 2005). De acuerdo con las características de firmeza que pueden ser obtenidas con los oleogeles de EC100 cP han sido aprovechadas para la elaboración de margarinas con alto contenido de ácidos grasos insaturados, así como la ausencia de ácidos grasos *trans* (Ye *et al.*, 2019), de igual manera, también se han empleado oleogeles de MC como sustitutos de margarina (Patel, Cludts *et al.*, 2014). La higroscopicidad entre la margarina elaborada con oleogeles (51 mL/ 20 g de aceite) no difiere de algunas margarinas comerciales (48 mL/20 g de aceite). Al igual que la higroscopicidad, la capacidad de incorporación de aire es fun-

damental en las margarinas, ya que ayudan a la formación de alveolos y generar volumen en panes; esta propiedad ha sido estudiada en margarinas elaboradas con EC100 cP, y aunque ha sido menor comparada con margarinas comerciales (0.08 g/mL y 0.13 g/mL respectivamente), la adición de emulgentes como el triglicérido monoestearato (TMS) en concentraciones del 1 % puede aumentar la incorporación de aire de 0.08 hasta 0.14 g/mL de las margarinas con oleogeles. Estas margarinas (EC100 cP y 1 % de TMS) son ideales para la elaboración de panes, ya que el uso de esta margarina aumenta el volumen específico de los panes comparado con la margarina comercial (6.27 mL/g y 5.98 mL/g, respectivamente) generando panes más suaves (Ye *et al.*, 2019). Otro producto similar ha sido elaborado por Patel, Cludts *et al.* (2014), en su estudio se utilizaron oleogeles de MC 1500 (0.8 % + 0.6 % GX) para la elaboración de panes reducidos en margarina o manteca vegetal. Los oleogeles demostraron una incorporación de aire e higroscopicidad similares a la margarina y manteca vegetal (control). A pesar de que los oleogeles empleados diferían en las características reológicas de la manteca vegetal, no hubo diferencia en las propiedades de textura (dureza, cohesividad, masticabilidad y adhesividad) entre ambas muestras de panes.

El uso de oleogeles con HPMC es más limitado comparado con otros derivados de la celulosa como EC y HPMC. Al sustituir la manteca vegetal en muffins de manera parcial (0, 25, 50, 75 y 100 %) con oleogeles de HPMC 4000 cP (4%), se ha observado que se provoca la formación de poros más grandes (3300  $\mu\text{m}$ ) y poco uniformes comparada con los muffins control (2060  $\mu\text{m}$ ). Esta diferencia en el diámetro de poros afecta en gran medida la textura de los muffins; únicamente la sustitución del 50 % de manteca vegetal con oleogeles demostró valores similares de dureza (12.03 N), cohesividad (0.63) y masticabilidad (5.59J) comparado con los muffins convencionales (Oh y Lee, 2018). Debido al proceso de horneado, el uso de oleogeles capaces de recuperar su estructura (oleogeles elaborados con EC, proteínas o MC) son una opción más adecuada para la producción de productos de panadería.

## 2.3. Otros productos alimentarios

Los oleogeles también se han utilizado para la reducción de lípidos saturados en otro tipo de alimentos, por ejemplo, alimentos cremosos (queso crema, relleno de galletas y helados) y chocolates.

La sustitución de lípidos saturados en quesos crema por oleogeles de EC al 10 % logra mantener algunas características respecto a las de los quesos crema convencionales, tales como

el tamaño de glóbulos de grasa (9 y 9.5  $\mu\text{m}$ , respectivamente), la dureza (0.7 - 0.8 N) y esparcibilidad (2.5 - 2.7 Ns), sin embargo, la adhesividad disminuye en los productos con oleogeles (0.5 Ns) con respecto a los productos control (1.4 Ns) (Bemer *et al.*, 2016). Estos cambios en la adhesividad también se han observado en rellenos cremosos para galletas, en los que se han utilizado oleogeles de HPMC y MC (a una concentración de 3 %) para sustituir la manteca vegetal en un rango del 50 - 100 %. Los oleogeles de HPMC demuestran ser los más efectivos para la producción de los rellenos, aunque disminuye la adhesividad respecto a las muestras con manteca vegetal (1.38 J y 5.89 J, respectivamente), así como también en la dureza (0.76-0.93 N y 1.49 N, respectivamente). Se observa una ligera reducción en la liberación de aceite (3 - 4 %) con respecto a las cremas convencionales (4 - 5 %) (Tanti *et al.*, 2016). De acuerdo con los cambios en la adhesividad de estos productos, es probable que el uso de un surfactante como TMS, monoestearato de sorbitano o incluso lecitina mejore la calidad de los oleogeles elaborados con EC, ya que la adición de estos compuestos (surfactantes) ha ayudado a imitar las propiedades físicas de los oleogeles comparadas con las de las margarinas.

En la aplicación de oleogeles de EC (10 %) para sustituir aceite de coco en helados, se ha observado que la adición de los oleogeles mantienen las características de estabilidad física (ante la coalescencia) del producto al crear una distribución uniforme de los glóbulos de grasa. A pesar de que el tamaño de los glóbulos de grasa se ha observado mayor en los helados con oleogeles (30  $\mu\text{m}$ ) respecto a los helados con aceite de coco (4  $\mu\text{m}$ ), la EC logra imitar la morfología y distribución de los glóbulos de grasa de las muestras control, evitando la desestabilización por coalescencia. Además, la velocidad de derretimiento resulta similar entre los productos adicionados con oleogeles y los helados convencionales (Munk *et al.*, 2018).

En chocolates, el uso de oleogeles se ha enfocado al aumento de la temperatura de derretimiento, con el fin de disminuir las pérdidas durante el transporte y almacenamiento de los chocolates en regiones cálidas. Stortz y Marangoni (2013) elaboraron chocolates añadiendo una solución de etanol con EC (concentración final del 2.17 %) al chocolate fundido. De esta manera, el oleogel se estructuró dentro de la mezcla del chocolate y posteriormente el etanol fue evaporado a 30 °C. En este estudio se obtuvieron chocolates con una firmeza mayor comparada con los chocolates comunes (18 N y 0 N, respectivamente) a una temperatura de 40 °C. Además del incremento de la firmeza a 40 °C, la liberación de aceite en los chocolates disminuyó de un 13.5 %

en el control hasta 4.5 % en los chocolates con oleogeles. Estos cambios en la firmeza se atribuyen principalmente a una mayor retención de agua al agregar EC, lo cual a su vez, podría hidratar el azúcar de la formulación y aumentar la viscosidad del sistema, incrementando así la resistencia a la deformación. La adición de oleogeles en chocolates, además de ayudar en la reducción de pérdidas en zonas tropicales, podría tener un amplio campo de aplicación en el desarrollo de postres listos para comer o para la elaboración de chocolates rellenos.

## CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES

La posibilidad de obtener sistemas oleosos sólidos con el uso de agentes gelificantes biopoliméricos, tales como polisacáridos y proteínas, permite explorar no sólo nuevas fuentes para su obtención, sino también nuevas aplicaciones. Los biopolímeros son una alternativa atractiva para la elaboración de oleogeles que permiten la sustitución de lípidos saturados en alimentos en los cuales el contenido de estos lípidos es considerablemente alto, como son productos cárnicos procesados (embutidos, salchichas, patés etc), panadería, emulsiones (mayonesas, aderezos, cremas) y confitería (chocolate). Estudiar la formación de este tipo de sistemas usando biopolímeros de fuentes naturales endémicas o incluso a partir de residuos orgánicos puede representar un valor agregado y una gran oportunidad de investigación en el campo de los oleogeles. A pesar de que es posible utilizar los oleogeles en varios alimentos, su uso modifica los atributos de textura y sensoriales, por lo tanto, es importante profundizar en el estudio de los parámetros de procesamiento (tipo de biopolímero, concentración de biopolímero, mayor número de combinaciones de biopolímeros, temperaturas de proceso, etc.) manipulables para dirigir la producción de oleogeles hacia la producción de alimentos específicos con características sensoriales deseadas.

## AGRADECIMIENTOS

El autor J. C. Metri-Ojeda agradece a la Universidad De Las Américas Puebla (UDLAP) y al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) —hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)—, por el financiamiento para sus estudios de doctorado.

## REFERENCIAS

- Abdollahi, M., Goli, S. A. H. y Soltanizadeh, N. (2020). Physicochemical properties of foam-templated oleogel based on gelatin and xanthan gum. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122(2), 1900196.
- Abdolmaleki, K., Alizadeh, L., Nayebzadeh, K., Hosseini, S. M. y Shahin, R. (2019). Oleogel production based on binary and ternary mixtures of sodium caseinate, xanthan gum, and guar gum: Optimization of hydrocolloids concentration and drying method. *Journal of Texture Studies*, 51(2), 290-299.
- Barbut, S., Wood, J. y Marangoni, A. (2016a). Potential use of organogels to replace animal fat in comminuted meat products. *Meat Science*, 122, 155-162.
- Barbut, S., Wood, J. y Marangoni, A. G. (2016b). Effects of organogel hardness and formulation on acceptance of frankfurters. *Journal of Food Science*, 81(9), C2183-C2188.
- Bascuas, S., Hernando, I., Moraga, G. y Quiles, A. (2020). Structure and stability of edible oleogels prepared with different unsaturated oils and hydrocolloids. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(4), 1458-1467.
- Bemer, H. L., Limbaugh, M., Cramer, E. D., Harper, W. J. y Maleky, F. (2016). Vegetable organogels incorporation in cream cheese products. *Food Research International*, 85, 67-75.
- Brigham, C. (2018). Biopolymers: biodegradable alternatives to traditional plastics. En B. Török, y T. Dransfield (ed.), *Green Chemistry. An Inclusive Approach* (pp. 753-770). Elsevier.
- Chen, K. y Zhang, H. (2020). Fabrication of oleogels via a facile method by oil absorption in the aerogel templates of protein-polysaccharide conjugates. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12(6), 7795-7804.
- Davidovich-Pinhas, M., Barbut, S. y Marangoni, A. G. (2015). The gelation of oil using ethyl cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 117, 869-878.
- Davidovich-Pinhas, M., Gravelle, A. J., Barbut, S. y Marangoni, A. G. (2015). Temperature effects on the gelation of ethylcellulose oleogels. *Food Hydrocolloids*, 46, 76-83.
- De Oliveira, F. C., Coimbra, J. S. D. R., De Oliveira, E. B., Zúñiga, A. D. G. y Rojas, E. E. G. (2016). Food protein-polysaccharide conjugates obtained via the Maillard reaction: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(7), 1108-1125.
- De Vries, A., Gomez, Y. L., Van Der Linden, E. y Scholten, E. (2017). The effect of oil type on network formation by protein aggregates into oleogels. *RSC Advances*, 7(19), 11803-11812.
- De Vries, A., Hendriks, J., Van Der Linden, E. y Scholten, E. (2015). Protein oleogels from protein hydrogels via a stepwise solvent exchange route. *Langmuir*, 31(51), 13850-13859.
- De Vries, A., Jansen, D., Van Der Linden, E. y Scholten, E. (2018). Tuning the rheological properties of protein-based oleogels by water addition and heat treatment. *Food Hydrocolloids*, 79, 100-109.
- Ghosh, M., Upadhyay, R., Mahato, D. K. y Mishra, H. N. (2019). Thermal and oxidative stability assessment of synergistic blends of sunflower and sesame oils tailored for nutritionally stable composition of omega fatty acids. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 135(4), 2389-2398.
- Gómez-Estaca, J., Herrero, A. M., Herranz, B., Álvarez, M. D., Jiménez-Colmenero, F. y Cofrades, S. (2019). Characterization of ethyl cellulose and beeswax oleogels and their suitability as fat replacers in healthier lipid pâtés development. *Food Hydrocolloids*, 87, 960-969.
- Gravelle, A. J., Barbut, S. y Marangoni, A. G. (2013). Fractionation of ethylcellulose oleogels during setting. *Food & Function*, 4(1), 153-161.
- Husted, K. S. y Bouzino, E. V. (2016). The importance of n-6/n-3 fatty acids ratio in the major depressive disorder. *Medicina*, 52(3), 139-147.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J. y Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59(1), 5-13.
- Laredo, T., Barbut, S. y Marangoni, A. G. (2011). Molecular interactions of polymer oleogelation. *Soft Matter*, 7(6), 2734-2743.
- Liu, X., Wang, S., Masui, E., Tamogami, S., Chen, J. y Zhang, H. (2019). Analysis of the dynamic decomposition of unsaturated fatty acids and tocopherols in commercial oils during deep frying. *Analytical Letters*, 52(12), 1991-2005.
- Manzocco, L., Valoppi, F., Calligaris, S., Andreatta, F., Spilimbergo, S. y Nicoli, M. C. (2017). Exploitation of κ-carrageenan aerogels as template for edible oleogel preparation. *Food Hydrocolloids*, 71, 68-75.
- Martins, A. J., Vicente, A. A., Cunha, R. L. y Cerqueira, M. A. (2018). Edible oleogels: an opportunity for fat replacement in foods. *Food & Function*, 9(2), 758-773.
- Martins, A. J., Vicente, A. A., Pastrana, L. M. y Cerqueira, M. A. (2019). Oleogels for development of health-promoting food products. *Food Science and Human Wellness*, 9(1), 31-39.
- Meissner, P. M., Keppler, J. K., Stöckmann, H., Schrader, K. y Schwarz, K. (2019). Influence of water addition on lipid oxidation in protein oleogels. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(9), 1800479.
- Meng, Z., Qi, K., Guo, Y., Wang, Y. y Liu, Y. (2018a). Macro-micro structure characterization and molecular properties of emulsion-templated polysaccharide oleogels. *Food Hydrocolloids*, 77, 17-29.
- Meng, Z., Qi, K., Guo, Y., Wang, Y. y Liu, Y. (2018b). Physical properties, microstructure, intermolecular forces, and oxidation stability of soybean oil oleogels structured by different cellulose ethers. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(6), 1700287.

