

**EVALUACIÓN DEL APORTE NUTRICIONAL Y RIESGOS PARA LA
SALUD ASOCIADOS AL CONSUMO DE GERMINADOS**

JENNIFER PAOLA CASTRO ORTIZ
LISETH DANIELA CHÍA RODRÍGUEZ

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
ESPECIALIZACIÓN EN SEGURIDAD ALIMENTARIA
BUCARAMANGA
2020

**EVALUACIÓN DEL APORTE NUTRICIONAL Y RIESGOS PARA LA
SALUD ASOCIADOS AL CONSUMO DE GERMINADOS**

JENNIFER PAOLA CASTRO ORTIZ
LISETH DANIELA CHÍA RODRÍGUEZ

Director de proyecto: Ph.D. Daniel Salvador Duran Osorio

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
ESPECIALIZACIÓN EN SEGURIDAD ALIMENTARIA
BUCARAMANGA

2020

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN	11
OBJETIVOS	12
OBJETIVO GENERAL	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
METODOLOGÍA	13
CAPÍTULO I	16
PROCESO DE GERMINACIÓN	16
1. Germinación	16
1.1 Estructura de las semillas	16
1.1.1 Composición química de las semillas	17
1.2 Proceso de germinación	17
1.3 Condiciones ambientales que influyen en la germinación	17
1.4 Condiciones intrínsecas de las semillas para que se dé la germinación	18
1.5 Estado de dormancia de las semillas	18
CAPITULO II	21
GERMINADOS Y SU PRODUCCIÓN	21
1. Germinados	21
2.1 Producción de germinados	22
2.1.1 Recepción de las semillas y eliminación de impurezas	22
2.1.2 Tratamiento de las semillas para reducir microorganismos de importancia clínica	24
2.1.2.1 Tratamientos físicos	24
2.1.2.2 Tratamientos químicos	25
2.1.2.3 Tratamientos biológicos	26
2.1.2.4 tratamientos alternativos para pequeños productores	27
2.1.3 Hidratación de las semillas	28

2.1.4 Germinación y crecimiento.....	29
2.1.5 Control y monitoreo	29
2.1.6 Cosecha	29
2.1.7 Lavado de los germinados.....	30
2.1.8 Empaque.....	30
2.1.9 Almacenamiento y distribución.....	30
2.2 Aspectos a tener en cuenta en el cultivo de germinados	31
2.2.1 Edificaciones, utensilios y equipos	31
2.2.2 Limpieza y desinfección	32
2.2.3 Calidad del agua	32
2.3 Políticas aplicables a la producción de germinados en Colombia y el mundo	32
2.3.1 Políticas aplicables a germinados en el mundo	32
2.3.2 Políticas aplicables a la producción de germinados en Colombia.....	34
2.4 Controles asociados a la producción de germinados	35
CAPITULO III	37
APORTE NUTRICIONAL DEL CONSUMO DE GERMINADOS Y SUS BENEFICIOS PARA LA SALUD	37
3.1 Compuestos que se adquieren al consumir germinados	37
3.1.1 Enzimas	37
3.1.2 Aminoácidos esenciales	38
3.1.3 Clorofila.....	38
3.1.4 Vitaminas.....	38
3.1.5 Minerales y Oligoelementos.....	39
3.1.6 Compuestos fenólicos	40
3.2 Aporte nutricional de los diferentes tipos de germinados.....	41
3.2.1 Leguminosas.....	41
3.2.1.1 Frijol	41
3.2.1.2 Lentejas	43
3.2.1.3 Alfalfa	43

3.2.1.4	Garbanzo	44
3.2.1.5	Soja.....	45
3.2.1.6	Habas	48
3.2.2	Cereales	48
3.2.2.1	Trigo.....	49
3.2.2.2	Maíz	49
3.2.2.3	Avena	50
3.2.2.4	Cebada.....	51
3.2.2.5	Quinua	51
3.2.3	Semillas.....	52
3.2.3.1	Fenogreco	52
3.2.3.2	Sésamo	52
3.2.3.3	Girasol	53
CAPITULO IV.....		54
MICROBIOLOGÍA DE LOS GERMINADOS.....		54
4.1	Contenido microbiano de los germinados	55
4.1.1	Bacterias aerobias mesofilas	55
4.1.1.1	Limitaciones del recuento de bacterias aerobias mesofilas	56
4.1.2	Principales bacterias aerobias mesofilas asociadas a ETAs	56
4.1.2.1	<i>Bacillus cereus</i>	56
4.1.2.1.1	Patogenia	57
4.1.2.1.2	Significado clínico	58
4.1.2.1.3	Detección de <i>Bacillus cereus</i> y sus toxinas en el alimento	58
4.1.2	Coliformes totales	58
4.1.2.1	<i>Citrobacter</i>	59
4.1.2.1.1	Patogenia	59
4.1.2.1.2	Significado clínico	59
4.1.2.1.3	Identificación de especies del género <i>Citrobacter</i>	59

4.1.2.2	Enterobacter	60
4.1.2.2.1	Patogenia	61
4.1.2.2.2	Significado clínico	61
4.1.2.2.3	Identificación de especies del género <i>Enterobacter</i>	61
4.1.2.3	Klebsiella	62
4.1.2.3.1	Patogenia	62
4.1.2.3.2	Significado clínico	62
4.1.2.3.3	Identificación de especies del género <i>Klebsiella</i>	63
4.1.3	Coliformes fecales	63
4.1.3.1	<i>Escherichia coli</i>	63
4.1.3.1.1	Significado clínico	64
4.1.3.1.2	Patogenia	64
4.1.3.1.3	Identificación de <i>Escherichia coli</i>	64
4.1.3.2	<i>Escherichia coli</i> enteropatógena (EPEC)	65
4.1.3.3	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénico (ETEC)	65
4.1.3.4	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva (EIEC)	65
4.1.3.5	<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa (EAEC)	66
4.1.3.6	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica (EHEC)	66
4.1.3.7	<i>Escherichia coli</i> de adherencia difusa (DAEC)	66
4.1.4	Salmonella	67
4.1.4.1	Patogenia	68
4.1.4.2	Significado clínico	68
4.1.4.3	Identificación de Salmonella	69
4.1.5	Listeria	69
4.1.5.1	Patogenia	69
4.1.5.2	Significado clínico	70
4.1.5.3	Identificación de Listeria	71
CAPITULO V		72

BUENAS PRACTICAS AGRICOLAS Y BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA EN LA CADENA DE PRODUCCIÓN DE LOS GERMINADOS 72

5. Ámbito de la aplicación	73
6. Producción primaria de las semillas	73
6.1 Producción higiénica de las semillas	73
6.1.1 Especificaciones para las semillas recibidas	73
6.1.2 Estiércol y biosólidos	74
6.1.3 Equipo utilizado en el cultivo y la recolección	74
6.1.4 Manipulación, almacenamiento y transporte de las semillas	74
7. Establecimientos para la producción de semillas germinadas	75
7.1 Establecimiento	75
7.2 Concepción y diseño de instalaciones	75
7.3 Saneamiento	76
7.4 Control de plagas	77
7.5 Equipo utilizado para el proceso de germinación	77
8. Personal manipulador del alimento	77
8.1 Higiene del personal trabajador	77
9. Control de las operaciones	78
9.1 Análisis de lotes de semillas antes de iniciar su producción	78
9.2 Análisis de las semillas germinadas y/o el agua de riego utilizada	78
9.3 Inspección visual de las semillas para germinación	78
9.4 Utilización de agua en la producción de semillas germinadas	78
9.5 Descontaminación microbiológica de las semillas destinadas a germinación	79
9.6 Enjuague después de la descontaminación	79
9.7 Remojo previo a la germinación	79
9.8 Germinación	79
9.9 Enjuague final	79
10. Desagüe y eliminación de desechos	79
11. Almacenamiento del producto final	79

12. Transporte.....	80
12.1 Requisitos de los materiales para empaque de germinados	80
13. Procedimiento para la retirada de productos del mercado	80
14. Certificado de importación	80
14.1 Requisitos de trazabilidad de las semillas recibidas.....	81
CONCLUSIONES	82
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
ANEXO I.....	95
PRINCIPALES TECNICAS DE MONTAJE DE GERMINADOS PARA PRODUCCIÓN ARTESANAL.....	95
ANEXO II.....	105
CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL AGUA POTABLE SEGÚN RESOLUCIÓN 2115 DE 2007	105

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Riesgos asociados a la fase de selección de las semillas en la producción de germinados. adaptado de Chaparro, D., et al., 2009.....	23
Tabla 2. Tratamientos alternativos para las semillas; Adaptado de Manual Técnico: Producción artesanal de semillas para huertas familiares, FAO, (2011); Botero, (2015). ...	27
Tabla 3. Características de Germinación de los principales germinados. Tomado de: Instituto nacional de tecnología agropecuaria, Argentina; Braunstein, 2012.	28
Tabla 4. Germinados, Requisitos microbiológicos según reglamento 2073/2005. Tomado de Reglamento 2073/2005 Unión Europea	35
Tabla 5. Aporte de vitaminas del grupo B de algunos germinados. Tomado de (Martin, 2005)	40
Tabla 6. Valor nutricional de los principales germinados de leguminosas y cereales según la FDC de EEUU. Cantidad en 100 g. tomado de https://fdc.nal.usda.gov/	46
Tabla 7. Características fenotípicas de <i>Bacillus cereus</i> y otras especies de <i>Bacillus</i> . Tomado de (J. Sánchez et al., 2016)	57
Tabla 8. Características bioquímicas de <i>Citrobacter</i> spp. Tomado de (Lopardo et al, 2011).	60
Tabla 9. Características bioquímicas de <i>Enterobacter</i> spp. Tomado de (Lopardo et al., 2011).	61
Tabla 10. Características fenotípicas del género <i>Klebsiella</i> . Tomado de (Cubrero, 2016). .	63
Tabla 11. Condiciones de crecimiento de <i>Salmonella</i> . Tomado de (INS, 2011).	68
Tabla 12. Descripción epidemiológica y clínica de la Listeriosis en humanos (INS & Min Salud, 2011).....	70

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Partes de una semilla. recuperada de: https://voyconmiprofe.blogspot.com/p/ciencias-naturales.html	16
Ilustración 2. Diagrama de flujo del proceso genérico para la producción de semillas germinadas. Tomado de Chaparro D., et al, 2009.	26
Ilustración 3. Esquema patogénico de E. coli diarreogénica (Kaper et al., 2004).....	67

RESUMEN

Los germinados o brotes son una tendencia gastronómica y nutricional que ha venido tomando auge en Colombia por su alto contenido nutricional, digestibilidad y su fácil producción. Este estudio buscó recopilar información acerca del proceso productivo de los germinados, su aporte nutricional a la dieta y los riesgos microbiológicos asociados a su consumo, así como las BPA y BPM que se deben implementar durante el proceso productivo para garantizar un producto inocuo y de calidad, para ello se realizó un análisis bibliográfico mediante el cual se obtuvo un documento base para los productores y consumidores de germinados en el país, se determinó que los germinados son económicos y fáciles de cultivar, además de asequibles en cualquier época del año, son buenas fuentes de nutrientes necesarios para suplir las necesidades diarias y ricos en compuestos fitoquímicos que les proporcionan cualidades antiinflamatorias, antioxidantes, anticancerígenas etc. por ellos su consumo es recomendado para mejorar la salud. Sin embargo, debido a sus características de producción son susceptibles a contaminación microbiológica principalmente por *E. coli*, *listeria spp* y *salmonella spp*; las principales fuentes de contaminación son las semillas y el agua empleada durante el proceso, por ello es fundamental la implementación de BPA y BPM para garantizar un producto final inocuo y de calidad que aumente la confianza de los consumidores y así su frecuencia de consumo.