- Mezzenga, R. y Ulrich, S. (2010). Spray-dried oil powder with ultrahigh oil content. *Langmuir*, 26(22), 16658-16661.
- Munk, M. B., Munk, D. M., Gustavsson, F. y Risbo, J. (2018). Using ethylcellulose to structure oil droplets in ice cream made with high oleic sunflower oil. *Journal of Food Science*, 83(10), 2520-2526.
- Oh, I. K. y Lee, S. (2018). Utilization of foam structured hydroxypropyl methylcellulose for oleogels and their application as a solid fat replacer in muffins. *Food Hydrocolloids*, 77, 796-802.
- Oh, I., Lee, J., Lee, H. G. y Lee, S. (2019). Feasibility of hydroxypropyl methylcellulose oleogel as an animal fat replacer for meat patties. *Food Research International*, 122, 566-572.
- Orsavova, J., Misurcova, L., Ambrozova, J. V., Vicha, R. y Mlcek, J. (2015). Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(6), 12871-12890.
- Ozilgen, S., y Bucak, S. (2018). Functional biopolymers in food manufacturing. En A. M. Grumezescu y A. M. Holban (ed.), *Biopolymers for food design* (pp. 157-189). Academic Press.
- Patel, A. R., Cludts, N., Bin Sintang, M. D., Lesaffer, A. y Dewettinck, K. (2014). Edible oleogels based on water soluble food polymers: preparation, characterization and potential application. *Food & Function*, 5(11), 2833-2841.
- Patel, A. R. y Dewettinck, K. (2016). Edible oil structuring: an overview and recent updates. *Food & Function*, 7(1), 20-29.
- Patel, A. R., Lewille, B., Cludts, N., Bin Sintang, M. D., Lesaffer, A. y Dewettinck, K. (2014). Polysaccharide-based oleogels prepared with an emulsion-templated approach. *Chemphyschem. A European Journal of Chemical Physics and Physical Chemistry*, 15(16), 3435-3439.
- Patel, A. R., Rajarethinam, P. S., Cludts, N., Lewille, B., De Vos, W. H., Lesaffer, A. y Dewettinck, K. (2015). Biopolymer-based structuring of liquid oil into soft solids and oleogels using water-continuous emulsions as templates. *Langmuir. The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 31(7), 2065-2073.
- Patel, A. R., Schatteman, D., Lesaffer, A. y Dewettinck, K. (2013). A foam-templated approach for fabricating organogels using a water-soluble polymer. *Rsc Advances*, 3(45), 22900-22903.
- Peng, X. y Yao, Y. (2017). Carbohydrates as fat replacers. *Annual Review of Food Science and Technology*, 8, 331-351.
- Plazzotta, S., Calligaris, S. y Manzocco, L. (2019). Structure of oleogels from  $\kappa$ -carrageenan templates as affected by supercritical-CO<sub>2</sub>-drying, freeze-drying and lettuce-filler addition. *Food Hydrocolloids*, 96, 1-10.
- Puşças, A., Mureşan, V., Socaciu, C. y Muste, S. (2020). Oleogels in food: a review of current and potential applications. *Foods*, 9(1), 70. 1-27.
- Qiu, C., Huang, Y., Li, A., Ma, D. y Wang, Y. (2018). Fabrication and characterization of oleogel stabilized by gelatin-polyphenol-polysaccharides nanocomplexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(50), 13243-13252.
- Romoscanu, A. I. y Mezzenga, R. (2006). Emulsion-templated fully reversible protein-in-oil gels. *Langmuir. The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 22(18), 7812-7818.
- Saha, D. y Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 47(6), 587-597.
- Shahidi, F. y Ambigaipalan, P. (2018). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and their health benefits. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9, 345-381.
- Singh, A., Auzanneau, F. I. y Rogers, M. A. (2017). Advances in edible oleogel technologies-A decade in review. *Food Research International*, 97, 307-317.
- Stortz, T. A. y Marangoni, A. G. (2013). Ethylcellulose solvent substitution method of preparing heat resistant chocolate. *Food Research International*, 51(2), 797-803.
- Tanti, R., Barbut, S. y Marangoni, A. G. (2016). Hydroxypropyl methylcellulose and methylcellulose structured oil as a replacement for shortening in sandwich cookie creams. *Food Hydrocolloids*, 61, 329-337.
- Utrilla, M. C., Ruiz, A. G. y Soriano, A. (2014). Effect of partial replacement of pork meat with an olive oil organogel on the physicochemical and sensory quality of dry-ripened venison sausages. *Meat Science*, 97(4), 575-582.
- Vieira, S. A., McClements, D. J. y Decker, E. A. (2015). Challenges of utilizing healthy fats in foods. *Advances in Nutrition*, 6(3), 309S-317S.
- Wijaya, W., Sun, Q. Q., Vermeir, L., Dewettinck, K., Patel, A. R. y Van Der Meeren, P. (2019). pH and protein to polysaccharide ratio control the structural properties and viscoelastic network of HIPE-templated biopolymeric oleogels. *Food Structure*, 21, 100112.
- Winkler-Moser, J. K. y Mehta, B. M. (2015). Chemical composition of fat and oil products. En P. C. K. Cheung y B. M. Mehta (ed.), *Handbook of food chemistry. Springer Verlag* (pp. 365-403). Springer Reference.
- Ye, X., Li, P., Lo, Y. M., Fu, H. y Cao, Y. (2019). Development of novel shortenings structured by ethylcellulose oleogels. *Journal of Food Science*, 84(6), 1456-1464.
- Zambiasi, R. C., Przybylski, R., Zambiasi, M. W. y Mendonça, C. B. (2007). Fatty acid composition of vegetable oils and fats. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 25(1), 111-120.
- Zetzl, A. K., Marangoni, A. G. y Barbut, S. (2012). Mechanical properties of ethylcellulose oleogels and their potential for saturated fat reduction in frankfurters. *Food & Function*, 3(3), 327-337.
- Zhu, X. J., Qiu, A. Y., y Jin, Q. Z. (2005). Preparation of shortenings based on stearin fractions of lard. *China Oils & Fats*, 30(8), 11-14.



# Métodos de sanitización de semillas para consumo directo y de semillas para germinados

---

A.E. García-Santiesteban\*, E. Palou y M.T. Jiménez-Munguía.

\*Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos  
Correo electrónico: [abril.garciasn@udlap.mx](mailto:abril.garciasn@udlap.mx) • [mariat.jimenez@udlap.mx](mailto:mariat.jimenez@udlap.mx)

## RESUMEN

Las semillas y germinados son productos naturales cuya popularidad ha cobrado importancia entre consumidores debido a sus múltiples beneficios, tanto nutricionales como para la salud. Debido a su origen y cultivo en el campo, son alimentos con baja calidad microbiológica y alta probabilidad de contener microorganismos patógenos. Por ello, para prevenir afecciones a la salud de los consumidores, se han emitido recomendaciones para evitar su contaminación y asegurar el uso de desinfectantes en los casos aplicables. Sin embargo, este esfuerzo ha sido insuficiente. De acuerdo con cifras oficiales, los brotes de enfermedades producidos por el consumo de este tipo de alimentos prevalecen.

El objetivo de este artículo es presentar la información disponible sobre los métodos de sanitización probados, así como su eficacia, en semillas y germinados, con la finalidad de analizar su efectividad, ventajas y desventajas, y mostrar soluciones alternativas a los problemas de inocuidad en este tipo de productos de interés a nivel mundial.

**Palabras clave:** semillas, germinados, sanitización, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*.

## ABSTRACT

Seeds and seed sprouts are natural products whose popularity has grown among consumers due to their many nutritional and health benefits. Given their origin and cultivation in the field, these are products with low microbiological quality and high probability of containing pathogens. In order to prevent health risks to consumers, recommendations have been issued to avoid their contamination. However, this effort has been insufficient. According to official information, disease outbreaks caused by the consumption of these types of foods still prevail.

This article aims to present available information on proven sanitation methods and their effectiveness, for seeds and seed sprouts, in order to analyze their effectiveness, advantages and disadvantages, and to display alternative solutions to this worldwide problem.

**Keywords:** seeds, sprouts, food safety, sanitization, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*.

## INTRODUCCIÓN

Tanto las semillas de consumo directo como los germinados de semillas son alimentos con valor nutricional comprobado. Contienen abundantes vitaminas y minerales, además de altos niveles de proteínas (Ding *et al.*, 2013). Diversos estudios han confirmado sus importantes beneficios a la salud por sus propiedades anticolesterolémicas, antiartríticas y anticancerígenas (Kim *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2006). Esto ha llevado a un incremento en la demanda y el consumo de semillas y sus germinados; sin embargo, a pesar de sus beneficios, las semillas son alimentos cuyo origen en el campo implica un alto riesgo de contaminación microbiológica con patógenos, por lo que han causado importantes brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) (Yang *et al.*, 2013).

Para asegurar su inocuidad, el Departamento de Agricultura de Estados Unidos y la Administración de Alimentos y Medicamentos (USDA y FDA, respectivamente, por sus siglas en inglés) han emitido manuales de buenas prácticas agrícolas (BPA) para prevenir, en la medida de lo posible, la contaminación de estos alimentos con patógenos, como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Bacillus cereus* (Kim *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2013). Para el caso específico de los germinados, la FDA recomienda la desinfección de las semillas —principal fuente de contaminación— con una solución de hipoclorito de calcio que contenga 20,000 ppm de cloro libre. Sin embargo, este método de sanitización no suele ser utilizado para el grupo de semillas de consumo directo, como semillas de girasol, calabaza o sésamo, entre otras. Esto se debe a que la solución acuosa afecta el contenido de humedad de las semillas, reduciendo su periodo de almacenamiento y ocasionando cambios en detrimento de la calidad sensorial de las mismas. En lugar de ello, para este grupo de semillas se emplean comúnmente métodos térmicos, cuyo principal objetivo es disminuir el contenido de humedad de la semilla para alargar su vida útil y controlar la población microbiana (Himathongkham *et al.*, 2001; Kumar *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2013).

A pesar de estas recomendaciones, de acuerdo con información proporcionada por los Centros para el Control y

Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés), cada vez es mayor el número de brotes de ETA por consumo de semillas. Se trata de un área de oportunidad importante en el aseguramiento de la inocuidad de estos alimentos, por lo que algunos investigadores se han interesado por el estudio y aplicación de nuevas tecnologías que aseguren una sanitización efectiva, mientras conserva las características nutricionales y sensoriales de las semillas (Himathongkham *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2013).

La presente revisión busca presentar la información disponible sobre los métodos de sanitización, así como su eficacia, en semillas y germinados, con la finalidad de analizar su efectividad, ventajas y desventajas, y mostrar soluciones alternativas a los problemas de inocuidad en este tipo de productos de interés a nivel mundial.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1. Riesgos microbiológicos asociados con el consumo de semillas

Las principales fuentes de contaminación de las semillas se presentan durante la pre-cosecha y son todas aquellas a las que la semilla se encuentra expuesta durante su cultivo; como el agua de irrigación, heces de animales salvajes, excretas de aves, estiércol de ganado en abonos orgánicos y la propia calidad microbiológica del suelo de cultivo. Todo ello expone a la semilla a un amplio rango de contaminación por microorganismos patógenos (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2008; Tamber *et al.*, 2016; Willis *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2013).

Durante la producción, los microorganismos patógenos se introducen en la microbiota de las semillas de diferentes maneras. La práctica frecuente del uso de estiércol como fertilizante representa una opción barata y fácil para mejorar la calidad del suelo. Sin embargo, el estiércol puede contener bacterias patógenas, como *Campylobacter* spp. y *Salmonella* spp., las cuales se introducen al suelo y después —por diversos factores— pueden migrar al producto (Yang *et al.*, 2013). Cuando animales domés-

ticos y salvajes tienen acceso al cultivo, la probabilidad de contaminación por patógenos aumenta por la presencia de heces de estos animales. Bacterias patógenas, como *Salmonella* spp. y *E. coli* O157:H7, pueden sobrevivir en restos de heces y en el suelo de cultivo por periodos de varios días, incluso meses. Se ha demostrado que *Salmonella* spp. puede sobrevivir hasta 60 días en heces durante el invierno; mientras que *E. coli* O157:H7 sobrevive por periodos de hasta 97 días en estiércol y suelo, y hasta 109 días en agua de riego (O'Neill *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2013).

Por otro lado, las características propias de la planta cobran relevancia. Por ejemplo, las semillas de girasol suelen tener mejor calidad microbiológica debido a que la mata puede medir hasta 2 metros de altura. Esta distancia que guarda del suelo le da una ventaja en comparación con semillas cuya planta tiene menor altura y cuya semilla se encuentra más cercana al suelo, como la semilla de chía o de alfalfa (Tamber *et al.*, 2016; Willis *et al.*, 2009).

La etapa de cosecha es otro punto crítico, puesto que durante este proceso las semillas suelen ser extendidas sobre el suelo, quedando expuestas a diversos factores de contaminación, como heces de roedores, aves, animales salvajes, entre otros, aumentando el riesgo de contaminación. Asimismo, tanto el equipo utilizado durante la cosecha como el sitio de almacenamiento y los contenedores en los que las semillas se almacenan o transportan, juegan un papel importante como factor de contaminación. Si estos no han sido adecuadamente lavados o sanitizados, pueden contribuir a la contaminación cruzada de patógenos en las semillas, tanto por presencia de microorganismos provenientes de lotes anteriores como por presencia de heces de roedores y otros animales que suelen introducirse en los mismos en búsqueda de comida (Yang *et al.*, 2013).

### 1.1. Riesgos microbiológicos presentes en la producción de semillas para consumo directo

Debido a que el contenido de humedad de este tipo de semillas, como la de girasol, calabaza, sésamo, chía, lino, entre otras, suele alcanzar niveles superiores al 20 % después de su cosecha, es común someterlas a un proceso térmico de secado con el objetivo

de disminuir su contenido de humedad a menos de 10 %. Este proceso suele involucrar la extensión de las semillas sobre el suelo para secarlas al sol directo, o deshidratarlas en horno con aire forzado, incrementando el riesgo de contaminación y disminuyendo su calidad microbiológica (Tamber *et al.*, 2016; Willis *et al.*, 2009).

En otros casos, la reducción de humedad se realiza junto con el proceso de tostado, el cual involucra un tratamiento térmico que puede no ser efectivo para la eliminación de bacterias, ya que el calor utilizado no siempre se encuentra en un rango de temperatura suficiente para asegurar la inactivación de todas las bacterias patógenas. Esto se debe a que muchas de las propiedades nutricionales, y algunas propiedades sensoriales, de las semillas pueden verse afectadas al utilizar las temperaturas efectivas para la inactivación de microorganismos patógenos (Willis *et al.*, 2009).

Aunque el riesgo microbiológico relacionado con el consumo de este tipo de semillas se encuentra ligado al origen de las mismas, existen pocos datos publicados sobre la calidad microbiológica de semillas secas comestibles. Un estudio realizado en 2009 en Gran Bretaña demostró que el consumo de semillas deshidratadas se asocia con un alto riesgo de salud pública debido a la alta probabilidad de contaminación con *Salmonella* spp. y *E. coli* a través de todas sus etapas, desde la producción hasta su consumo (Harvey *et al.*, 2016; Willis *et al.*, 2009).

En los últimos años, se han reportado diversos incidentes con *Salmonella* relacionados con semillas comestibles y sus productos. Uno de los más grandes —con implicaciones internacionales— se dio en el año 2001 y asociaba el consumo de semillas con *Salmonella* Typhimurium en Suecia, Noruega, Alemania y Australia (Harvey *et al.*, 2016; Willis *et al.*, 2009). Sin embargo, aunque ese brote encendió las alertas alimentarias a nivel mundial sobre el riesgo que representa este tipo de productos, la incidencia de este tipo de enfermedades por su consumo no ha disminuido. En la tabla I se incluyen los brotes más relevantes de ETA relacionados con la ingesta de semillas durante la última década. Como se observa, es importante establecer controles en la producción, métodos de inactivación microbiana y explorar nuevas alternativas para mejorar la inocuidad de las semillas de consumo directo.

**Tabla I.** Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) durante la última década generados por bacterias tras el consumo de semillas y sus germinados

Año	Factor etiológico	Casos	Hospitali-zados	Dece-sos	Semilla	País	Referencia
2009	<i>Salmonella</i> Bovismorbificans	1	42	-	Alfalfa	Finlandia	Yang et al., 2013
	<i>Salmonella</i> Cubana	1	14	-	Alfalfa	Canada	Yang et al., 2013
	<i>Salmonella</i> Saintpaul	235	7	-	Alfalfa	EE. UU.	CDC, 2020
2010	<i>Salmonella</i> Bareilly	1	190	-	Alfalfa	G. B.	Yang et al., 2013
	<i>Salmonella</i> Newport	1	28	-	Soya	EE. UU.	Yang et al., 2013
	<i>Salmonella</i> Newport	44	34	-	Alfalfa	EE. UU.	CDC, 2020
2011	<i>Escherichia coli</i> (STEC O145)	1	3842	53	Fenogreco	Alemania y Francia	CDC, 2020; ECDC, 2010
	<i>Salmonella</i> serotipo I 4,[5],12:i:	140	33	-	Alfalfa	EE. UU.	CDC, 2020
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	25	3	-	Mix (alfalfa, rábano, fenogreco y trébol)	EE. UU.	CDC, 2020
2012	<i>Escherichia coli</i> O26 (STEC O126)	29	7	-	Trébol	EE. UU.	CDC, 2020
	<i>Escherichia coli</i> (STEC O145)	18	4	1	Trébol	EE. UU.	CDC, 2020
2013	<i>Salmonella</i> Montevideo	16	1	1	Sésamo utilizado para Tahini	EE. UU.	CDC, 2020
2014	<i>Salmonella</i> Enteritidis	115	5	-	Soya	EE. UU.	CDC, 2020
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	5	2	Soya	EE. UU.	CDC, 2020
	<i>Escherichia coli</i> O12 (STEC O121)	19	9	-	Trébol	EE. UU.	CDC, 2020
	<i>Salmonella</i> spp.	31	5	-	Chía orgánica	EE. UU.	CDC, 2020
63		12	-	Chía orgánica	Canadá	Public Health Agency of Canada	
2016	<i>Salmonella</i> Muenchen	26	8	-	Alfalfa	EE. UU.	CDC, 2020
	<i>Salmonella</i> Reading	36	7	-	Alfalfa	EE. UU.	CDC, 2020
2017	<i>Salmonella</i> Enteritidis	47	12	-	Pasta de sésamo	Rep. Checa, Alemania, Grecia, G. B.	ECDC,2010
2017	<i>Salmonella</i> Agona	122	11	1	Mix semillas secas «ready to eat»	EE. UU., G. B., Finlandia, Dinamarca y Alemania	ECDC,2010
2018	<i>Salmonella</i> Montevideo	10	0	-	Trébol	EE. UU.	CDC, 2020
2020	<i>Escherichia coli</i>	10	5	-	Semilla de girasol en ensaladas preparadas	EE. UU., Canadá	CDC, 2020

## 1.2. Riesgos microbiológicos presentes en la producción de semillas para germinados

El germinado de algunas semillas como la alfalfa, el trigo y la soya, entre otras, es de consumo común en diferentes países. Las principales fuentes de contaminación de los germinados se relacionan con los distintos factores a los cuales están expuestas las semillas durante su etapa de producción en el campo (Lorenzo-Leal *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2013).

Durante el proceso de producción de los germinados, las semillas se remojan en agua, posteriormente, se mantienen en condiciones de humedad y temperatura de incubación (20-40 °C) por periodos de 2 a 7 días. Estas condiciones son ideales, no solo para la germinación, sino también para la proliferación bacteriana (Weiss *et al.*, 2007). La etapa de germinación es crítica en el desarrollo de contaminación bacteriana, ya que algunas bacterias presentes en la semilla pueden internalizarse en los tejidos durante su germinación (Thomas *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2013). Diversos estudios han demostrado que la carga microbiana en las semillas suele estar entre  $10^3$  y  $10^6$  UFC/g, cuenta que puede incrementar entre  $10^2$  y  $10^3$  UFC/g durante el primer día de germinación, alcanzando poblaciones de hasta  $10^9$  UFC/g durante todo el periodo de germinación (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2008; Weiss *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2013).

Para prevenir riesgos, la FDA recomienda a los consumidores cocinar los germinados para inhibir o eliminar la presencia de bacterias (Weiss *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2013). Sin embargo, se sigue prefiriendo su consumo crudo debido a que se preservan los nutrientes y glucosinolatos que contienen, los cuales son potentes antioxidantes y pueden inducir la apoptosis o muerte celular de células cancerígenas (Bellostas *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2013).

El número de brotes de ETA causados por germinados de semillas ha ido en aumento durante la última década, siendo la alfalfa la fuente más común —como se puede observar en la tabla I—. En general, las bacterias patógenas o agentes etiológicos comúnmente asociados con los brotes son *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157, y *E. coli* O104:H4. Sin embargo, también se reporta la presencia de otros patógenos en semillas para germinados, como *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella* y *Staphylococcus aureus*, aunque en menor cantidad (Rosenquist *et al.*, 2005; Thomas *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2013).

Un estudio detallado sobre la flora bacteriana en germinados de alfalfa a la venta en California determinó que, dentro de

la flora nativa, se encuentran bacterias de los grupos *Proteobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* y *Moraxellaceae*. El mismo estudio demostró, además, que las condiciones de crecimiento y germinación de la alfalfa son ideales para el desarrollo de especies patógenas como *E. coli* O157:H7 y *Salmonella* (Loui *et al.*, 2008; Weiss *et al.*, 2007).

## 2. Métodos térmicos de sanitización de semillas

La temperatura desempeña un papel vital en la afección de los mecanismos de supervivencia de los microorganismos patógenos, por lo que los tratamientos térmicos son efectivos para incrementar la seguridad microbiana de las semillas. En la última década, se han realizado diversos estudios sobre la eficacia de dos tipos de tratamiento térmico para la inactivación de patógenos: calor seco y calor húmedo (Yang *et al.*, 2013). El primer tipo es más propicio para las semillas de consumo directo, mientras que el segundo ha sido estudiado principalmente en semillas para germinado.

### 2.1. Tipos de tratamientos térmicos

Las principales variables de control en este tipo de tratamientos son la temperatura y el tiempo, las cuales dependen de factores como el tipo de semilla, su composición y el microorganismo patógeno que se busca inactivar (Yang *et al.*, 2013). Estos tratamientos se pueden clasificar en tratamientos de calor seco y húmedo de acuerdo con el medio y fuente de calor. En la tabla II se comparan los métodos de todos aquellos ensayos donde se obtuvo una reducción mayor a  $10^4$  UFC/g del patógeno estudiado en semillas.