Palabras clave: Germinados, aporte nutricional, riesgo, patogenicidad, inocuidad, Buenas prácticas de manufactura.

ABSTRACT

Sprouts are a gastronomic and nutritional trend that has been gaining popularity in Colombia due to its high nutritional content, digestibility and its easy production. This study sought to collect information about the production process of sprouts, their nutritional contribution to the diet and the microbiological risks associated with their consumption, as well as the GFP and GMP that must be implemented during the production process to guarantee a safe and quality product. , for this, a bibliographic analysis was carried out through which a base document was obtained for producers and consumers of sprouts in the country, it was determined that sprouts are cheap and easy to grow, as well as affordable at any time of year, they are good sources of nutrients necessary to meet daily needs and rich in phytochemical compounds that provide anti-inflammatory, antioxidant, anti-cancer qualities, etc. for them its consumption is recommended to improve health. However, due to their production characteristics, they are susceptible to microbiological contamination mainly by *E. coli*, *listeria spp* and *salmonella spp*; The main sources of contamination are the seeds and the water used during the process, which is why the implementation of GFP and GMP is essential to guarantee a safe and quality final product that increases the confidence of consumers and thus their frequency of consumption.

Keywords: Sprouts, nutritional contribution, risk, pathogenicity, safety, Good manufacturing practices.

INTRODUCCIÓN

Los germinados son una tendencia gastronómica y nutricional que viene tomando auge no solo en el mundo sino también en nuestro país debido a sus conocidas propiedades nutricionales, son una alternativa económica, nutritiva y confiable para mejorar la situación alimentaria del país; los germinados tienen un alto contenido de vitaminas, antioxidantes, minerales y proteína vegetal, su fácil digestibilidad y además su fácil producción los convierten en una opción adecuada para combatir el hambre y la desnutrición en el mundo; sin embargo, por su composición química y proceso productivo se han notificado casos de ETAs asociadas al consumo de semillas germinadas crudas o mal manipuladas, lo cual ha suscitado preocupación de los entes de salud pública mundial. Los cultivos de germinados en Colombia son artesanales y poco tecnificados, principalmente se dan por agricultura urbana en las casas o pequeñas organizaciones informales que no cuentan con sistemas de gestión de inocuidad para garantizar durante el proceso buenas prácticas de manufactura que aseguren la calidad e inocuidad del producto final.

Este estudio busca mostrar el valor nutricional de los germinados como una opción para lograr una alimentación saludable y balanceada y ayudar así a crear una alternativa de alimentación que promueva la disminución en los índices de inseguridad alimentaria del país, además es de vital importancia para los productores de germinados o brotes de semillas destinados a consumo humano ya sea crudos o procesados conocer los riesgos microbiológicos asociados a el cultivo de germinados, la importancia del tratamiento previo de las semillas y tener unas buenas prácticas de manufactura para garantizar que sus productos sean inocuos y no ocasionen afectaciones a la salud de los consumidores promoviendo así su consumo a mayor escala.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- ✓ Establecer el valor nutricional y los riesgos de contaminación microbiológica asociados al consumo de germinados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar los sistemas de producción de germinados.
- ✓ Valorar el aporte nutricional del consumo de germinados.
- ✓ Identificar las características generales (patogenicidad y factores de virulencia) de los principales microorganismos asociados a contaminación de germinados e identificar los efectos adversos sobre la salud.
- ✓ Proponer BPA y BPM en la producción de cultivos de germinados.

METODOLOGÍA

Para el desarrollo de esta monografía de tipo bibliográfica se recopiló información proveniente de las bases de datos de la universidad de pamplona principalmente de Scencedirect, scopus y springerlink y de Google académico, además de libros digitales y revistas agrícolas y entidades gubernamentales y páginas web utilizando como palabras claves de búsqueda:

- ✓ Germinación (germination)
- ✓ Germinados (sprouts)
- ✓ Valor nutricional (Nutritional value)
- ✓ Microorganismos asociados a consumo de germinados (microorganisms associated with the consumption of sprouts)
- ✓ Buenas prácticas de manufactura (Good manufacturing practices)

Se recopiló y analizó la información contenida en 145 artículos que cumplieron con los criterios de selección:

- ✓ Antigüedad no mayor a 10 años, excepto aquellos documentos que aportaron información importante para fundamentos temáticos.
- ✓ Documentos originales con título y autor además de año de publicación y revista para el caso de artículos.

En cuanto al desarrollo metodológico se organizó la información por capítulos dando respuesta a cada uno de los objetivos específicos planteados para dar respuesta al objetivo general así:

Objetivo	Actividad 1	Actividad 2	Actividad 3
Determinación de los sistemas de producción de germinados	Una vez seleccionados los documentos de referencia se realizó una lectura profunda inicialmente de la germinación, las partes de la semilla y las etapas y condiciones para que se dé la germinación, posteriormente del proceso de producción de germinados, sus etapas y principales características.	A continuación, se redactó un capítulo (I) en el cual se plasmaron las principales características de la germinación, las partes de la semilla, etapas y condiciones de germinación, los cuales se consideró pertinente añadir para dar contexto a los demás capítulos.	Luego se redactó un segundo capítulo en el cual se plasmó todo lo referente al proceso productivo de los germinados desde la obtención de las semillas a germinar hasta el almacenamiento y transporte del producto final.
Valoración del aporte nutricional	Una vez recopilada la información conveniente para	Posteriormente se redactó el capítulo III en el cual se muestra	Se realizó un análisis crítico de las diferentes teorías del aporte

del consumo de germinados	desarrollar el contenido planteado se procedió a realizar la lectura de los documentos.	el contenido nutricional de los germinados, los principales compuestos que aporta a la dieta y los beneficios para la salud de su consumo.	nutricional de los germinados, analizando artículos de investigación realizados por diversos autores.
Identificación de las características generales (patogenicidad y factores de virulencia) de los principales microorganismos asociados a contaminación de germinados e identificar los efectos adversos sobre la salud.	Una vez recopilada la información conveniente para desarrollar el contenido planteado se procedió a realizar la lectura de los documentos.	A continuación, se redactó el capítulo IV el cual se enfocó en los microorganismos asociados a contaminación de germinados y sus características de patogenicidad y problemas de salud que causan.	
Proposición de BPA y BPM en la producción de cultivos de germinados	Una vez recopilada la información conveniente para desarrollar el contenido planteado se procedió a realizar la lectura de los documentos.	Una vez realizada la lectura a profundidad y analizando los diferentes puntos de vista de diversos autores se redactó el capítulo V en el cual se recapituló información acerca de las BPA y BPM que se deben implantar en los procesos de producción de germinados para garantizar un producto final inocuo y de calidad para los consumidores.	

Finalmente se realizaron las conclusiones obtenidas después de la revisión realizada sobre los temas planteados.

CAPÍTULO I

PROCESO DE GERMINACIÓN

1. Germinación

La germinación es un proceso mediante el cual una semilla se convierte en una planta bajo las condiciones adecuadas de temperatura, humedad y luz. para que se dé el proceso de germinación es fundamental la semilla, estas son el mayor sistema reproductivo de las plantas (Doria, 2010).

1.1 Estructura de las semillas

La semilla es la unidad biológica de las plantas, estas están constituidas por episperma, endospermo y un embrión, la ilustración 1 muestra las partes de la semilla.

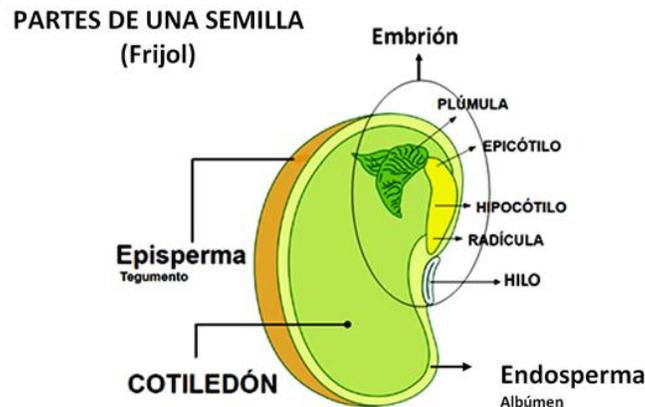


Ilustración 1. Partes de una semilla. recuperada de: <https://voyconmiprofe.blogspot.com/p/ciencias-naturales.html>

La episperma o tegumento es la cubierta externa y está compuesta de dos capas la testa que es normalmente de textura dura compuesta por capas de cutícula (interna y externa) y una o más capas de tejido grueso que funcionan como protección (estas características le confieren una acción reguladora sobre el metabolismo y crecimiento de la semilla), y el tegmen que es un derivado del tegumento interno del ovulo (Moreno, 1996).

El endospermo o albumen es un tejido nutricional que funciona como almacenamiento de las sustancias de reserva y es la fuente nutricional del embrión durante la germinación. Este no siempre está presente en todas las semillas.

el embrión es el huevo, el origen de la planta (hojas, raíces y tallo), este compuesto por: cotiledón (hoja embrionaria), plúmula (es la gémula del embrión, es el origen del tallo), epicótilo e hipocótilo (proporcionan soporte al embrión), radícula (da origen a las raíces embrionarias), e hilo (es por donde emerge la raíz) (Moreno, 1996).

1.1.1 Composición química de las semillas

La composición química de las semillas varía dependiendo la especie, los principales componentes de reserva son proteínas, carbohidratos y lípidos, igual que en el ser humano. En las leguminosas se presenta en mayor proporción proteínas, seguidas de carbohidratos y lípidos en menor proporción (Sarmiento, 2012). Estas semillas también contienen cantidades menores de minerales (calcio, hierro y zinc) y vitaminas así como algunos componentes bioactivos. La composición química de las semillas depende de factores genéticos y su proporción en las semillas varía de acuerdo a factores ambientales. Las leguminosas representan el mayor aporte de proteínas de origen vegetal para el ser humano. En el caso del maíz este contiene mayor cantidad de carbohidratos y otros como el girasol mayor cantidad de lípidos (De la Cuadra, 1993; Suárez & Melgarejo, 2010).