#### 2.1.1. Calor seco

Se han observado variables en la eficacia desinfectante del tratamiento de semillas a temperaturas alrededor de 50 °C por periodos prolongados de tiempo —desde varias horas hasta días— (Ding *et al.*, 2013). Una temperatura de 50 °C resultó adecuada para reducir la presencia de *E. coli* O157:H7 a niveles debajo de los detectables en semillas de rábano, brócoli y alfalfa. Sin embargo, los tiempos de tratamiento necesarios fueron prolongados, variando entre las 17 y 24 horas. Con estas mismas condiciones, no se lograron resultados significativos en la reducción de *E. coli* O157:H7 en semillas de frijol mungo (Bari *et al.*, 2010). Asimismo, otro estudio realizado por Hu *et al.* (2004), reportó una reducción de  $10^5$  UFC/g de *E. coli* y de  $10^3$  UFC/g de *Salmonella* en el mismo tipo de frijol, utilizando una temperatura de 55 °C. De manera similar, Feng *et al.*

**Tabla II.** Métodos y condiciones de sanitización que cumplen el criterio del Comité Consultivo Nacional sobre Criterios Microbiológicos para Alimentos (NACMCF) sobre una reducción logarítmica mínima de  $10^4$  CFU/g

Método de Sanitización	Semilla	Condiciones de tratamiento	Patógenos	Reducción logarítmica (CFU/g)	Referencia
<i>Métodos térmicos</i>					
Calor seco	Alfalfa y brócoli	50 °C/17 o 24 h	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	5	Bari, Sugiyama et al., 2009
	Frijol mungo	55 °C/4 d	<i>E. coli</i> O157:H7	5	Hu et al., 2004
	Frijol mungo	55 °C/4 d	<i>Salmonella</i> Typhimurium	3	Hu et al., 2004
	Alfalfa y brócoli	55 °C/6 d	<i>E. coli</i> O157:H7	8	Feng et al., 2007
	Alfalfa y brócoli	55 °C/6 d	<i>Salmonella</i> Typhimurium	8	Feng et al., 2007
Calor húmedo	Frijol mungo	85 °C, 40 s/30 s agua fría 2 h agua con 2,000 ppm de cloro	<i>E. coli</i> O157:H7 y <i>Salmonella</i> spp	>6	Bari et al., 2008
<i>Métodos térmicos (calor húmedo) + otro</i>					
+ Choque térmico	Frijol mungo	90 °C, 90 s/30 s agua fría	<i>E. coli</i> O157:H7 y <i>Salmonella</i> spp	>6	Bari, Nei et al., 2010
<i>Métodos térmicos (calor seco) + otro</i>					
+ Agentes químicos	Alfalfa	50 °C/17 h y 1 % ácido oxálico, 0.03 % ácido fítico, 50 % etanol	<i>E. coli</i> O157:H7	>5	Bari, Nei et al., 2009
+ Irradiación	Rábano y frijol mungo	50 °C/17 h y 1 kGy	<i>E. coli</i> O157:H7	>6	Bari Nei et al., 2009
	Brócoli y alfalfa	50 °C/17 h y 0.25 kGy	<i>E. coli</i> O157:H7	>6	Bari Nei et al., 2009
<i>Métodos químicos</i>					
Ca(OCl) <sub>2</sub>	Alfalfa	10 min	<i>Salmonella</i> Stanley	5	Gandhi y Mathews, 2003
	Alfalfa	15 min	<i>E. coli</i> O157:H7	5	Lang et al., 2000
ClO <sub>2</sub>	Rábano	500 µg/ml, 5 min + 70 °C, 48 h.	<i>E. coli</i>	6*	Bang et al., 2011
CO <sub>2</sub>	Alfalfa	60 °C, 30 min, ozono rebombeado	<i>E. coli</i> O157:H7	4.8*	Sharma et al., 2002
EO <i>carvacrol</i> acidificado	Frijol mungo	Aplicado en nanoemulsión	<i>Salmonella enterica</i>	4	Landry et al., 2006
Ácido acético gaseoso	Rábano y alfalfa	8.7 % (v/v), 55 °C, 3 h	<i>E. coli</i> O157:H7 y de <i>Salmonella</i> spp	>5	Nei et al., 2011
Ácido málico	Alfalfa	10 % ácido málico, 1 % TDS	<i>E. coli</i> O157:H7	4*	Fransisca et al., 2011

**Tabla II.** Métodos y condiciones de sanitización que cumplen el criterio del Comité Consultivo Nacional sobre Criterios Microbiológicos para Alimentos (NACMCF) sobre una reducción logarítmica mínima de  $10^4$  CFU/g (continuación)

Método de Sanitización	Semilla	Condiciones de tratamiento	Patógenos	Reducción logarítmica (CFU/g)	Referencia
<i>Tecnologías emergentes</i>					
PLAI	Alfalfa	8 cm, 90 s	<i>E. coli</i> O157:H7	>4	Sharma y Demirci, 2003
	Chía	15 s, fluencia 19.35 J/cm <sup>2</sup>	<i>Salmonella</i> Typhimurium	4	Reyes-Jurado et al., 2019
APH	Berro	300 MPa, 15 min, 4 °C	<i>Salmonella</i> Typhimurium, <i>E. coli</i> MG1655 y <i>Listeria innocua</i>	6	Wuytack et al., 2003
	Alfalfa	650 MPa, 15 min, 20 °C	<i>E. coli</i> O157:H7	>5	Neetoo et al., 2008
	Alfalfa	550 MPa, 2 min, 40 °C	<i>E. coli</i> O157:H7	>5	Neetoo et al., 2009
		-	<i>Shigella flexneri</i> y <i>E. coli</i> LMM1010	4	Wuytack et al., 2003
SC-CO <sub>2</sub>	Alfalfa	4000 psi, 50 °C, 60 min	<i>E. coli</i> K12	>4	Jung et al. 2009
Radiaciones ionizantes	Germinados de alfalfa	3.3 kGy	<i>L. monocytogenes</i>	6	Schoeller et al., 2002
	Germinados de alfalfa	0.5 kGy	<i>Salmonella enterica</i>	>4	Rajkowski et al., 2003
	Germinado de brócoli	1 kGy	<i>L. monocytogenes</i>	4.88	Bari et al. 2005
	Frijol mungo	1 kGy	<i>L. monocytogenes</i>	4.57	Bari et al. 2005

Abreviaciones utilizadas: hipoclorito de calcio (Ca(OCl)<sub>2</sub>), dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>), aceites esenciales (EO, por sus siglas en inglés), pulsos de luz de alta intensidad (PLAI), altas presiones hidrostáticas (APH), dióxido de carbono supercrítico (SC-CO<sub>2</sub>).

\*En estos estudios se comprobó que, a pesar de las altas reducciones logarítmicas en las poblaciones bacterianas, estas alcanzaron niveles superiores a los 10<sup>6</sup> CFU/g durante la etapa de germinación de las semillas.

(2007) lograron reducciones de  $10^2$  y  $10^8$  UFC/g, respectivamente, para *Salmonella* y *E. coli* O157:H7, pero utilizando semillas de alfalfa, y tiempos de hasta 6 días (Feng et al., 2007; Hu et al., 2004). Esto indica que es difícil estandarizar las variables de control, ya que la respuesta dependerá, en gran medida, de la composición y estructura de la semilla utilizada, así como del mecanismo de supervivencia aplicado por el patógeno objetivo.

Por otro lado, un tratamiento rápido a temperaturas superiores a los 90 °C durante 90 segundos, seguido de un choque térmico, a 0 °C por 30 segundos, mejoró la desinfección, logrando reducciones de 6.08 UFC/g y 5.3 UFC/g en las poblaciones iniciales de *E. coli* y *Salmonella* spp., respectivamente. Este método reportó incluso la inactivación total de dichos patógenos, mientras que los tratamientos a menores temperaturas y tiempos más

prolongados, alcanzaron reducciones máximas de 4 UFC/g, sin lograr la total inactivación de los patógenos (Bari *et al.*, 2008). Sin embargo, debido a la disminución en las tasas de germinación en temperaturas mayores a 75 °C, este método no es aplicable para su uso en semillas para germinados (Bari, Nei *et al.*, 2009), pero podría utilizarse para semillas de consumo directo.

En el caso particular de semillas para consumo directo, su tostado implica una serie de reacciones de oscurecimiento que, aunque en muchos casos mejoran sus características sensoriales, también afectan la composición química de las semillas. En un estudio realizado en chíá sobre el efecto del tostado a diferentes temperaturas (160-200 °C) por 5 a 15 minutos, se demostró que la capacidad de retención de agua de la semilla cambió rápidamente a los 180 °C, indicando que a dicha temperatura se producen cambios químicos en la estructura del mucílago. Estos cambios pueden impactar en las características sensoriales, nutricionales y tecnológicas buscadas en esta semilla para su aplicación en diversas áreas (Song *et al.*, 2018).

En muchos casos, la combinación de diferentes tipos de tratamiento puede llevar no solo a mejores resultados en cuanto a la inactivación microbiológica, sino también respecto a la preservación de las características sensoriales y nutricionales propias del producto. Por ejemplo, la combinación de tratamientos prolongados (17 horas) de calor seco a 50 °C con tratamientos químicos (1 % ácido oxálico, 0.03 % ácido fítico, 50 % etanol) dio como resultado la reducción a niveles no detectables de *E. coli* O157:H7 inoculada en semillas de alfalfa (mayor a 10<sup>5</sup> UFC/g), rábano y brócoli, sin comprometer la calidad sensorial de sus germinados. Sin embargo, estas mismas condiciones no fueron suficientes para eliminar completamente el patógeno en semillas de alfalfa y rábano, en cuyos germinados se alcanzó una población de 10<sup>7</sup> UFC/g de *E. coli* O157:H7 posterior a su germinación. La aplicación de calor seco bajo estas condiciones, más una dosis de irradiación de 1.0 kGy, eliminó por completo la población de *E. coli* O157:H7 en semillas de rábano y frijol mungo, mientras que una radiación mínima de 0.25 kGy fue suficiente para eliminar el patógeno en las semillas de brócoli y alfalfa. La combinación de calor seco con radiación a dichas dosis, no afectó significativamente la tasa de germinación de las semillas de alfalfa, brócoli o rábano, pero sí disminuyó el tamaño de los brotes de frijol mungo (Bari, Nei, *et al.*, 2009).

### 2.1.2. Calor húmedo

Los tratamientos con calor húmedo pueden emplear agua caliente o vapor de agua. La desinfección con agua caliente fue uno de los primeros tratamientos estudiados y aplicados para la sanitización de semillas para germinados. Sin embargo, este tipo de tratamientos muestra una pérdida de viabilidad de la semilla cuando se utilizan tiempos prolongados y temperaturas elevadas (Yang *et al.*, 2013).

Algunos tratamientos con calor húmedo suelen implicar un choque térmico, mientras que otros añaden el uso de algún químico para reforzar el efecto inhibitorio. Un estudio en frijol mungo con un tratamiento con agua caliente a 85 °C por 40 segundos, seguido de la inmersión de la semilla en agua fría por 30 segundos y por 2 horas en agua con 2,000 ppm de cloro, logró una reducción hasta límites no detectables de *E. coli* O157:H7 y *Salmonella* spp. Se obtuvo el mismo resultado cuando este frijol fue tratado en agua a 90 °C durante 90 segundos, seguido por la inmersión del mismo en agua fría por 30 segundos. Ambos tratamientos lograron la desinfección de la semilla, sin una reducción significativa en el porcentaje de germinación del frijol mungo (Bari *et al.*, 2010; Bari *et al.*, 2008).

Los tratamientos con calor húmedo pueden ser aplicables, de igual manera, en el germinado, tal como han demostrado algunos estudios (Pao *et al.*, 2008). Sin embargo, el alcance de esta revisión se limita a los métodos de desinfección de las semillas.

## 3. Métodos químicos

Se han observado un gran número de métodos químicos para la desinfección de semillas, utilizando diversos agentes químicos como cloro, agua electrolizada, ozono y otros compuestos ácidos (Yang *et al.*, 2013). Los agentes químicos más utilizados para la desinfección de semillas suelen tener resultados altamente variables (Ding *et al.*, 2013).

### 3.1. Cloro, dióxido de cloro e hipoclorito de sodio y de calcio

El cloro es el agente químico más ampliamente utilizado para sanitizar productos frescos. Para el caso específico de las semillas para germinados, la FDA recomienda el uso de soluciones de 20,000 ppm de cloro activo, como hipoclorito de calcio (Ca [OCl]<sub>2</sub>), durante 15 minutos. Además, recomienda monitorear la calidad microbiológica del agua de irrigación para mitigar los riesgos de ETA con relación al consumo de germinados (Yang *et al.*, 2013).

Las semillas de alfalfa inoculadas con *Salmonella* Stanley y tratadas con 20,000 ppm de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  durante 10 minutos a temperatura ambiente, tuvieron una reducción de más de  $10^5$  UFC/g de la población inoculada, hasta alcanzar niveles no detectables. Sin embargo, durante la etapa de germinación, la población de este microorganismo alcanzó rápidamente cuentas superiores a  $10^7$  UFC/g en germinados de 2 días (Gandhi y Matthews, 2003). Estos resultados se encuentran en concordancia con los reportados por Lang *et al.* (2000). En ese estudio, las semillas de alfalfa inoculadas con *E. coli* O157:H7 fueron tratadas por 15 minutos a temperatura ambiente, alcanzando una reducción hasta niveles no detectables; pero estos mismos niveles incrementaron hasta  $10^8$  UFC/g durante el germinado, por lo que concluyeron que el tratamiento no logró garantizar la muerte total de los patógenos presentes en la semilla.

Se ha observado también que la inmersión de semillas de trigo y de sus germinados en una solución con una concentración de hipoclorito de sodio con 400 ppm durante 30 minutos, seguida de un enjuague con agua corriente durante 3 minutos, logró una reducción de 1.03 ciclos logarítmicos de *E. coli*, sin impacto en la capacidad de germinación de las semillas (Tornuk *et al.*, 2011).

En años recientes, se han investigado los efectos de la aplicación de cloro en forma de dióxido de cloro ( $\text{ClO}_2$ ), con resultados prometedores en la eliminación de patógenos en semillas para germinados. El  $\text{ClO}_2$  se diferencia del hipoclorito, no solo en su formulación química, sino también porque se encuentra en estado gaseoso a temperatura ambiente. Bang *et al.* (2011) utilizaron  $\text{ClO}_2$  en combinación con un tratamiento térmico, reportando una reducción de 5.9 ciclos logarítmicos de *E. coli* en semillas de rábano tratadas con 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de  $\text{ClO}_2$  por 5 minutos, secadas a 45 °C durante 24 horas y, por último, sometidas a un tratamiento térmico con calor seco a 70 °C por 48 horas.

Se ha demostrado que, cuando la carga microbiana inicial es alta, el cloro es inefectivo en la sanitización de alimentos. Semillas de alfalfa, inoculadas con cargas iniciales de  $10^6$  UFC/g de *E. coli* O157:H7, fueron sometidas a tratamientos de lavado con 10 mg/l de  $\text{ClO}_2$  entre 3 y 10 minutos a 21 °C. La máxima reducción microbiana obtenida bajo estas condiciones fue de 1.24 ciclos logarítmicos. También se observó que la población de *E. coli* incrementó rápidamente a niveles similares a los del control durante la etapa de germinación de semillas tratadas, por lo que estos resultados se consideran insuficientes para lograr la inocuidad de estas semillas con este método y bajo

estas condiciones (Singh *et al.*, 2003). El tratamiento con una concentración de entre 200 y 20,000 ppm de hipoclorito de sodio ( $\text{NaOCl}$ ), durante 20 minutos, logró una reducción máxima de 1.64 ciclos logarítmicos de *E. coli* O157:H7 en semillas de rábano. Sin embargo, el conteo incrementó rápidamente a niveles incluso mayores que los del control durante el germinado (Fransisca *et al.*, 2011).

Estos resultados son desalentadores, pues reflejan que una reducción de patógenos en la semilla no garantiza la inocuidad del producto final. Esto se debe a la proliferación de los mismos microorganismos durante el germinado, etapa en la cual la disponibilidad de nutrientes y condiciones físicas del medio favorecen su desarrollo. La superficie propia de cada semilla puede facilitar que algunas células bacterianas se protejan en grietas, poros y escamas; lo cual ocasiona que las soluciones tengan limitaciones para alcanzar todos los sitios de desinfección. Es posible que ahí radique la falta de consistencia y efectividad en los resultados obtenidos de estos métodos, puesto que se observan mayores reducciones en semillas de superficie lisa. Sin embargo, la ventaja de este método radica en que este tipo de tratamientos no tiene ningún efecto en la tasa de germinación de las semillas (Ding *et al.*, 2013).

Considerando estas limitaciones, se están realizando estudios explorando otros posibles tratamientos, como el uso de ozono, aceites esenciales en fase de vapor, agua electrolizada y otros agentes químicos, con el objetivo de mejorar las técnicas convencionales de descontaminación.

### 3.2 Ozono

El tratamiento con ozono ofrece diversas ventajas, en comparación con los tratamientos químicos convencionales, como su eficacia antimicrobiana a concentraciones relativamente bajas y con cortos periodos de exposición. Además de su descomposición espontánea en  $\text{O}_2$ , la cual permite que al final del proceso no queden residuos químicos que puedan representar un riesgo adicional para la salud o el medio ambiente (Yang *et al.*, 2013).

Un estudio realizado en germinados de alfalfa y de rábano inoculados con *Shigella* demostró que la inmersión de los germinados en agua con una concentración de ozono de 2 ppm durante 5 minutos logra reducciones  $<10^2$  UFC/g. Sin embargo, utilizando la misma concentración de ozono en combinación con un 2 % de ácido málico, se maximiza la inhibición de *Shigella*, por lo que los autores del estudio lo sugieren como

una potencial opción comercial para el control de *Shigella* en germinados crudos (Singla *et al.*, 2011). A pesar de ello, otro estudio realizado en alfalfa inoculada con *E. coli* O157:H7 y tratada con ozono en una concentración de 21 ppm no logró una reducción significativa en comparación con el control, a pesar del tiempo de tratamiento (2-64 minutos). Es probable que esto se deba a la rápida disminución de la concentración de ozono tras el contacto con la superficie del germinado. Sin embargo, otro estudio con recirculación de ozono a 60 °C por 3 horas tuvo éxito, al lograr una reducción de 4.8 ciclos logarítmicos de *E. coli* O157:H7 en semillas de alfalfa (Sharma *et al.*, 2002).

### 3.3. Agua electrolizada

El agua electrolizada se genera por electrólisis de una solución de NaCl, se puede dividir en alcalina y ácida, dependiendo del pH de la solución, y puede tener diferentes propiedades, como el potencial de óxido-reducción y la concentración del ion Cl en ella (Liu y Yu, 2017). El agua electrolizada ácida (AEW, por sus siglas en inglés) es la más investigada como una alternativa novedosa a otros métodos químicos de desinfección. Se caracteriza por un pH menor a 2.7, un alto potencial de óxido-reducción (>1000 mV), concentraciones de Cl de entre 40-90 ppm y un amplio espectro antibacteriano comparado con otros tratamientos antimicrobianos (Yang *et al.*, 2013; Zhang, Lu, Li, Shang, Zhang y Cao, 2011). A pesar de sus ventajas, se ha demostrado que su efecto es limitado sobre *E. coli* O157:H7 en semillas de alfalfa, cuya reducción alcanzada fue de 2.72 ciclos logarítmicos en tratamientos con constante agitación por 2, 4, 8, 16, 32 y 64 minutos totales (Sharma y Demirci, 2003). Dichos niveles son comparables con el tratamiento clásico con 2000 ppm de hipoclorito de sodio, pero con la desventaja de que el agua electrolizada puede afectar la viabilidad de las semillas debido al pH fuertemente ácido (Fransisca *et al.*, 2011; Len *et al.*, 2002; Liu y Yu, 2017; Yang *et al.*, 2013).

### 3.4. Aceites esenciales

Los aceites esenciales (EO, por sus siglas en inglés) son compuestos aromáticos derivados de diversas partes de plantas, como flores, brotes, semillas, hojas, ramas, hierbas, madera, frutas y raíces. Su actividad antimicrobiana contra patógenos presen-

tes en alimentos ha sido ampliamente estudiada (Burt, 2004; Lee *et al.*, 2018). Se ha observado que los EO de pimienta, tomillo, romero y orégano han tenido comprobada efectividad contra diferentes cepas, como *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Vibrio alginolyticus*, *Salmonella* Typhimurium, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomia phaseolina*, *Salmonella* Senftenberg, *Aspergillus ochraceus*, *A. parasiticus*, y *A. niger* (Burt, 2004; Kotan, *et al.*, 2013; Lorenzo-Leal *et al.*, 2019).

Los EO de orégano, tomillo y corteza de canela aplicados en fase vapor demostraron tener una fuerte actividad antibacteriana contra *Listeria monocytogenes* en medio de cultivo (MIC y MLC 78.1 µl/l). Estos mismos aceites aplicados en la superficie de germinados de rábano en concentraciones de 156 µl/l durante 24 horas a 30 °C y 43 % HRE, lograron reducciones de *L. monocytogenes* de hasta 2.1 ciclos logarítmicos. Bajo las mismas condiciones y con una concentración de 625 µl/l se lograron reducciones entre 2.7 y 3 ciclos logarítmicos. Sin embargo, estos resultados no aseguran la inactivación total del patógeno, por lo que su aplicación bajo estas condiciones no asegura la inocuidad de los germinados (Lee *et al.*, 2018). Un estudio realizado con EO de pimienta, tomillo y romero en fase de vapor aplicados en semillas de alfalfa inoculadas con *Salmonella* Typhimurium y *Listeria monocytogenes* concluyó que el aceite de tomillo es el más efectivo del grupo para inhibir el crecimiento de ambos patógenos. Con una dosis de 4.0 ml/l se inhibió significativamente el crecimiento de ambas bacterias en las semillas durante su germinación, sin tener ningún efecto negativo en la tasa de germinación o en las propiedades sensoriales de los germinados (Lorenzo-Leal *et al.*, 2019). Estos resultados concuerdan con estudios que demuestran que la aplicación en fase de vapor ejerce actividad antimicrobiana en áreas mayores que en fase líquida. Asimismo, se ha observado que algunos EO son más efectivos contra bacterias y organismos deteriorativos cuando se aplican en fase gaseosa que en fase líquida (Lee *et al.*, 2018; Seo *et al.*, 2015).

Los EO también pueden ser aplicados por medio de nanoemulsiones. Landry *et al.* (2016) aplicaron carvacrol acidificado (50 mM ácido levulínico) por medio de nanoemulsiones en

semillas de brócoli y de frijol mungo con el objetivo de inactivar *Salmonella enterica* Enteritidis, previamente inoculada en las semillas. Los resultados mostraron una reducción de  $10^4$  UFC/g de *Salmonella* en frijol mungo y de  $10^2$  UFC/g en semilla de brócoli. En el primer caso, no se detectó presencia del patógeno en el germinado de las semillas tratadas por 30 minutos con la nanoemulsión (Landry *et al.*, 2016).

Una de las principales ventajas que ofrecen estos compuestos en su aplicación es que muchos de los aceites estudiados han sido reconocidos como compuestos naturales y seguros, por lo que podrían ser una alternativa que reemplace los conservadores químicos (Lee *et al.*, 2018). Sin embargo, la presencia de olores y sabores fuertes podría ser un obstáculo para su aplicación por sus efectos en las propiedades organolépticas (Lee *et al.*, 2018; Seo *et al.*, 2015; Tyagi *et al.*, 2012).

### 3.5. Compuestos ácidos

Los compuestos ácidos tienen un alto efecto antimicrobiano atribuido principalmente a la forma disociada de este tipo de moléculas, las cuales se mueven a través de la membrana celular y liberan protones estando ya en el citoplasma, reduciendo así el pH celular, inactivando enzimas intracelulares, inhibiendo mecanismos de transporte de nutrientes y disminuyendo las reservas energéticas de la célula. Este es uno de los mecanismos por los cuales ciertas frutas con altos contenidos de ácidos orgánicos son más resistentes a la contaminación bacteriana (Yang *et al.*, 2013).