1.2 Proceso de germinación

La germinación es una serie de procesos y transformaciones que ocurren en la semilla para dar origen a la planta; para que se de con éxito este proceso se requieren tanto condiciones en el interior de las semillas como en el medio ambiente. El proceso de germinación consta de varias etapas:

Imbibición: en esta etapa la semilla absorbe agua y se hincha, el agua pasa a través del episperma y llega al embrión, una vez el embrión obtiene el agua suficiente se activa y empieza el proceso de germinación (Suárez & Melgarejo, 2010).

Digestión y transporte de alimentos: una vez activo el embrión libera enzimas que van hasta el endosperma y convierten las sustancias de almacenamiento en moléculas simples que utiliza el embrión para nutrirse y activarse metabólicamente e iniciar su crecimiento (Suárez & Melgarejo, 2010).

Elongación celular: durante esta etapa el embrión absorbe los metabolitos de su endosperma y empieza a elongarse aumentando su tamaño, mediante procesos de respiración para obtener energía (Suárez & Melgarejo, 2010).

Germinación visual: durante esta etapa la elongación celular se hace visible rompiendo el tegumento, lo que es la primera señal visual de que la semilla está germinando. La radícula que da origen a la raíz es el primer extremo embrionario en salir, después aparece el epicotilo que da origen al primer brote (Suárez & Melgarejo, 2010).

Plantula: en esta etapa se visualiza como tal la planta en su estado inicial la cual posee radícula y primer brote y aun se alimenta de las sustancias de almacenamiento contenidas en el endosperma (hasta esta etapa se consideran germinados); posteriormente se empieza a elongar más y formar hojas que inician sus procesos de formación de clorofila y se vuelven plantas independientes (Suárez & Melgarejo, 2010).

1.3 Condiciones ambientales que influyen en la germinación

Las condiciones ambientales son fundamentales para que se de el proceso de germinación; dentro de estas condiciones se encuentran:

La disponibilidad de agua: el agua es el principal componente para que se active el proceso de germinación, esta debe estar en una cantidad adecuada, ni en exceso ni en déficit para que este se de con éxito (Bonvillani et al., 2019; De la Cuadra, 1993; Suárez & Melgarejo, 2010).

Temperatura: la influencia de la temperatura es muy dependiente de la especie que se quiere germinar, cada planta tiene temperatura óptimas y límites por arriba y por debajo de la óptima que afectan el proceso germinativo. Por ejemplo la alfalfa, tiene una temperatura óptima de germinación de 20°C (Bonvillani et al., 2019).

Luz: esta condición es también como la temperatura dependiente de la especie, hay semillas que no requieren de luz para germinar, mientras que hay otras que, si la necesitan, inclusive algunas se ven inhibidas por la presencia o ausencia de luz. La alfalfa por ejemplo requiere baja luz para que se dé con éxito el proceso (Bonvillani et al., 2019).

1.4 Condiciones intrínsecas de las semillas para que se dé la germinación

Estas condiciones anteriormente mencionadas son condiciones ambientales necesarias durante el proceso de germinación, pero para que se dé con éxito también hay que tener en cuenta condiciones intrínsecas propias de las semillas como lo son:

Estabilidad y viabilidad de la semilla: la semilla puede conservar su poder germinativo por largos periodos de tiempo, la viabilidad de la semilla está determinada fisiológicamente por su actividad metabólica, si posee reservas energética y enzimas para un buen funcionamiento celular. Existen diferentes métodos para determinar la vitalidad de las semillas por ejemplo la reacción con sales de tetrazolium que evalúa la cadena respiratoria de las mitocondrias, cuando un embrión es viable reacciona con el tetrazolium y se torna de color rojo (De la Cuadra, 1993; Doria, 2010).

Madurez de la semilla: se deben tener en cuenta dos tipos de madurez, la morfológica que es cuando la semilla se separa de la planta, y la madurez fisiológica que es cuando la semilla tiene actividad metabólica y condiciones intrínsecas necesarias para germinar. Estas se pueden dar una antes de la otra, es decir primero presentar madurez fisiológica y luego morfológica o viceversa o las dos al tiempo. Cuando se presenta primero la madurez fisiológica que la morfológica la semilla germina sobre el fruto, cuando se dan en simultánea la madurez fisiológica y morfológica la semilla germina en cuanto es liberada de la planta si el medio es adecuado, cuando la madurez morfológica se da primero que la fisiológica la semilla pasa por una fase o estado durmiente (De la Cuadra, 1993; Doria, 2010).

1.5 Estado de dormancia de las semillas

Cuando se ha comprobado que una semilla cumple con las condiciones mencionadas anteriormente y no germina, esto se puede deber a dos causas:

-La semilla entra en un estado de latencia: cuando las condiciones ambientales del medio en que se encuentra la semilla no son las adecuadas para la germinación (luz, agua y temperatura), la semilla entra en estado de latencia, en este estado la semilla conserva su viabilidad y poder germinativo, pero

no cuenta con las condiciones externas para que se dé con éxito el proceso (De la Cuadra, 1993; Suárez & Melgarejo, 2010).

-La semilla entra en un estado de dormancia: cuando las condiciones internas propias de la semilla no permiten que se de el proceso de germinacion a pesar de que las condiciones ambientales son favorables se dice que la semilla se encuentra en proceso de dormancia. En este estado la semilla aun conserva su viabilidad (De la Cuadra, 1993; Suárez & Melgarejo, 2010).

En ambos casos la semilla no puede germinar la unca diferencia entre ellas es las causas que las originan (De la Cuadra, 1993).

Otros autores como Coopeland y McDonald (1995) no consideran el estado de latencia sino que definen la dormancia como la capacidad de las semillas para retrasar el proceso germinativo hasta que las condiciones tanto endogenas como exogenas sean favorables englobando el termino de latencia dentro del de dormancia, para estos autores la dormancia se divide en dos tipos que son:

-Dormancia primaria: es la mas comun que presentan las semillas y se divide en exogena y endogena

1. La dormancia exogena se basa en las condiciones ambientales que requiere la semilla para germinar como lo son la disponibilidad de agua, luz y temperatura (lo que otros autores consideran como latencia). En cuanto a la disponibilidad de agua esta es requerida para que se de la primera fase de la germinacion que es la imbibicion, la absorcion de agua por parte de la semilla se puede ver afectada por la dureza de la testa y su permeabilidad debido al intercambio gaseoso con el medio. Para que se de el proceso de germinacion estas testas se hablandan ya sea por efeto del agua o por hongos que ayudan a debilitar la cubierta o por cambios de temperatura que la fracturan. Las leguminosas son ejemplos de semillas con testa dura que presentan impermeabilidad de membrana.

En cuanto a la temperatura esta suele influir en el porcentaje de germinacion, tasas diarias de germinacion, absorcion de agua, actividad enzimatica y liberacion de sustancias de reserva. Puede causar termoinhibicion por temperatura muy elevadas o muy bajas dependiendo del requerimiento de la semilla.

En lo referente a la luz las semillas se pueden clasificar en fotoblasticas positivas, negativas e insensibles. En el primer caso las semillas requieren de luz para activar el proceso germinativo, en el segundo caso las semillas necesitan un medio oscuro para germinar, y en el tercer caso la luz no afecta el proceso.

2. La dormancia endogena es propia de las caracteristica internas de las semillas y comprende:

Dormancia embrional: cuando el embrión se encuentra en estado inmaduro, es decir aun no ha alcanzado la maduración fisiológica.

Dormancia fisiológica: en este tipo de dormancia el embrión está perfectamente formado y funcional y es totalmente permeable sin embargo entra en estado de dormancia, esto puede ser debido a diversos factores como lo son:

-Presencia de inhibidores de la germinación: sustancias secretadas por la misma semilla de tipo hormonal que actúan inhibiendo los procesos metabólicos propios de la semilla al impedir la formación de compuestos necesarios, por ejemplo el ácido abscísico (ABA), que es una hormona que regula el proceso de maduración, desecación y dormancia de la semilla manteniéndola en estado de dormancia. Las cumarinas y compuestos fenólicos también son inhibidores de la germinación e inductores de la dormancia. Sustancias como auxinas, giberelinas y citoquininas ayudan a reducir los niveles de ABA para sacar a la semilla del estado de dormancia (Suárez & Melgarejo, 2010).

-Inhibición osmótica: esta se da cuando el agua no alcanza a llegar al embrión ya que las estructuras externas a este la retienen, por tanto el embrión no cuenta con el agua necesaria para iniciar el proceso de imbibición y posterior germinación.

-Dormancia secundaria: este tipo de dormancia se produce una vez la semilla ha sido dispersada en el suelo y se ha disminuido la dormancia primaria (Matilla, 2008); la dormancia secundaria es inducida cuando una semilla no recibe las señales externas necesarias para iniciar el proceso de germinación, por ejemplo cuando existen en el ambiente factores de inducción a la germinación como temperaturas óptimas y factores que la inhiben como sustancias bioquímicas, este tipo de situaciones provocan que la semilla entre en dormancia secundaria. Se han sugerido dos hipótesis para lograr entender cómo funciona la dormancia secundaria, sin embargo estas se basan en teorías descriptivas ya que no hay investigaciones prácticas que demuestren una hipótesis experimentalmente, estas hipótesis consisten en: la primera plantea la inhibición o bloqueo de puntos de control específicos durante el ciclo metabólico de la germinación; la segunda plantea la inducción de factores como el agua, la luz, la temperatura y el oxígeno en condiciones de exceso o escasez, lo cual causaría la inhibición de la germinación ejerciendo acción sobre otras sustancias que promueven el proceso (Suárez & Melgarejo, 2010). Algunos autores consideran a la temperatura y el potencial hídrico como factores determinantes del carácter cíclico anual de este tipo de dormancia; así como se considera a la luz y los nitratos como estimulantes de la germinación es decir colaboradores para la eliminación de la dormancia secundaria (Matilla, 2008).