El tratamiento de semillas de rábano y de alfalfa con 8.7 % (v/v) de ácido acético en estado gaseoso a 55 °C por un periodo de entre 2 y 3 horas demostró efectividad para reducir poblaciones mayores a  $10^5$  UFC/g de *E. coli* y *Salmonella* spp. en ambos tipos de semillas. Por otra parte, con 48 horas de tratamiento se obtuvo la inhibición total de *E. coli*, aun después de la etapa del enriquecimiento. Sin embargo, ninguna de las condiciones estudiadas tuvo éxito en eliminar por completo la población de *Salmonella* (Nei *et al.*, 2011). A pesar de ello, este tratamiento es más eficiente que el recomendado con 20,000 ppm de hipoclorito de calcio, que como ya se describió previamente, puesto que obtiene reducciones menores a  $10^2$  UFC/g para ambas especies.

No obstante, el punto débil de la desinfección con compuestos ácidos sigue siendo la etapa de germinación. Otros estu-

dios han comprobado que, a pesar del éxito obtenido, la cuenta microbiana se eleva considerablemente durante la germinación de la semilla (Singh *et al.*, 2005). El uso de ácido peroxiacético (PAA) tiene una efectividad similar a la del uso de 20,000 ppm de cloro, con una reducción de *Salmonella* spp. y *E. coli* O157:H7 apenas un poco mayor que 1 ciclo logarítmico en semillas de alfalfa tratadas con concentraciones de entre 1-3 % de PAA por tiempos variables entre 10 a 20 minutos, sin que se observaran reducciones mayores con el incremento en el tiempo de tratamiento o en la concentración de PAA (Rajkowski y Ashurst, 2009). La utilización de ácido láctico al 5 % durante 10 minutos a 42 °C redujo hasta límites no detectables la población de *Salmonella* spp., sin embargo, esta alcanzó niveles superiores a  $10^7$  UFC/g durante la germinación, indicando que la inactivación total de dicho patógeno no se alcanzó (Lang *et al.*, 2000).

Por su parte, Chang *et al.* (2010) investigaron la eficiencia del ácido caprílico (AC) y monocaprílico (MC) a concentraciones entre 25 y 75 mM, a 4 °C y tiempos entre 30 y 90 minutos, para la desinfección de semillas de alfalfa previamente inoculadas con *Salmonella* spp. y *E. coli* O157:H7. Aunque los resultados demostraron que concentraciones mayores y tiempos más prolongados mejoraban la reducción bacteriana, tanto el AC como el MC tenían un efecto bacteriano limitado con una máxima reducción de 1.56 ciclos logarítmicos para *E. coli* O157:H7 y de 2.56 ciclos logarítmicos para *Salmonella* spp (Chang *et al.*, 2010). Con la aplicación de 10 % de ácido málico (AM) con 1 % de TDS (sulfato de dilauril tiamina), se obtuvo una reducción de *E. coli* O157:H7 de una población inicial de  $10^4$  UFC/g a niveles por debajo de los detectables. Sin embargo, esta misma población aumentó a  $10^7$ - $10^8$  UFC/g tras la etapa de germinación de la semilla (Fransisca *et al.*, 2011).

### 4. Tecnologías emergentes

Muchos estudios realizados recientemente emplean tratamientos físicos, como altas presiones, irradiación, tratamientos con dióxido de carbono supercrítico (SC- $\text{CO}_2$ ), pulsos de luz de alta intensidad, entre otras tecnologías, con el objetivo de reducir o eliminar los patógenos presentes en semillas para germinados y consumo directo.

#### 4.1. Pulsos de luz de alta intensidad

Los pulsos de luz de alta intensidad (PLAI), utilizan pulsos de luz de amplio espectro ricos en luz ultravioleta de onda corta (UV-C) para la desinfección de superficies. Se ha probado que resultan más eficientes para la sanitización de alimentos que los tratamientos convencionales con luz UV-C debido a su mecanismo de acción, que actúa sobre la estructura de ADN de las bacterias, impidiendo su replicación (Demirci y Keklik, 2012; Gómez-López *et al.*, 2007). Los PLAI se producen utilizando tecnología que multiplica la potencia de emisión de luz por el almacenamiento de electricidad en un capacitor por periodos de tiempo relativamente largos para, posteriormente, liberarlos en millonésimas de segundo (Fernández Molina *et al.*, 2001; Gómez-López *et al.*, 2007; Rowan, 2019). Los PLAI fueron aprobados por la FDA para la producción, procesamiento y manejo de alimentos, en 1999. La dosis acumulada permitida de UV es de hasta 12 J/cm<sup>2</sup> con el espectro de emisión entre 200 y 1100 nm (Demirci y Keklik, 2012; Fernández Molina *et al.*, 2001).

A pesar de que se trata de una tecnología que está siendo ampliamente investigada, no existen suficientes estudios sobre su aplicación en semillas para la inactivación de patógenos (Gómez-López *et al.*, 2007). Uno de los primeros estudios, realizado por Sharma y Demirci (2003), demostró que un tratamiento por 90 segundos a una distancia de 8 centímetros de la fuente logra una reducción mayor a 10<sup>4</sup> UFC/g en semillas de alfalfa inoculadas con *E. coli* O157:H7. El modelo matemático desarrollado en este estudio permitió optimizar el proceso para lograr obtener una reducción de hasta 8 ciclos logarítmicos del patógeno estudiado; sin embargo, estas condiciones optimizadas no se comprobaron experimentalmente. Este estudio también demostró que el grosor de la muestra es un factor relevante, dado que una de las variables de estudio fue el grosor de la capa de semillas de alfalfa. Los resultados mostraron que este factor afecta significativamente, reduciendo la efectividad del tratamiento a mayor grosor de la capa distribuida de la muestra.

Kim *et al.* (2019) estudiaron la aplicación de PLAI en semillas de rábano y *pak choi* para la reducción de la cuenta bacteriana de estas semillas. Las condiciones del tratamiento incluyeron

una distancia fija de 20 centímetros de la fuente lumínica y tiempos entre 0-180 segundos (fluencia de 0 a 37.80 J/cm<sup>2</sup>). El tiempo, 180 segundos, brindó la mejor inhibición bacteriana, con una reducción de 1.41 ciclos log UFC/g de mesófilos aerobios en las semillas de rábano, y 1.78 ciclos log UFC/g en las semillas de *pak choi*. Ninguna de las condiciones mostró un efecto significativo en la tasa de germinación de las semillas. Sin embargo, el mayor efecto inhibitorio de bacterias se dio en una fluencia mayor al límite máximo permitido por la FDA (12 J/cm<sup>2</sup>) (Kim *et al.*, 2019). Por su parte, Hwang *et al.* (2017) estudiaron la aplicación de esta tecnología para la descontaminación de semillas de sésamo, obteniendo una reducción máxima de 1.46 ciclos log UFC/g en semillas cuya carga inicial de mesófilos aerobios se encontraba entre 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> UFC/g, con 120 segundos de tratamiento.

Una de las complicaciones que presenta este método es el tipo de equipo disponible para su aplicación, puesto que resulta complicado asegurar la distribución uniforme de los pulsos de luz por todas las caras del alimento. El estudio realizado por Hwang *et al.* (2017) resulta valioso en este sentido también, puesto que propone un diseño de equipo de flujo continuo para la aplicación de los PLAI. Sin embargo, se requieren más estudios en equipos con este diseño para comprobar si existe una diferencia significativa en su efecto descontaminante para el caso específico de semillas (Hwang *et al.*, 2017).

Reyes-Jurado *et al.* (2019) aplicaron la tecnología de PLAI en semillas de chíá inoculadas con *Salmonella Typhimurium*, obteniendo una reducción de 10<sup>4</sup> UFC/g con un tratamiento de 15 segundos (19.35 J/cm<sup>2</sup>). La relevancia de este estudio se debe a que la chíá es una semilla cuya desinfección por otros métodos es complicada, ya que una elevada humedad produce la absorción de agua por parte del mucílago contenido en la semilla, lo que lleva a una alteración en las características fisicoquímicas y sensoriales en la semilla. Este es un claro ejemplo de que los PLAI pueden ser una novedosa alternativa para la desinfección de semillas sin producir cambios en sus propiedades.

Una de las principales desventajas del uso de esta tecnología es el «efecto de sombra» que se da en algunas superficies

rugosas o porosas de los alimentos. Debido a esto, las bacterias encuentran refugio en la topografía característica del alimento, volviendo a este método menos efectivo. Por otro lado, tratamientos prolongados pueden producir un calentamiento en el producto, lo que podría afectar la composición y características de textura del producto (Gómez-López *et al.*, 2007; Sharma y Demirci, 2003).

#### 4.3. Altas presiones hidrostáticas

El uso de altas presiones hidrostáticas (APH) es un método no térmico novedoso, cuya eficacia para inactivar patógenos sin alterar sus propiedades sensoriales y nutricionales en diversos alimentos ha sido comprobada (Rendueles *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2013).

Los primeros estudios para la aplicación de esta tecnología en la descontaminación de semillas fueron realizados por Wuytack *et al.* (2003) y Ariefdjohan *et al.* (2006). Una de las principales conclusiones alcanzadas en sus investigaciones fue que la efectividad de los tratamientos con APH se encuentra también en función de la temperatura, presión, tiempo de exposición, pretratamiento y tipo de semilla.

De igual manera, la efectividad del tratamiento de las APH depende de la resistencia que tienen diferentes tipos de bacterias. Esto se ha observado en algunos estudios, como el realizado por Wuytack *et al.* (2003), donde se obtuvo una reducción de  $10^6$  CFU/g de *S. Typhimurium*, *E. coli* MG1655 y *Listeria innocua* con un tratamiento de 300 MPa por 15 minutos, a 4 °C, en semillas de berro. Por su parte, para *Shigella flexneri* y *E. coli* LMM1010—cepas resistentes a las presiones— se logró una reducción de  $10^4$  CFU/g. La menor reducción lograda con estas condiciones se obtuvo en *Staphylococcus aureus* con tan solo  $10^2$  UFC/g (Wuytack *et al.*, 2003).

La aplicación de PLA1 en semillas de alfalfa demostró que *Listeria monocytogenes* es más resistente que *E. coli* O157:H7 a las altas presiones (Ariefdjohan *et al.*, 2006). Mientras que otros estudios comprobaron que un tratamiento en semillas de alfalfa de 650 MPa y 20 °C por 15 minutos, tiene el mismo efecto que uno con 550 MPa, a 40 °C por 2 minutos, para inactivar *E. coli* O157:H7 (Neetoo *et al.*, 2008; Neetoo *et al.*, 2009). Igual-

mente, en alfalfa se demostró que remojar previamente las semillas mejora la inactivación de *E. coli* O157:H7 y de *Salmonella* spp., pero disminuye la viabilidad para germinar en las semillas de alfalfa (Neetoo y Chen, 2010).

#### 4.4. Dióxido de carbono supercrítico (SC-CO<sub>2</sub>)

El efecto bactericida del dióxido de carbono supercrítico (SC-CO<sub>2</sub>) se debe probablemente a la reducción del pH intracelular, provocando la inactivación de enzimas claves para el metabolismo de la célula, disrupción bacteriana y un incremento en la presión interna de la célula, modificaciones en la membrana celular, y la extracción de sustancias intracelulares (Spilimbergo y Bertucco, 2003).

Los estudios que han observado la aplicación de esta tecnología a semillas para germinados reportan mejores resultados con mayores presiones de SC-CO<sub>2</sub>, temperatura o tiempo de tratamiento. Mazzoni *et al.* (2001) lograron reducciones del 92.8 % (>10<sup>4</sup> UFC/g) de *E. coli* K12 inoculada en semillas de alfalfa, utilizando SC-CO<sub>2</sub> a 4000 psi y 50 °C por 60 minutos, sin afectar las características de germinación de las semillas. El mismo estudio confirmó que un tratamiento con dicha presión y temperatura, por solo 15 minutos, la inhibición fue mayor al 50 %, por lo que la duración es un factor importante a considerar. De igual manera, se obtiene una reducción de 3.51 ciclos logarítmicos de *E. coli* O157:H7 con un tratamiento a 15 MPa y 35 °C por 10 minutos, mientras que para lograr reducciones cercanas a 10<sup>3</sup> UFC/g en colonias de *L. monocytogenes* y *S. Typhimurium* fue necesario un tratamiento a 10 MPa a 45 °C por 5 minutos. Por su parte, se logró una reducción de más de 10<sup>7</sup> UFC/g de estos tres patógenos con un tratamiento a 20 MPa y 45 °C por 15 minutos; sin embargo, bajo estas condiciones la capacidad de germinación disminuyó (Jung *et al.*, 2009).