CAPITULO II

GERMINADOS Y SU PRODUCCIÓN

1. Germinados

Los germinados son alimentos vivos, por lo cual tienen un alto valor nutricional y son claves para mejorar la seguridad alimentaria de la población; como tal no hay una definición establecida de la palabra germinado, la real academia española considera la palabra germinar y la define como: “dicho de un vegetal: comenzar a desarrollarse desde la semilla”. Los germinados también se suelen llamar brotes, sin embargo, algunos autores consideran a los germinados como la prolongación inicial de la semilla germinada que llega hasta más o menos 5 cm de altura y se han desarrollado una a dos hojas, y al brote como este germinado que sobrepasa los 5 cm y empieza a tener más hojas (Ponce de León et al., 2020). Cualquier semilla de leguminosa o grano de cereal puede ser germinada; los más apreciados por su textura y por el buen sabor de sus brotes son los obtenidos de legumbres (soja verde, judía mungo, alfalfa), cereales (trigo, cebada) y de berro, rábano, calabaza, girasol, lino y sésamo (Ponce De León et al., 2013)

Los germinados son un alimento que se ha consumido desde hace millones de años; Desde el siglo IV y V a.C. surge la teoría del poder curativo de la naturaleza, Hipócrates decía que la naturaleza le da el poder al organismo para restaurarse a sí mismo su salud, “Que tu alimento sea tu medicina; que tu medicina sea tu alimento”; esta es la filosofía en la que se basan en la actualidad los consumidores de germinados y de la cultura vegana.

En el año 2939 a.C. en China el emperador ShenNong Ben Cao Jing escribió sobre las múltiples cualidades del consumo de germinados e incentivaba el consumo de estos alimentos como elemento nutricional clave de su dieta; los chinos y japoneses germinaban principalmente soja y cebada. En el antiguo Egipto las mujeres consumían germinados aromáticos como el fenogreco o alholva ya que según ellas al transpirar las hacía emanar un olor agradable.

En occidente el capitán Cook en el siglo XVIII, uso una bebida fermentada a base de germinados de cereales para prevenir el escorbuto. En los Estados Unidos para la segunda guerra mundial se utilizaban brotes para garantizar la seguridad alimentaria de las tropas durante y después de las batallas debido a su alto valor nutricional. Para el año 2000 ya se empezaban a ver los germinados como complementos de ensaladas o decorativos en diversos platos gourmet; actualmente los germinados se utilizan frescos o parcialmente cocidos como componentes de ensaladas, en sopas, inclusive existen galletas y snacks de germinados (Ponce de León et al., 2020)

En el siglo XX una pionera del consumo de germinados y alimentos vivos fue Ann Wigmore quien a los 18 años tuvo un accidente automovilístico en el cual sus dos piernas le quedaron aplastadas y posteriormente se le desarrolló gangrena, por lo cual la recomendación de los médicos era la amputación, sin embargo, ella decidió hacer caso omiso a esta recomendación y recordó los métodos curativos que empleaba su abuela en Europa durante la guerra para sanar a los soldados que era a base de germinados, estuvo por un tiempo consumiendo y aplicándose en sus piernas germinados y con esto logro recuperarse. En 1985 abrió el Instituto hipocrático de la salud en EEUU con el cual fomento

el consumo de germinados y un estilo de vida más saludable y en armonía con la naturaleza ayudando a las personas con diversas enfermedades a mejorar su estilo de alimentación para sanar su cuerpo. En la actualidad los germinados son una tendencia gastronómica y de ellos han surgido múltiples estudios en los que se demuestra su poder nutricional y beneficios para la salud.

La producción y consumo de germinados se da principalmente en el continente asiático, sin embargo, esta cultura está llegando a todo el mundo y está tomando furor; el consumo de germinados se da principalmente en países como China, Japón y Estados Unidos, en América latina estos alimentos son relativamente poco conocidos, sin embargo, se consumen en Brasil y en menor cantidad en otros países (Perez& Zapata, 2015). en Colombia el tema de la alimentación saludable y consumo de germinados es un tema nuevo que se está apenas conociendo; en ciudades como Medellín y Bogotá es donde más se evidencia consumo de estos alimentos, la producción de germinados en Colombia es algo artesanal y se realiza a pequeña escala por técnicas que se mencionaran más adelante, es por ello que es muy importante conocer las buenas prácticas que deben seguir los productores de germinados en Colombia para garantizar un producto inocuo e incentivar su consumo y mejorar así la demanda del producto(Revista portafolio, 2020).

2.1 Producción de germinados

Los germinados se pueden producir por diferentes métodos desde en grandes contenedores agroindustriales como bandejas, tambores giratorios, cámaras de oscuridad o luminosidad hasta a nivel del hogar por medio de kits de germinación caseros o recipientes como botellas de vidrio (Document, 2019),el proceso general del cultivo de germinados se puede evidenciar en la figura 2.

2.1.1 Recepción de las semillas y eliminación de impurezas

Es muy importante este paso ya que la principal fuente de contaminación de los germinados proviene de las semillas (Chaparro et al., 2009; Cuellar, 2017; Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria, 2016; FDA et al., 2017; Ponce de León et al., 2020). Primero que todo se debe seleccionar muy bien el proveedor de las semillas que se van a emplear (independientemente del tamaño de producción); una vez se haya seleccionado un proveedor de confianza que cumpla con los requisitos normativos (que se mencionaran más adelante), se procede a recibir las semillas; durante esta fase es muy importante realizar una minuciosa inspección visual del producto para identificar signos de contaminación o deterioro, identificar olores o colores anormales, presencia de artefactos (como hojas, palos, tierra etc..). Según (Chaparro et al., 2009) las consideraciones a tener en cuenta durante la etapa de selección de las semillas para prevenir riesgos físicos, químicos y microbiológicos son las mencionadas en la tabla 1 e incluyen evaluación de colores extraños (tratamientos químicos para la conservación de las semillas), evaluación de olores extraños (fermento, moho, combustibles, agroquímicos), evaluación de infestación (roedores e insectos).

Una vez finalizada la inspección visual de las semillas destinadas a la germinación es recomendable realizar primero un tamizaje de las semillas para eliminar partículas muy pequeñas, no visibles utilizando un colador o tamiz, posteriormente se recomienda realizar un enjuague para eliminar impurezas restantes y aumentar así la eficiencia del proceso, este lavado se debe realizar con agua potable y con condiciones de higiene de la persona que realiza el proceso para evitar contaminación

cruzada. Lo sugerido es sumergir las semillas en abundante agua y mezclar vigorosamente para eliminar la mayor cantidad de residuos y repetir esta operación hasta que el agua de remojo salga limpia (Chaparro et al., 2009; FDA et al., 2017).

Lo recomendable es que se compren las semillas necesarias de acuerdo al requerimiento de producción a corto plazo, y así evitar compra de grandes cantidades que se almacenen por largos periodos de tiempo ya que esto podría ser un factor de contaminación de las semillas destinadas a la germinación. En caso de almacenar las semillas se brindan a continuación algunas recomendaciones para reducir al mínimo el riesgo de contaminación de estas.

Tabla 1. Riesgos asociados a la fase de selección de las semillas en la producción de germinados. adaptado de Chaparro, D., et al., 2009.

Tipo de riesgo	Causa del riesgo	Medidas preventivas
Riesgos físicos	Contaminación por piedras, hojas, tallos, tierra	-Evaluación visual minuciosa de la presencia de artefactos que contaminen las semillas
Riesgos químicos	Contaminación por plaguicidas, almacenamiento junto a sustancias toxicas como gasolina, fertilizantes químicos.	-Evaluación visual de colores extraños en la superficie de las semillas, así como de olores sugerentes de compuestos químicos (gasolina, plaguicidas).
Riesgos microbiológicos	Contacto con semillas infectadas, atacadas por insectos, mohos, roedores. Condiciones de almacenamiento inadecuadas (exceso de humedad)	Evaluación visual por: -Infestación por presencia de insectos, roedores y mohos). -Olores extraños como fermento o moho.

Recomendaciones para el almacenamiento de semillas destinadas a la germinación:

- Seleccionar un lugar específico para almacenar las semillas que este limpio y libre de humedad y de posible ataque de roedores.
- El ambiente adecuado para conservar las semillas es un ambiente frio, seco y limpio.
- Se debe tener en cuenta la temperatura para conservar la funcionalidad de la semilla. Las semillas que posean altos niveles de humedad y que son conservadas a altas temperaturas, pierden su capacidad para germinar rápidamente.

- Es importante tener en cuenta el tipo de semillas ya que sus características como dureza de la cubierta, niveles de humedad, además del ciclo de vida (corta, mediana, larga), influyen en la forma como se deben almacenar y el tiempo en que pueden permanecer viables (FAO, 2011).

2.1.2 Tratamiento de las semillas para reducir microorganismos de importancia clínica

El tratamiento de las semillas es fundamental para reducir los peligros asociados a los germinados. Normalmente el productor de semillas es quien realiza los tratamientos de descontaminación de las semillas, los cuales constan en su mayoría de tratamientos biológicos, químicos y físicos o combinación de ambos, para estos procesos se utilizan sustancias como hipoclorito de sodio acidificado, hidróxido de calcio, ácido caprílico, ácido acético gaseoso, peróxido de hidrogeno, ácido láctico entre otras sustancias químicas, además de radiación, calor seco, calor húmedo etc. (todos estos procedimientos y sustancias deben ser aceptados por las autoridades competentes de cada país) (Arriagada, 2000).

Los principales factores a considerar para el tratamiento de semillas son:

- Tiempo del tratamiento, temperatura y pH
- Volumen y concentración de la solución (si se emplea)
- Agitación

Un tratamiento de semillas exitoso es aquel que elimina al mínimo los microorganismos patógenos y conserva la viabilidad, germinación y vigor de las semillas (Chaparro et al., 2009; FDA et al., 2017).

A continuación, se mencionan algunos de los tratamientos que se les realizan a las semillas.

2.1.2.1 Tratamientos físicos

Estos tratamientos incluyen el uso de temperatura y radiaciones. Uno de los tratamientos más antiguos empleados es el uso de agua caliente, este método se empezó a emplear en 1885 por Jensen quien lo utilizó para eliminar microorganismos patógenos en tubérculos de papa. Este tratamiento consiste en introducir las semillas en agua caliente por un determinado periodo de tiempo, con el fin de minimizar el número de microorganismo patógenos presentes en la semilla. Se ha demostrado que el agua caliente reduce los patógenos en las semillas en hasta 5 log UFC/g o más (FDA et al., 2017) El agua caliente es un tratamiento económico y de fácil aplicación, sin embargo, no se puede aplicar en grandes cantidades de semillas al tiempo y si no se regula bien la temperatura y el tiempo de exposición puede afectar el poder germinativo de la semilla (Arriagada, 2000).

El calor seco y calor húmedo también se emplean para tratar las semillas, generalmente se usan temperatura que van desde 56-57 °C por 30 min, la eficacia de este método va a depender de las características de humedad de la semilla ya que a mayor humedad mayor penetración de calor. Este tipo de tratamiento es muy efectivo para semillas de menor tamaño en comparación con las más grandes como las de arveja, en cuanto a sus limitaciones son las mismas que las del agua caliente, se aplican a pequeñas cantidades de semillas y si no se tiene un control riguroso del proceso pueden afectar la capacidad de germinar de la semilla (Arriagada, 2000).