Los estudios disponibles muestran que el tratamiento con SC-CO<sub>2</sub> por sí solo no es capaz de alcanzar una reducción igual o mayor a 10<sup>5</sup> UFC/g de patógenos en las semillas utilizadas, por lo que no cumple los estándares recomendados por el Comité Consultivo Nacional sobre Criterios Microbiológicos para Alimentos (NACMCF, por sus siglas en inglés) (Yang *et al.*, 2013).

#### 4.5. Radiaciones ionizantes

Las radiaciones ionizantes son tecnologías no térmicas con efectividad comprobada para mejorar la inocuidad de los alimentos, extendiendo su vida de anaquel (Song *et al.*, 2009). Estas incluyen a los rayos gamma producidos por fuentes de cobalto 60 o cesio 137, electrones generados por máquinas como el «e-beam» (haz de electrones) y los rayos X (Komolprasert, 2007). A pesar de diversas controversias, la FDA ha aprobado su uso para el tratamiento de semillas con una dosis máxima de 8 kGy (Yang *et al.*, 2013).

Rajkowski *et al.* (2003) reportaron la inactivación total de *Salmonella* en germinados de alfalfa procedentes de semillas tratadas con radiación gamma y dosis iguales o mayores a 0.5 kGy. Pero esta tecnología ha sido investigada en su aplicación no solo a semillas, sino también al producto ya germinado. Schoeller *et al.* (2002) realizaron un estudio en germinado de alfalfa, donde obtuvieron reducciones superiores a  $10^6$  CFU/g de *Listeria monocytogenes* con dosis de 3.3 kGy de radiación beta. Los resultados mostraron que dichos tratamientos no generaron cambios en apariencia u olor del alimento. Por su parte, Bari *et al.* (2005) observaron reducciones de 4.88 y 4.57 ciclos logarítmicos en germinados de brócoli y frijol, respectivamente, tras un tratamiento con 1 kGy.

De igual manera, se ha estudiado la aplicación de esta tecnología en combinación con otras. Bari, Nei *et al.* (2009) utilizaron la radiación en combinación con un tratamiento térmico para suprimir el crecimiento de *E. coli* O157:H7 en frijol mungo (tabla II). Cabe mencionar que dicha reducción no fue alcanzada por el tratamiento térmico o por la irradiación por sí solas cuando se probaron por separado.

La principal ventaja de la aplicación de radiación en germinados, aparte de la efectividad en la inactivación de patógenos, es la extensión de la vida útil de estos alimentos debido a la disminución, en general, de microorganismos deteriorativos. Estudios de vida de anaquel en germinados de alfalfa y de brócoli han demostrado que esta extensión puede ser de hasta 10 días utilizando una dosis baja de 2 kGy. Sin embargo, es en su aplicación en la semilla donde se encuentra la principal des-

ventaja, ya que se ha observado que dosis altas de radiación tienen efectos adversos en el porcentaje de germinación, la tasa de rendimiento, así como en la morfología (largo y ancho) del germinado (Rajkowski *et al.*, 2003).

Por otro lado, la aplicación de dosis bajas de radiación (menores a 3 kGy) no altera las características del germinado, ni tiene algún efecto significativo en su germinación. Sin embargo, estas dosis no garantizan la inocuidad del producto germinado. Estudios realizados sobre el efecto de dosis bajas (1 kGy) en semilla de frijol mungo inoculado con *E. coli* y *Salmonella Typhimurium* mostraron una reducción de 2.6 ciclos log UFC/g en la semilla, pero esta población alcanzó un recuento de hasta  $10^8$  UFC/g tras 48 horas de germinación de las semillas previamente tratadas (Saroj *et al.*, 2007).

## CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES

Las semillas y sus germinados son productos naturales con muchos beneficios nutricionales y asociados a la salud; sin embargo, su naturaleza los hace proclives a la contaminación con microorganismos patógenos. En atención al elevado riesgo que ello implica, se han emitido varias recomendaciones con el objetivo de mitigar las causas de posibles enfermedades transmitidas por alimentos. Estas recomendaciones se han orientado principalmente hacia la implementación de buenas prácticas de agricultura y manufactura durante su producción, en el caso de las semillas de consumo directo. Para las semillas para germinados, la FDA recomienda su sanitización con una solución con 20,000 ppm de hipoclorito de calcio; no obstante, esta práctica tiene una alta variabilidad y limitada eficacia. Así lo respalda el hecho de que, a pesar de su existencia, cada año se reportan enfermedades transmitidas por alimentos, y producidas por patógenos como *E. coli*, *Salmonella* spp y *Listeria monocytogenes* en estos productos.

Dado que los métodos químicos presentan limitaciones debido, por un lado, a su inhabilidad para alcanzar las bacterias escondidas en superficies rugosas de las semillas y, por otro, a que por sus características no pueden ser aplicados en el grupo de semillas de consumo directo, ya que alteran sus propiedades sensoriales, se han buscado otro tipo de tecnologías. Entre las investigadas, los mejores resultados aplicando un solo tipo de tecnología se han obtenido con métodos físicos, especialmente los tratamientos con altas presiones, irradiación y tratamientos térmicos con calor seco a temperaturas cercanas a los 50 °C y prolongados periodos de tiempo. Sin embargo, también hay que considerar que dichos tratamientos no afecten la calidad nutricional de las semillas, ni su capacidad para germinar cuando se trate de semillas para germinados. Tal es el caso de la irradiación de semillas; si bien se ha comprobado su alta efectividad de inactivación microbiana, afecta el crecimiento del brote del germinado en dosis elevadas.

Los mejores resultados obtenidos, considerando la reducción e inactivación total de los patógenos en semillas, ha sido la combinación de dos o más tecnologías, como el tratamiento térmico con posterior irradiación o tratamientos con ozono seguido de irradiación a dosis muy bajas que no afecten la tasa de germinación de las semillas. Estos resultados apuntan a que una posible alternativa a las 20,000 ppm de cloro recomendadas por la FDA se encuentre en el diseño y aplicación de alguna de estas combinaciones de tecnologías para lograr asegurar la inocuidad de estos productos.

## AGRADECIMIENTOS

La autora del presente artículo agradece a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) —hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)—, por el financiamiento otorgado para sus estudios en el Doctorado en Ciencia de Alimentos de la UDLAP.

## REFERENCIAS

- Ariefdjohan, M. W., Nelson, P. E., Singh, R. K., Bhunia, A. K., Balasubramaniam, V. M., y Singh, N. (2006). Efficacy of high hydrostatic pressure treatment in reducing *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes* in alfalfa seeds. *Journal of Food Science*, 69(5), M117-M120. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10718.x>
- Bang, J., Kim, H., Kim, H., Beuchat, L. R. y Ryu, J.-H. (2011). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on radish seeds by sequential treatments with chlorine dioxide, drying, and dry heat without loss of seed viability. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(18), 6680-6686. <https://doi.org/10.1128/AEM.05715-11>
- Bari, M. L., Enomoto, K., Nei, D., y Kawamoto, S. (2010). Scale-Up seed decontamination process to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritidis* on mung bean seeds. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(1), 51-56. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0389>
- Bari, M. L., Inatsu, Y., Isobe, S., y Kawamoto, S. (2008). Hot Water treatments to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in mung bean seeds. *Journal of Food Protection*, 71(4), 830-834. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.4.830>
- Bari, M. L., Nakauma, M., Todoriki, S., Juneja, V. K., Isshiki, K., & Kawamoto, S. (2005). Effectiveness of irradiation treatments in inactivating *Listeria monocytogenes* on fresh vegetables at refrigeration temperature. *Journal of Food Protection*, 68(2), 318-323. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.2.318>
- Bari, M. L., Nei, D., Enomoto, K., Todoriki, S. y Kawamoto, S. (2009). Combination treatments for killing *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa, radish, broccoli, and mung bean seeds. *Journal of Food Protection*, 72(3), 631-636. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.3.631>
- Bari, M. L., Sugiyama, J., y Kawamoto, S. (2009). Repeated quick hot-and-chilling treatments for the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in mung bean and radish seeds. *Foodborne Pathogens and Disease*, 6(1), 137-143. <https://doi.org/10.1089/fpd.2008.0143>
- Bellostas, N., Kachlicki, P., Sørensen, J. C. y Sørensen, H. (2007). Glucosinolate profiling of seeds and sprouts of *B. oleracea* varieties used for food. *Scientia Horticulturae*, 114(4), 234-242. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.06.015>
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>

- CDC (Centers for Disease Control and Prevention Foodborne Outbreak). Online Database. 2020. Disponible en: <http://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks/Default.aspx>. Consultado en febrero 2020.
- Chang, S., Redondo-Solano, M. y Thippareddi, H. (2010). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. On alfalfa seeds by caprylic acid and monocaprylin. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 141-146. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.011>
- Demirci, A. y Keklik, N. M. (2012). Process design involving pulsed uv light. En J. Ahmed y M. S. Rahman (ed.), *Handbook of food process desing* (pp. 1166-1239). Wiley-Blackwell.
- Ding, H., Fu, T.-J. y Smith, M. A. (2013). Microbial contamination in sprouts: How effective is seed disinfection treatment?: seed disinfection for sprouts. *Journal of Food Science*, 78(4), R495-R501. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12064>
- ECDC (European Center for Disease Prevention and Control). Online Database. 2020. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data?s=food+outbreaks>. Consultado en febrero 2020.
- Feng, G., Churey, J. J. y Worobo, R. W. (2007). Thermal inactivation of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *Journal of Food Protection*, 70(7), 1698-1703. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.7.1698>
- Fernández Molina, J. J., Barbosa-Cánovas, G. V. y Swanson, B. G. (2001). Tecnologías emergentes para la conservación de alimentos sin calor. *Arbor*, 168(661), 155-170. <https://doi.org/10.3989/arbor.2001.i661.827>
- Fransisca, L., Zhou, B., Park, H. y Feng, H. (2011). The effect of calcinated calcium and chlorine treatments on *Escherichia coli* O157:H7 87-23 population reduction in radish sprouts. *Journal of Food Science*, 76(6), M404-M412. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02270.x>
- Gandhi, M. y Matthews, K. R. (2003). Efficacy of chlorine and calcinated calcium treatment of alfalfa seeds and sprouts to eliminate *Salmonella*. *International Journal of Food Microbiology*, 87(3), 301-306. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00108-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00108-9)
- Gómez-López, V. M., Ragaert, P., Debevere, J. y Devlieghere, F. (2007). Pulsed light for food decontamination: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(9), 464-473. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.03.010>
- Harvey, R. R., Zakhour, C. M. y Gould, L. H. (2016). Foodborne disease outbreaks associated with organic foods in the United States. *Journal of Food Protection*, 79(11), 1953-1958. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-JFP-16-204>
- Himathongkham, S., Nuanalsuwan, S., Riemann, H. y Cliver, D. O. (2001). Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* in artificially contaminated alfalfa seeds and mung beans by fumigation with ammonia. *Journal of Food Protection*, 64(11), 1817-1819. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.11.1817>
- Hu, H., Churey, J. J. y Worobo, R. W. (2004). Heat treatments to enhance the safety of mung bean seeds. *Journal of Food Protection*, 67(6), 1257-1260. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.6.1257>
- Hwang, H.-J., Cheigh, C.-I. y Chung, M.-S. (2017). Construction of a pilot-scale continuous-flow intense pulsed light system and its efficacy in sterilizing sesame seeds. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 39, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.10.017>
- Jung, W. Y., Choi, Y. M. y Rhee, M. S. (2009). Potential use of supercritical carbon dioxide to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella Typhimurium* in alfalfa sprouted seeds. *International Journal of Food Microbiology*, 136(1), 66-70. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.08.014>
- Kim, S.-M., Hwang, H.-J., Cheigh, C.-I. y Chung, M.-S. (2019). Bactericidal effect of intense pulsed light on seeds without loss of viability. *Food Science and Biotechnology*, 28(1), 281-287. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0456-4>
- Komolprasert, V. (2007). Packaging for foods treated by ionizing radiation. En J. H. Han (ed.) *Packaging for nonthermal processing of food* (pp. 87-116). Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1002/9780470277720.ch6>
- Kotan, R., Dadasoğlu, F., Karagoz, K., Cakir, A., Ozer, H., Kordali, S., Cakmakci, R. y Dikbas, N. (2013). Antibacterial activity of the essential oil and extracts of *Satureja hortensis* against plant pathogenic bacteria and their potential use as seed disinfectants. *Scientia Horticulturae*, 153, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.01.027>
- Kumar, M., Hora, R., Kostrzynska, M., Waites, W. M. y Warriner, K. (2006). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on mung beans, alfalfa,