La radiación es otra técnica que se puede emplear en el tratamiento de las semillas, sin embargo, Aún está en discusión su uso ya que esta puede llegar a alterar la composición genética de las semillas, además de reducir el poder germinativo de estas. Esta técnica es costosa y requiere de equipos especializados y capacitación de personal (FDA et al., 2017).

2.1.2.2 Tratamientos químicos

Este tipo de tratamientos son unos de los más seguros, económico y efectivos. Su efectividad radica en que como son sustancia líquidas pueden penetrar con mayor facilidad al interior de las semillas alcanzando todas las posibles zonas infectadas, además son económicos ya que la cantidad que se emplea es muy pequeña, esto reduce costos en comparación con el tratamiento que se le debería realizar a un cultivo grande ya en producción; y como se emplean pequeñas cantidades el impacto ecológico es menor (Arriagada, 2000).

En la actualidad los productos químicos empleados para el tratamiento de las semillas deben cumplir ciertos requisitos como lo son: no ser fitotóxicos, deben ser seguros para el medio ambiente y para las personas que los manipulan, su efecto no debe dejar residuos peligrosos. Los productos modernos para el tratamiento de las semillas son mezclas de varios ingredientes activos, agentes humectantes y colorantes, los cuales deben ser rigurosamente testeados para comprobar su seguridad (ISF, 2007).

Los tratamientos químicos se pueden clasificar en desinfecciones y fumigaciones. las desinfecciones no tienen el limitante de la cantidad como los tratamientos físicos y se puede emplear a nivel industrial; este tratamiento consiste en la mezcla de las semillas con el producto químico (polvo, pasta, líquido), hasta lograr el cubrimiento y la adherencia del producto a las semillas; durante el periodo de exposición del producto este ingresa a todas las partes de las semillas y es absorbido por los posibles microorganismos presentes causando su acción microbicida. El tiempo de acción del producto químico va a depender del método de aplicación. En cuanto a las fumigaciones su principal objetivo es la eliminación de insectos que puedan dañar las semillas o transportar patógenos a estas, para este tipo de tratamiento se usan sustancias como bromuro de metilo y fosfamina (Arriagada, 2000).

Si bien este tipo de tratamiento es el más empleado presenta algunas desventajas a considerar como lo son: el principio activo de algunos de los productos químicos empleados puede influir negativamente en el poder germinativo de las semillas; para el caso de las semillas destinadas a producir germinador le resta valor a la calidad de natural al producto final debido al uso de sustancias químicas; si no se realiza una adecuada regulación de los productos se puede producir un impacto ambiental considerable (FAO, 2011; Torrez et al., 2018) Además, se deben considerar daños ocasionados a las semillas producidos durante el tratamiento debidos a: el grado de humedad de las semillas, la volatilidad del producto utilizado, la dosis aplicada, el periodo de almacenamiento, el tipo de semilla y la estructura de la semilla (Arriagada, 2000).

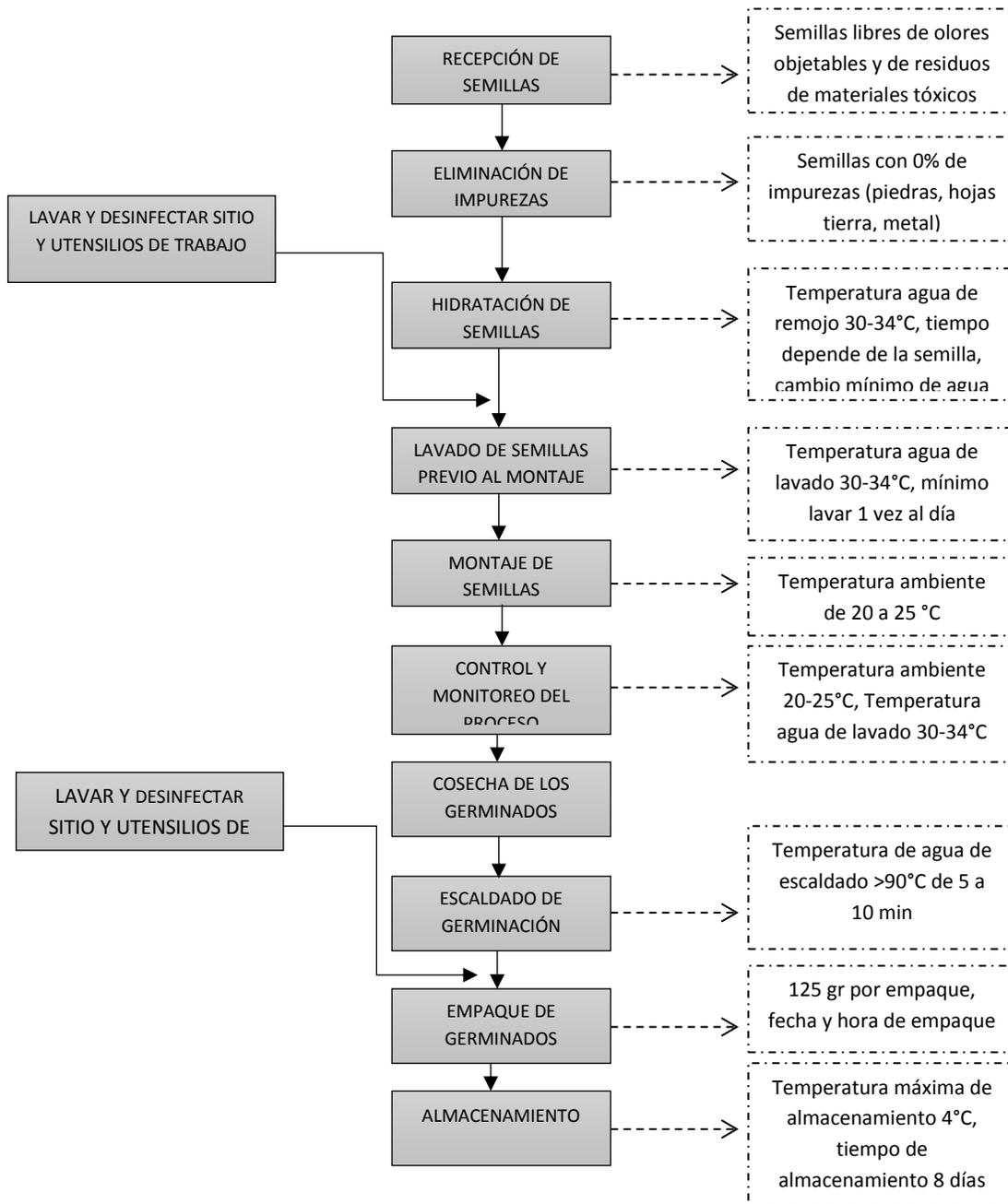


Ilustración 2. Diagrama de flujo del proceso genérico para la producción de semillas germinadas. Tomado de Chaparro D., et al, 2009.

2.1.2.3 Tratamientos biológicos

Estos tratamientos son los más complejos y se basan en el poder antagónico que ejercen ciertos microorganismos no patógenos sobre otros patógenos, logrando un control permanente sobre las semillas. El control biológico se basa en tres mecanismos principalmente: la inducción de resistencia, la competencia o eliminación del patógeno y la producción de antibióticos (Arriagada, 2000); algunos

de los microorganismos más empleados para tratamientos biológicos son *Bacillus subtilis* y *Streptomyces griseoviridis*, este último efectivo contra *Fusarium*, *Alternaria* y *Phomopsis*, también se emplean algas o sustancias producidas por estas que tienen acción microbicida (Arriagada, 2000). La FDA en su guía “Compliance with and Recommendations for Implementation of the Standards for the Growing, Harvesting, Packing, and Holding of Produce for Human Consumption for Sprout Operations: Guidance for Industry” recomienda que las semillas destinadas a la producción de germinados sean pretratadas con los métodos más eficaces para reducir los microorganismos patógenos de importancia en salud pública enfocándose principalmente en la reducción de *Salmonella spp.* y *Escherichia coli O157:H7*; implementando técnicas que hayan demostrado una eficacia de reducción de al menos 4 o 5 log UFC/g. recomendando principalmente:

- Calor, incluido calor seco y agua caliente
- Alta presión
- Irradiación más calor seco

En Colombia como ya se mencionó la mayoría de productores de germinados son pequeñas empresas artesanales que cultivan sus productos en casa y los venden de manera local o por medios digitales es por ello que se considera importante mencionar algunas alternativas de tratamiento de semillas para germinar que son fáciles de implementar y económicas y ayudan a garantizar la inocuidad del producto final, estas se mencionan a continuación.

2.1.2.4 tratamientos alternativos para pequeños productores

Estos tratamientos son fáciles de implementar y económicos por tanto representan una alternativa para que los pequeños productores puedan implementar dentro de sus procesos, mejorando así la calidad tanto de sus procesos como de sus productos. En la tabla 2 se mencionan algunos tratamientos naturales asequibles y que han demostrado ser eficaces para reducir los contaminantes microbiológicos presentes en las semillas (Botero, 2015; FAO, 2011).

Tabla 2. Tratamientos alternativos para las semillas; Adaptado de Manual Técnico: Producción artesanal de semillas para huertas familiares, FAO, (2011); Botero, (2015).

Tratamientos caseros para la desinfección de las semillas
Inmersión en cloro: consiste en verter en 1L de agua 100 ml de cloro y mezclar, posteriormente añadir las semillas previamente lavadas y dejarlas allí por 15 minutos, una vez transcurrido el tiempo escurrir las semillas mediante un colador y enjuagarlas con abundante agua en varias ocasiones hasta retirar todo el cloro; Posteriormente secar y extender sobre una superficie absorbente (toalla limpia de papel).
Infusión de flores de manzanilla: Colocar las semillas en infusión de flores de manzanilla durante 15 minutos, cuando el líquido todavía este caliente. Posteriormente secar y extender sobre una superficie absorbente (toalla limpia de papel).

Flores de valeriana: Mezclar las semillas con extracto de flores de valeriana durante 15 minutos. Posteriormente secar y extender sobre una superficie absorbente (toalla limpia de papel).
Tabaco: Mezclar 2 tabacos desmenuzados con 1 L de agua; impregnar las semillas con esta mezcla 24 horas. Posteriormente secar y extender sobre una superficie absorbente (toalla limpia de papel). Las semillas se deben poner a germinar lo más pronto posible después de este tipo de tratamiento.
Leche descremada: Sumergir las semillas por 20 minutos en leche descremada. Posterior a eso enjuagar y secar.
Extracto de toronja: desinfectante orgánico de extracto de toronja, usar 3mm por litro de agua.
Ajo: hacer una decocción de ajo (a cabezas) en un litro de agua y rociar las semillas con esta solución.

2.1.3 Hidratación de las semillas

Durante esta fase se someten las semillas a un proceso de hidratación que consiste en poner las semillas en remojo durante un determinado periodo de tiempo en el cual las semillas se hinchan por la imbibición de agua y ablandan su cascara lo que permitirá que el brote salga fuera de la semilla (Braunstein, 2012).

La duración de esta fase va a depender del tipo de semilla que estemos germinando. En la tabla 3 se muestran algunos de los tiempos de remojo de los germinados más consumidos en el mundo.

Es fundamental durante esta etapa tener en cuenta que el agua a emplear debe ser agua potable que cumpla con las regulaciones de cada país en el caso de Colombia debe cumplir los requisitos emitidos en el decreto 1575 de 2007 y la resolución 2115 de 2007. Además, los recipientes que se empleen para el proceso de remojo deben estar limpios y desinfectados y cumplir con los requisitos de la resolución 2674 de 2013.

Tabla 3. Características de Germinación de los principales germinados. Tomado de: Instituto nacional de tecnología agropecuaria, Argentina; Braunstein, 2012.

	Tiempo de remojo (Horas)	Días de cosecha	Tamaño del germinado (cm)	Temperatura (°C)	Necesidad de luz
Frijol mungo	12	3 a 5	3 a 4	20-30	No

Alfalfa	4 a 6	5 a 7	3 a 4	15-30	Si
Rabanito ,Brócoli, Coliflor	0 a 4	3 a 5	4 a 5	15-30	Si
Sésamo	4 a 6	1 a 3	<1	20-27	No
Trigo, Avena, Cebada, Arroz	10 a 12	2 a 3	0 a 2	20-27	No
Lenteja	10 a 12	3 a 5	2 a 3	15-30	No
Arveja, Garbanzo	12	2 a 4	1 a 2	20-30	No
Girasol	4 a 6	1 a 2	<1	15-27	No

2.1.4 Germinación y crecimiento

Para el montaje de las semillas se pueden emplear diferentes técnicas dependiendo del tamaño de la producción; los principales equipos de montaje a nivel industrial o gran escala empleados son los tambores giratorios, bandejas y contenedores; para la producción artesanal se emplean frasco de vidrio, bolsas de germinación, bandejas plásticas o metálicas, platos de cerámica etc... Es muy importante tener en cuenta la resolución 2674 de 2013 para que los procesos se realicen de acuerdo a las normas y en cumplimiento de buenas prácticas de manufactura, considerando siempre la limpieza y desinfección de las zonas de montaje y de todos los utensilios que se van a emplear, así como del personal manipulador, para evitar los riesgos asociados a cada etapa del proceso (tabla 1). En el anexo 1 se mencionan las principales técnicas de montaje de germinados.

2.1.5 Control y monitoreo

Esta etapa es crucial para obtener un buen germinado; es importante que, una vez realizado el montaje de las semillas, se mantengan controlados factores como la luz, disponibilidad de agua, oxígeno y temperatura, que como se mencionó en el capítulo I son fundamentales para que se dé el proceso de germinación con éxito. Cada semilla tiene unas condiciones óptimas de germinación que se mencionan en la tabla 3.

2.1.6 Cosecha

Una vez cumplidos los tiempos de cosecha (tabla 3), se procede a retirar los germinados de los montajes (anexo 1), todo el proceso de cosecha se debe llevar a cabo bajo condiciones controladas de higiene para garantizar la inocuidad del germinado (FDA et al., 2017); para esto se recomienda aplicar procedimientos POES, donde se especifiquen las acciones a realizar. Como recomendaciones generales se tienen que:

- ✓ Todos los utensilios empleados deben ser previamente lavados y desinfectados
- ✓ Las áreas de cosecha deben estar separadas del área de siembra y cultivo, así como del área de empaque
- ✓ Implementar programas de capacitación del personal manipulador de alimentos para garantizar la inocuidad del producto final.
- ✓ Realizar inspección visual de los germinados para detectar germinados en mal estado y evitar mezclarlos con los demás.
- ✓ Se debe verificar que las herramientas y equipos empleados para manipular los brotes, así como los contenedores de cultivo estén diseñados de manera que permitan su limpieza y desinfección.

2.1.7 Lavado de los germinados

Una vez cosechados los germinados estos se deben lavar para retirar cascara y ayudar a regular la temperatura de los germinados, además de ser fundamental para conservar la inocuidad del producto. Este proceso de lavado se puede realizar de diferentes formas, algunos autores prefieren utilizar agua fría burbujeante (Braunstein, 2012), otros emplean agua a temperatura de ebullición (>90°C) por 5-10 min (Chaparro et al., 2009), al respecto no se conoce información acerca de la efectividad de alguno de estos procesos, sin embargo, son frecuentemente empleados por los grandes productores de germinados.

Posterior al lavado se deben colocar a secar los germinados ya que estos conservan bastante humedad lo que favorece la multiplicación de microorganismo, es por ello fundamental el secado de los germinados antes del empaque y/o almacenamiento. De forma artesanal se pueden esparcir los germinados en una superficie limpia y seca donde se sequen por la presencia del aire del ambiente o empleando un ventilador que emita el aire de forma indirecta en el espacio donde se encuentren los germinados; a nivel industrial generalmente se emplean centrifugas para secar los germinados (Braunstein, 2012).

2.1.8 Empaque

Durante el empaque de los germinados se deben tener en cuenta:

- ✓ Control adecuado de la limpieza y desinfección de los utensilios, equipos, y adecuada higiene de los operarios que intervienen en el proceso.
- ✓ El personal manipulador debe utilizar elementos de protección personal (gorro, tapabocas y guantes).
- ✓ Buen rotulado del producto final con nombre, fecha de empaque, fecha de expiración del producto y lote, todo esto siguiendo la normatividad vigente de cada país. (Colombia: resolución 683 de 2012, resolución 2652 de 2004, resolución 0224 de 2007).
- ✓ El material empleado para el empaque debe ser adecuado de acuerdo a su uso previsto, que no permita la transferencia de microorganismo y que conserve la integridad del producto.

2.1.9 Almacenamiento y distribución

Los germinados deben ser almacenados bajo condiciones estrictas de temperatura para alargar su vida útil y características de palatabilidad. Se recomiendan temperatura de almacenamiento no superiores

a 4°C, el tiempo de almacenamiento máximo de los germinados es de 8 días en refrigeración adecuada (Chaparro et al., 2009). Para los pequeños empresarios se recomienda producir germinados de acuerdo a sus necesidades de mercado para evitar la pérdida de producto. Se han realizado estudios para mejorar la vida útil de los germinados, sin embargo, no se ha logrado un método que alargue la vida útil de estos productos (Braunstein, 2012; Rubio, 2016).

2.2 Aspectos a tener en cuenta en el cultivo de germinados

Ya que los germinados en su mayoría se consumen crudos son susceptibles a contaminación microbiológica lo que conlleva a causar enfermedades transmitidas por alimentos, por ellos se debe tener en cuenta algunos aspectos para que el cultivo de germinados se dé bajo condiciones adecuadas que garanticen la inocuidad del producto final, estos aspectos son:

2.2.1 Edificaciones, utensilios y equipos

Mantener un ambiente que promueva la producción higiénica de germinados y minimice el potencial de contaminación cruzada es esencial para la seguridad alimentaria (Código de Prácticas Higiénicas Para Las Frutas y Hortalizas Frescas, 2003). En Colombia el decreto 2674 de 2013 establece las condiciones que deben tener las edificaciones donde se procesen alimentos, así como las condiciones higiénicas y materiales a utilizar; como consideraciones generales tenemos que:

- ✓ El lugar donde se van a producir los germinados deber ser cerrado, si cuenta con ventanas estas deben estar en buenas condiciones, deben cerrar perfectamente y estar libres de polvo, tierra etc. como en Colombia la producción de germinados es más artesanal se recomienda disponer en un cuarto de la casa exclusivo para la producción de germinados en el cual se puedan separar físicamente cada una de las etapas del proceso para evitar contaminación cruzada
- ✓ Diariamente realizar inspección visual del lugar para evidenciar la presencia de posibles plagas.
- ✓ Procurar el uso de materiales de fácil limpieza como metal o porcelana, evitar el uso de madera, en caso de emplear bambú para el montaje de los germinados (anexo 1), no reutilizarlo ya que este es de difícil limpieza y sus porosidades pueden albergar microorganismos.
- ✓ El área de producción debe ser amplia y tener un espacio protegido de la luz y otro donde se perciba la luz del sol.
- ✓ Tener disponible un fregadero y una fuente de agua con mesón de fácil lavado.
- ✓ Implementar programas POES para unificar procedimientos y llevar un control estricto de las actividades de limpieza y desinfección, así como de las instalaciones donde produce los germinados.
- ✓ Sea de forma artesanal y aún más a nivel industrial se debe disponer de zonas específicas de descanso separadas de las áreas de producción, además se debe contar con baños y sitios de lavado de manos para el personal manipulador.
- ✓ Implementar un programa de disposición de residuos adecuado para cada nivel de producción.

- ✓ Las unidades de cultivo que se van a emplear deben estar en buen estado, los equipos deben ser constantemente revisados y tener hojas de vida de mantenimientos, los utensilios deben ser de un material adecuado que permita su limpieza.

2.2.2 Limpieza y desinfección

Las actividades de limpieza y desinfección son diferentes y son fundamentales para garantizar la inocuidad de los germinados, es por ello importante conocer puntos clave en el proceso de producción al respecto:

La FDA en su guía “Compliance with and Recommendations for Implementation of the Standards for the Growing, Harvesting, Packing, and Holding of Produce for Human Consumption for Sprout Operations: Guidance for Industry” dice que es “necesario y apropiado” desinfectar todas las superficies y utensilios que vayan a entrar en contacto con las semillas a germinar y los germinados, teniendo en cuenta todas las superficies y utensilios que entren en contacto durante la siembra, cultivo, cosecha, empaque y almacenamiento de los germinados; estas operaciones de limpieza se deben realizar al menos una vez al día.

- ✓ Se deben realizar actividades de limpieza y desinfección entre cada lote de producción, además cuando se van a poner a germinar diferentes tipos de semillas a la vez.
- ✓ La limpieza y desinfección entre lotes de producción de germinados minimizará el potencial de contaminación cruzada y también facilitará las acciones correctivas en caso de contaminación de alguno de los lotes.
- ✓ Los tambores giratorio y germinadores se deben limpiar y desinfectar una vez cosechado un lote de producción.
- ✓ Se recomienda no solo limpiar sino también desinfectar los utensilios que van a tener contacto con los germinados debido a su potencial riesgo de contaminación.
- ✓ Se deben implementar procedimientos operativos estandarizados de saneamiento (POES) de limpieza y desinfección, así como llevar registros de las actividades y frecuencia de las mismas.

2.2.3 Calidad del agua

El agua empleada para la producción de germinados debe ser agua potable que cumpla con lo establecido en el decreto 1575 y la resolución 2115 de 2007 (para Colombia), en las cuales se establecen los requisitos físico-químicos y microbiológicos que debe cumplir el agua para consumo humano. En el anexo 2 se muestran las principales características que debe tener el agua para consumo humano.