- and other seed types destined for sprout production by using an oxychloro-based sanitizer. *Journal of Food Protection*, 69(7), 1571-1578. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69-7-1571>
- Landry, K. S., Komaiko, J., Wong, D. E., Xu, T., McClements, D. J. y Mclandsborough, L. (2016). Inactivation of *Salmonella* on sprouting seeds using a spontaneous carvacrol nanoemulsion acidified with organic acids. *Journal of Food Protection*, 79(7), 1115-1126. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-JFP-15-397>
- Lang, M. M., Ingham, B. H. y Ingham, S. C. (2000). Efficacy of novel organic acid and hypochlorite treatments for eliminating *Escherichia coli* O157:H7 from alfalfa seeds prior to sprouting. *International Journal of Food Microbiology*, 58(1-2), 73-82. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00297-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00297-X)
- Lee, G., Kim, Y., Kim, H., Beuchat, L. R. y Ryu, J.H. (2018). Antimicrobial activities of gaseous essential oils against *Listeria monocytogenes* on a laboratory medium and radish sprouts. *International Journal of Food Microbiology*, 265, 49-54. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.001>
- Len, S.V., Hung, Y.C., Chung, D., Anderson, J. L., Erickson, M. C. y Morita, K. (2002). Effects of storage conditions and pH on chlorine loss in electrolyzed oxidizing (EO) water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 209-212. <https://doi.org/10.1021/jf010822v>
- Liu, R. y Yu, Z.-L. (2017). Application of electrolyzed water on reducing the microbial populations on commercial mung bean sprouts. *Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 995-1001. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2445-z>
- Lorenzo-Leal, A. C., Palou, E. y López-Malo, A. (2019). Evaluation of the efficiency of allspice, thyme and rosemary essential oils on two foodborne pathogens in in-vitro and on alfalfa seeds, and their effect on sensory characteristics of the sprouts. *International Journal of Food Microbiology*, 295, 19-24. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.02.008>
- Loui, C., Grigoryan, G., Huang, H., Riley, L. W. y Lu, S. (2008). Bacterial communities associated with retail alfalfa sprouts. *Journal of Food Protection*, 71(1), 200-204. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71-1-200>
- Martínez-Villaluenga, C., Frías, J., Gulewicz, P., Gulewicz, K. y Vidal-Valverde, C. (2008). Food safety evaluation of broccoli and radish sprouts. *Food and Chemical Toxicology*, 46(5), 1635-1644. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.01.004>
- Mazzoni, A. M., Sharma, R. R., Demirci, A. y Ziegler, G. R. (2001). Supercritical carbon dioxide treatment to inactivate aerobic microorganisms on alfalfa seeds. *Journal of Food Safety*, 21(4), 215-223. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2001.tb00320.x>
- Neetoo, H. y Chen, H. (2010). Pre-soaking of seeds enhances pressure inactivation of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on crimson clover, red clover, radish and broccoli seeds. *International Journal of Food Microbiology*, 137(2-3), 274-280. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.026>
- Neetoo, H., Pizzolato, T. y Chen, H. (2009). Elimination of *Escherichia coli* O157:H7 from alfalfa seeds through a combination of high hydrostatic pressure and mild heat. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(7), 1901-1907. <https://doi.org/10.1128/AEM.02531-08>
- Neetoo, H., Ye, M. y Chen, H. (2008). Potential application of high hydrostatic pressure to eliminate *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa sprouted seeds. *International Journal of Food Microbiology*, 128(2), 348-353. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.09.011>
- Nei, D., Latiful, B. M., Enomoto, K., Inatsu, Y. y Kawamoto, S. (2011). Disinfection of radish and alfalfa seeds inoculated with *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* by a gaseous acetic acid treatment. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(10), 1089-1094. <https://doi.org/10.1089/fpd.2011.0901>
- O'Neill, C. J., Bolton, D. J. y Fanning, S. (2011). Comparative studies on the survival of verocytotoxigenic *Escherichia coli* and *Salmonella* in different farm environments. *Agriculture, Food and Analytical Bacteriology*, 1, 116-122.
- Pao, S., Kalantari, A. y Khalid, M. F. (2008). Eliminating salmonella enterica in alfalfa and mung bean sprouts by organic acid and hot water immersions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 32(2), 335-342. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00182.x>
- Rajkowski, K. T. y Ashurst, K. (2009). Use of 1% peroxyacetic acid sanitizer in an air-mixing wash basin to remove bacterial pathogens from seeds. *Foodborne Pathogens and Disease*, 6(9), 1041-1046. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0267>
- Rajkowski, K. T., Boyd, G. y Thayer, D. W. (2003). Irradiation d-values for *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* sp. on inoculated broccoli seeds and effects of

- irradiation on broccoli sprout keeping quality and seed viability. *Journal of Food Protection*, 66(5), 760-766. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.5.760>
- Rendueles, E., Omer, M. K., Alvseike, O., Alonso-Calleja, C., Capita, R., y Prieto, M. (2011). Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: a review. *LWT - Food Science and Technology*, 44(5), 1251-1260. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.001>
- Reyes-Jurado, F., Navarro-Cruz, A. R., Méndez-Aguilar, J., Ochoa-Velasco, C. E., Mani-López, E., Jiménez-Munguía, M. T., Palou, E., López-Malo, A. y Ávila-Sosa, R. (2019). High-intensity light pulses to inactivate *Salmonella Typhimurium* on Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Journal of Food Protection*, 82(8), 1272-1277. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-JFP-18-577>
- Rosenquist, H., Smidt, L., Andersen, S. R., Jensen, G. B. y Wilcks, A. (2005). Occurrence and significance of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* in ready-to-eat food. *FEMS Microbiology Letters*, 250(1), 129-136. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.06.054>
- Rowan, N. J. (2019). Pulsed light as an emerging technology to cause disruption for food and adjacent industries - Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology*, 88, 316-332. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.027>
- Saroj, S. D., Hajare, S., Shashidhar, R., Dhokane, V., Sharma, A. y Bandekar, J. R. (2007). Radiation processing for elimination of *Salmonella Typhimurium* from inoculated seeds used for sprout making in india and effect of irradiation on germination of seeds. *Journal of Food Protection*, 70(8), 1961-1965. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.8.1961>
- Schoeller, N. P., Ingham, S. C. y Ingham, B. H. (2002). Assessment of the potential for listeria monocytogenes survival and growth during alfalfa sprout production and use of ionizing radiation as a potential intervention treatment. *Journal of Food Protection*, 65(8), 1259-1266. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-65.8.1259>
- Seo, H.-S., Beuchat, L. R., Kim, H. y Ryu, J.H. (2015). Development of an experimental apparatus and protocol for determining antimicrobial activities of gaseous plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 215, 95-100. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.08.021>
- Sharma, R.R., y Demirci, A. (2003). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa seeds with pulsed ultraviolet light and response surface modeling. *Journal of Food Science*, 68(4), 1448-1453. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09665.x>
- Sharma, R. R., Demirci, A., Beuchat, L. R. y Fett, W. F. (2002). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa seeds with ozonated water and heat treatment. *Journal of Food Protection*, 65(3), 447-451. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-65.3.447>
- Singh, B. R., Chandra, M., Agarwal, R. y Babu, N. (2005). Curing of salmonella enterica, serovar typhimurium-contaminated cowpea seeds and sprouts with vinegar and chlorination. *Journal of Food Processing and Preservation*, 29(3-4), 268-277. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2005.00027.x>
- Singh, N., Singh, R. K. y Bhunia, A. K. (2003). Sequential disinfection of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds before and during sprouting using aqueous chlorine dioxide, ozonated water, and thyme essential oil. *LWT - Food Science and Technology*, 36(2), 235-243. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(02\)00224-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(02)00224-4)
- Singla, R., Ganguli, A. y Ghosh, M. (2011). An effective combined treatment using malic acid and ozone inhibits *Shigella spp.* On sprouts. *Food Control*, 22(7), 1032-1039. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.12.012>
- Song, H. P., Kim, B., Jung, S., Choe, J. H., Yun, H., Kim, Y. J. y Jo, C. (2009). Effect of gamma and electron beam irradiation on the survival of pathogens inoculated into salted, seasoned, and fermented oyster. *LWT - Food Science and Technology*, 42(8), 1320-1324. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.018>
- Song, K. Y., Joung, K. Y., Shin, S. Y. y Kim, Y. S. (2018). Effects of chia (*salvia hispanica* L.) Seed roasting conditions on quality of cookies. *Italian Journal of Food Science*, 31(1). <https://doi.org/10.14674/IJFS-1198>
- Spilimbergo, S. y Bertucco, A. (2003). Non-thermal bacterial inactivation with dense CO<sub>2</sub>. *Biotechnology and Bioengineering*, 84(6), 627-638. <https://doi.org/10.1002/bit.10783>
- Tamber, S., Swist, E. y Oudit, D. (2016). Physicochemical and bacteriological characteristics of organic sprouted chia and flax seed powders implicated

- in a foodborne salmonellosis outbreak. *Journal of Food Protection*, 79(5), 703-709. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-529>
- Thomas, J. L., Palumbo, M. S., Farrar, J. A., Farver, T. B. y Cliver, D. O. (2003). Industry practices and compliance with U.S. Food and Drug Administration guidelines among California sprout firms. *Journal of Food Protection*, 66(7), 1253-1259. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.7.1253>
- Tornuk, F., Ozturk, I., Sagdic, O. y Yetim, H. (2011). Determination and improvement of microbial safety of wheat sprouts with chemical sanitizers. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(4), 503-508. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0709>
- Tyagi, A. K., Malik, A., Gottardi, D. y Guerzoni, M. E. (2012). Essential oil vapour and negative air ions: A novel tool for food preservation. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2), 99-113. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.02.004>
- Weiss, A., Hertel, C., Grothe, S., Ha, D. y Hammes, W. P. (2007). Characterization of the cultivable microbiota of sprouts and their potential for application as protective cultures. *Systematic and Applied Microbiology*, 30(6), 483-493. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2007.03.006>
- Willis, C., Little, C. L., Sagoo, S., de Pinna, E. y Threlfall, J. (2009). Assessment of the microbiological safety of edible dried seeds from retail premises in the United Kingdom with a focus on Salmonella spp. *Food Microbiology*, 26(8), 847-852. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.05.007>
- Wuytack, E. Y., Diels, A. M. J., Meersseman, K. y Michiels, C. W. (2003). Decontamination of seeds for seed sprout production by high hydrostatic pressure. *Journal of Food Protection*, 66(6), 918-923. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.6.918>
- Yang, Y., Meier, F., Ann Lo, J., Yuan, W., Lee Pei Sze, V., Chung, H.J. y Yuk, H.-G. (2013). Overview of recent events in the microbiological safety of sprouts and new intervention technologies: sprout safety and control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(3), 265-280. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12010>
- Zhang, C., Lu, Z., Li, Y., Shang, Y., Zhang, G. y Cao, W. (2011). Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritidis* on mung bean seeds and sprouts by slightly acidic electrolyzed water. *Food Control*, 22(5), 792-796. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.11.018>

**UDLAP<sup>®</sup>**

Departamento de Ingeniería Química,  
Alimentos y Ambiental