2.3 Políticas aplicables a la producción de germinados en Colombia y el mundo

2.3.1 Políticas aplicables a germinados en el mundo

Las políticas de producción de alimentos son determinadas por cada país o nación; dentro de los países con mayor consumo y producción de germinados se encuentran China, Japón, Europa y Estados Unidos; en América latina estos alimentos son relativamente poco conocidos, sin embargo, se consumen en Brasil y en menor cantidad en otros países (Machado et al., 2009). Para el caso de la

Unión Europea esta cuenta con varias normatividades que aplican a la producción de germinados; dentro de sus políticas se encuentran las siguientes:

Reglamento de ejecución (UE) N° 208/2013 de la Comisión, de 11 de marzo de 2013 en el cual se establecen los requisitos en materia de trazabilidad de los brotes y de las semillas destinadas a la producción de brotes. Así mismo cuenta con el reglamento (UE) N° 209/2013 de la Comisión de 11 de marzo de 2013, que modifica el Reglamento (CE) N° 2073/2005 en lo que respecta a los criterios microbiológicos para los brotes y las normas de muestreo para las canales de aves de corral y la carne fresca de aves de corral.

Otro de los reglamentos es el (UE) N° 210/2013 de la Comisión de 11 de marzo de 2013, sobre la autorización de los establecimientos que producen brotes en virtud del Reglamento (CE) N° 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo.

También cuentan con reglamentos sobre los requisitos para importación de brotes y semillas destinadas a la producción de brotes (Reglamento (UE) N° 211/2013 de la Comisión de 11 de marzo de 2013 y el (UE) N° 704/2014 de la Comisión, de 25 de junio de 2014).

Así mismo para 2014 se creó un registro de operadores productores de brotes en el cual el proceso de inscripción, autorización, modificación o cancelación de los establecimientos productores de brotes se realiza ante unas entidades competente de la comunidad donde este ubicada la productora, las cuales verifican el cumplimiento de los reglamentos mencionados anteriormente.

En los Estados Unidos los líderes de la industria de germinados y productos frescos y el grupo IFSH (Institute for Food Safety and Health), la FDA (U.S. Food and Drug Administration), la USDA (U.S. Department Of Agriculture) y la industria minorista desarrollaron el programa “U.S. Sprout Industry Production Best Practices ”, en este se armoniza todo en torno a la seguridad alimentaria de los productos frescos y se abordan los factores de riesgo exclusivos de los germinados y se establecen prácticas de producción y requisitos que minimicen los riesgos asociados a la seguridad alimentaria.

La FDA en 2017 emitió la “Guidance for Industry: Compliance with and Recommendations for Implementation of the Standards for the Growing, Harvesting, Packing, and Holding of Produce for Human Consumption for Sprout Operation” en la cual se realizan recomendaciones a tener en cuenta durante todo el proceso de germinación.

Otro documento guía para los productores de germinados es el “Code of Hygienic Practice for Fresh Fruit and Vegetables, emitido en 2003 en cuyo anexo 2 se relacionan los aspectos a tener en cuenta en la producción de germinados.

Otros documentos de guía en diferentes países son:

- Canadian Food Inspection Agency (CFIA)
Code of Practice for the Hygienic Production of Sprouted Seeds (2007)
Food Safety Practices Guidance for Sprout Manufacturers (2008).

- Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) Proposal P1004: Primary Production and Processing Standard for Seed Sprouts Approval Report (2011).
- Food Safety Authority of Ireland Guidelines on Safe Production of Ready-to-Eat Sprouted Seeds (Sprouts) (2011).

2.3.2 Políticas aplicables a la producción de germinados en Colombia

La producción de germinados en Colombia es como ya se ha mencionado algo nuevo y por tanto no se cuenta con políticas dirigidas específicamente a la producción y comercialización de estos productos (Perez& Zapata, 2015), sin embargo, ciertas normas preexistentes tienen aplicación para su producción, dentro de estas se encuentran:

El Decreto 3075 de 1997 mediante el cual se regulan todas las actividades que puedan generar factores de riesgo por el consumo de alimentos, este decreto lo deben cumplir todas las empresas que fabriquen, procesen, preparen, envasen, almacenen, distribuyan y comercialicen alimentos en el territorio nacional y menciona las condiciones básicas de higiene para la fabricación de alimentos.

Además, está la Resolución 14712 de 1984 del Ministerio de Salud y Protección Social por la que se establece lo relacionado con producción, procesamiento, transporte, almacenamiento y comercialización de vegetales como frutas y hortalizas elaboradas.

Otra norma que aplica es la resolución 3002 de 2005 del ICA, en la cual se mencionan requisitos sobre el etiquetado de los insumos agrícolas (plaguicidas químicos de uso agrícola, reguladores fisiológicos de plantas, coadyuvantes, fertilizantes y acondicionadores de suelos, bioinsumos agrícolas y extractos vegetales).

Además, los productores deben tener en cuenta la resolución 000187 de 2006 mediante la cual se reglamenta la producción primaria, procesamiento, empaquetado, etiquetado, almacenamiento, certificación, importación, comercialización y se establece un Sistema de Control de Productos Agropecuarios Ecológicos.

Otras normativas que aplican para obtener un producto inocuo y de calidad son:

- Resolución 004174 de 2009 del ICA mediante la cual se reglamenta la certificación de Buenas Prácticas Agrícolas en la producción primaria de fruta y vegetales para consumo fresco.
- Conpes 3514 de 2008 del Consejo Nacional de Política Económica y Social República de Colombia DNP mediante el cual se estableció la política nacional fitosanitaria y de inocuidad para las cadenas de frutas y de otros vegetales.
- Resolución 2674 de 2013 por medio de la cual se establecen los requisitos sanitarios que deben cumplir las empresas durante todas las etapas de sus procesos.

Como se puede ver Colombia no cuenta actualmente con políticas dirigidas específicamente a la producción de germinados y siendo este un alimento con gran probabilidad de contaminación microbiológica por sus características de producción, es fundamental ahora que su consumo está en

aumento generar políticas que regulen su producción en el territorio colombiano, para garantizar así la inocuidad de este alimento que como se verá más adelante en el capítulo III aporta grandes beneficios para la salud de las personas.

2.4 Controles asociados a la producción de germinados

Las normatividades internacionales brindan información de importancia para los productores de germinados, las cuales pueden ser aplicadas en Colombia, dentro de los controles que se deben hacer a los germinados para liberar el producto se encuentran:

- Pruebas al ambiente de producción, cosecha, empaque y almacenamiento de los germinados para detectar la presencia de microorganismo patógenos como *Listeria monocytogenes* (AGCI et al., 2017; FDA et al., 2017).
- Calidad del agua: realizar testeos de la calidad microbiológica del agua empleada para producir los germinados, buscando principalmente *E. Coli* O157: H7 y especies de *Salmonella*(AGCI et al., 2017; FDA et al., 2017).

El reglamento de la unión europea 209/2013 dice: “Los productores que producen brotes tomaran muestras para el análisis microbiológico en la fase en que es mayor la probabilidad de encontrar *E. coli* productora de toxinas Shiga y *Salmonella spp.*, en todo caso no antes de 48 horas después de que comience el proceso de germinación”; además menciona “Los productores de brotes tomaran las muestras para el análisis microbiológico de los brotes y/o del agua de riego, como mínimo una vez al mes. En el caso de que, durante el mes se realice el análisis preliminar de nuevos lotes se podrá considerar cumplida la frecuencia mínima de muestreo mensual”. En la tabla 4 se muestran los criterios microbiológicos establecidos por la Unión Europea en el reglamento CE 2073/2005 para semillas a germinar y brotes(germinados).

Tabla 4. Germinados, Requisitos microbiológicos según reglamento 2073/2005. Tomado de Reglamento 2073/2005 Unión Europea

	Microorganismos, sus toxinas/metabolitos	Limites	Método analítico de referencia
1.18. Semillas germinadas (listas para el consumo)	<i>Salmonella</i>	Ausencia en 25 g o ausencia en 200 ml	EN/ISO 6579
1.29. Brotes	<i>E. coli</i> productora de toxinas Shiga (<i>STEC</i>) O157, O26, O111, O103, O145 y O104:H4	Ausencia en 25 g o ausencia en 200 ml	CEN/ISO TS 13136

Las normativas internacionales mencionadas anteriormente en la sección 2.3.1 sirven de guía para los productores de germinados en Colombia que quieran implementar en sus procesos estrategias que mejoren la calidad de sus productos y así adquieran mayor confianza de los consumidores.

CAPITULO III

APORTE NUTRICIONAL DEL CONSUMO DE GERMINADOS Y SUS BENEFICIOS PARA LA SALUD

Los germinados son alimentos caracterizados por tener mayor cantidad de nutrientes inclusive que el alimento sin germinar; son considerados alimentos funcionales ya que por ser “alimentos vivos” se consumen aun cuando están metabólicamente activos lo cual hace que la disponibilidad de nutrientes sea más asequible. Para que se dé la germinación deben ocurrir una serie de procesos bioquímicos mediante los cuales por acción enzimática las moléculas más grandes se convierten en una más simples, por ejemplo, los carbohidratos se convierten en azúcares simples, las proteínas en aminoácidos simples y las grasas en ácidos grasos, lo que hace que estos nutrientes al ser consumidos sean más fáciles de asimilar y digerir por el cuerpo (Bravo et al., 2013; Fernández, 2016; Martin, 2005; Racines, 2011).

Martin (2005) afirma “consumir semillas germinadas es comer vida de primera mano, lo que significa incorporar juventud, vigor y energía regeneradora a todas las células del cuerpo” (Pag 21). Como se menciona a continuación los germinados tienen varios compuestos que los hacen un alimento muy completo, sin embargo, estos no se deben considerar como la panacea de la alimentación ya que, si bien aportan muchos nutrientes, estos se consumen en pequeñas cantidades que, si ayudan a mejorar la salud, pero se deben considerar un complemento para una alimentación saludable y balanceada.

3.1 Compuestos que se adquieren al consumir germinados

Los germinados son ricos en muchos compuestos como lo son enzimas, vitaminas, aminoácidos, minerales y oligoelementos que contribuyen a una alimentación adecuada y al mantenimiento de la salud, así como a la prevención de enfermedades crónicas, si se consumen de manera conjunta de verduras, frutas y proteínas en cantidades adecuadas.

3.1.1 Enzimas

Las enzimas son catalizadores de los procesos bioquímicos, es decir actúan sobre los procesos metabólicos aumentando la velocidad de reacción. Durante el proceso de digestión las enzimas se encargan de convertir moléculas complejas en unas más simples que son fáciles de absorber por el cuerpo. Durante el proceso de germinación en la fase de digestión son liberadas enzimas que actúan sobre las reservas metabólicas de las semillas para convertir las moléculas compuestas en moléculas simples y así iniciar los procesos metabólicos necesarios para que se dé la germinación con éxito; como el consumo de germinados se da cuando estos aún se encuentran en crecimiento es decir con sus procesos internos activos, la disponibilidad de enzimas propias de las semillas (diastasas) que ingresan al cuerpo es mayor que las del alimento no germinado, esto favorece la digestión del alimento por medio de estas enzimas exógenas (diastasas)(Racines, 2011) que ayudan al cuerpo a digerir el alimento sin tener que emplear sus propias enzimas (enzimas endógenas; proteasas para digerir proteínas, lipasas para digerir lípidos y amilasas para digerir la fibra), es por ellos que se

consideran a los germinados como alimentos antioxidantes y rejuvenecedores ya que favorecen el mantenimiento las reservas enzimáticas del cuerpo (Martin, 2005) .

3.1.2 Aminoácidos esenciales

Los aminoácidos son requeridos para la síntesis de proteínas; son 20 los que se necesitan para su síntesis, estos se clasifican en esenciales y no esenciales; los no esenciales son aquellos que son sintetizados por el cuerpo humano y son: alanina, arginina, ácido aspártico, asparragina, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, serina y tirosina; los aminoácidos esenciales son aquellos que no son sintetizados por el cuerpo y se deben adquirir mediante la ingesta de alimentos dentro de este grupo se encuentran: histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina (Carbajal, 2013) Las proteínas son el principal constituyente de las células, y actúan en todos los procesos metabólicos que el cuerpo realiza para su funcionamiento; todos los alimentos contienen proteínas ya sean de origen animal o vegetal en diferentes proporciones. Los germinados aportan una gran variedad de aminoácidos esenciales, por ejemplo, en el maíz germinado se ha evidenciado un aumento de 19% en la concentración de lisina y triptófano con respecto al alimento sin germinar (Garcia et al., 2017); en un estudio realizado por (Apráez et al., 2017) en el cual se valoró la cantidad de proteína del maíz (*Zea mays L.*), cebada (*Hordeumvulgare L.*), avena (*Avena sativa L.*) y trigo (*Triticumaestivum L.*) se encontró un aumento en el contenido de proteína en los alimentos germinados (9,79% y 13,4%) con respecto a los alimentos sin germinar (8% y 10,5%), otro estudio realizado por (Chaparro et al., 2011) demostró un aumento en la concentración de proteína de las semillas de soja (*Glycinemax*) germinadas de 2,26% con respecto al alimento sin germinar; estos y muchos otros estudios sustentan la idea de que los germinados tiene una mayor concentración de proteínas que el alimento sin germinar, lo que sumado a que su producción es fácil y económica ratifica este alimento como un suplemento ideal para una dieta balanceada.

3.1.3 Clorofila

La clorofila es un pigmento de color verde que se encuentra en las plantas y su función principal es la de absorber energía lumínica para el proceso de fotosíntesis(Solarte et al., 2010); es considera como la hemoglobina de las plantas, su diferencia radica en que la hemoglobina contiene hierro mientras que la clorofila contiene magnesio dentro de su estructura (Martin, 2005). Cuando los germinados han crecido y desarrollado sus primeras hojas y son expuestos al sol producen clorofila en grandes cantidades. Muchos investigadores consideran que la clorofila ayuda al cuerpo humano en procesos de regeneración celular, además de actuar sobre sustancias cancerígenas como las aflatoxinas B1, también se considera un depurador natural y oxigenador de la sangre, y tiene propiedades desinfectantes y antibióticas (Costas, 2012; Martin, 2005; Orozco, 2018; Ponce De León et al., 2013; Solarte et al., 2010; Souza, n.d.).

3.1.4 Vitaminas

Las vitaminas son compuestos orgánicos importantes para el buen funcionamiento del cuerpo humano; algunas vitaminas son sintetizadas endógenamente (Vitamina D y niacina) sin embargo su producción se da en muy pequeñas cantidades que no suplen las necesidades del organismo por lo cual las vitaminas deben ser adquiridas de los alimentos. Los germinados se caracterizan por su gran

contenido y variedad de vitaminas, un ejemplo de ello es la vitamina C, la cual no es perceptible en la semilla sin embargo, con el paso de los días de germinación se da su producción llegando por ejemplo para el caso de la soja al 100% de contenido de vitamina C al quinto día de germinación, o el trigo que supera un 600% el contenido de vitamina C (Martin, 2005), los germinados con mayor contenido de vitamina C son los de trigo, lenteja, soja, garbanzo y judías. La vitamina C es necesaria para la formación de colágeno que ayuda al buen mantenimiento de la piel, así mismo, ayuda a la formación de la dentina y a los procesos de cicatrización (Martin, 2005). Otra vitamina que se encuentra en gran cantidad en los germinados sobre todo en los de alfalfa es la vitamina A, esta vitamina se encuentra en dos formas, la vitamina A preformada que se obtiene de carne vacuna, de aves, pescado y productos lácteos y la provitamina A que se obtiene de frutas y verduras en forma de carotenos y beta carotenos; esta vitamina ayuda al crecimiento y a la visión (Chazi, 2006).

Las vitaminas del grupo B cumplen múltiples funciones en el cuerpo, sus requerimientos no son en gran cantidad, pero si se debe mantener una ingesta constante de alimentos ricos en esta vitamina; las vitaminas del grupo B ayudan en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y ácidos grasos, también son claves en los procesos de detoxificación, crecimiento de los tejidos y producción de eritrocitos y son fundamentales para la producción de anticuerpos (Chazi, 2006). La tabla 5 muestra el contenido de vitaminas del grupo B en algunos alimentos germinados y sin germinar; allí se puede ver como la germinación aumenta el contenido de estas vitaminas en el alimento, lo que aumenta su disponibilidad al consumo. Otra vitamina que se puede obtener mediante el consumo de germinados es la vitamina E, la cual se encuentra aumentada hasta tres veces con relación al alimento sin germinar, además las características químicas de esta vitamina producida durante la germinación la hacen mejor asimilable por el cuerpo que la vitamina E sintética (Martin, 2005); esta vitamina es un potente antioxidante y regulador de los procesos endocrinos de secreción de hormonas (Chazi, 2006).

La vitamina K es fundamental para que se den adecuadamente los procesos de coagulación y se puede adquirir al consumir germinados de alfalfa (Martin, 2005). Los alimentos que se consumen hoy en día son cada vez más tratados, purificados y manipulados industrialmente; todos los tratamientos a los que son sometidos los alimentos alteran las propiedades nutricionales de los mismo, y modifican la acción de las vitaminas que estos contienen, es por ello fundamental el consumo de frutas, verduras y germinados para suplir las necesidades nutricionales del cuerpo.

3.1.5 Minerales y Oligoelementos

Los minerales y oligoelemento son micronutrientes y microminerales inorgánicos esenciales para el organismo; participan en procesos metabólicos reguladores y estructurales, estos no son sintetizados por el cuerpo por lo tanto deben ser adquiridos de la dieta diaria (Reynaud, 2014). Las verduras, hortalizas, algas marinas y germinados son los alimentos con mayor contenido de minerales y oligoelementos (Martin, 2005). Los germinados de sésamo proporcionan casi la misma cantidad de calcio que la leche de vaca, el calcio es fundamental para los huesos, los dientes y las uñas. El potasio ayuda a regular las funciones ácido-base del cuerpo y se puede obtener por el consumo de germinados de almendra, girasol, sésamo, judía y soja (Martin, 2005).

El hierro es fundamental para mantener la buena salud y evitar condiciones como la anemia, el consumo de germinados ayuda a reducir la presencia de anemia como lo demostró un estudio realizado por (Orozco, 2018) en niños menores de 6 años en Santa Lucía, Perú, el cual determinó que

al incorporar germinados en la dieta diaria de los niños población de estudio, se mejoraron los niveles de hemoglobina y con ello se redujeron los casos de anemia (se administraron germinados de alfalfa de forma diaria junto con una dieta balanceada y se encontró un incremento en la hemoglobina de los niños menores de 6 años obteniéndose un aumento del 10% de los niños un incremento al 60%; la anemia moderada se redujo de un 43,3% antes de la introducción de germinados a la dieta a 3,3% después de la adición de germinados de alfalfa a la dieta). Este estudio comprueba como el consumo de germinados ayuda a promover un buen estado de salud, disminuyendo la presencia de condiciones como la anemia que afectan a gran cantidad de la población.

3.1.6 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, estos son compuestos orgánicos que no tienen una relación directa con los procesos metabólicos como los metabolitos primarios; los metabolitos secundarios se clasifican en cuatro grupos que comprenden los terpenos, compuestos fenólicos, alcaloides y glucósidos (Martín Gordo, 2018). Las plantas son los principales sintetizadores de compuestos fenólicos, estos compuestos cumplen funciones antioxidantes ya que atrapan e inhiben la producción de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, también tienen propiedades antimicrobianas ya que inhiben el metabolismo de los microorganismos al causar la oxidación de enzimas que intervienen en estos procesos, además se ha estudiado su poder anticancerígeno debido al efecto estrogénico y anti proliferativo que causan (Martín Gordo, 2018; Peñarrieta et al., 2014).

Tabla 5. Aporte de vitaminas del grupo B de algunos germinados. Tomado de (Martin, 2005)

Contenido de Vitaminas del Grupo B en Germinados (Mg/Kg)								
Germinado	Vitamina B ₁		Vitamina B ₂		Vitamina B ₃		Biotina	
	Alimento No germinado	Alimento germinado	Alimento No germinado	Alimento germinado	Alimento No germinado	Alimento germinado	Alimento No germinado	Alimento germinado
Cebada	-	7,9	1,3	8,3	72	129	0,4	1,2
Maíz	6,2	5,5	1,2	3,0	17	40	0,3	0,7
Avena	10,0	11,5	0,6	12,4	11	48	1,2	1,8
Soja	10,7	9,6	2,0	9,1	27	49	1,1	3,5
Judías de lima	4,5	6,2	0,9	4,0	11	41	0,1	0,4
Judía Mungo	8,8	10,3	1,2	10,0	26	70	0,2	1,0
Guisante	7,2	9,2	0,7	7,3	31	32	-	0,5

3.2 Aporte nutricional de los diferentes tipos de germinados

Los germinados se pueden obtener a partir de cualquier semilla de leguminosa o grano de cereal, los más apreciados por su textura y por el buen sabor de sus brotes son los obtenidos de legumbres (soja verde, judía mungo, alfalfa), cereales (trigo, cebada) y de berro, rábano, calabaza, girasol, lino y sésamo (Ponce de León *et al.*, 2013).

3.2.1 Leguminosas

Las leguminosas representan una amplia gama de especies que incluyen los frijoles blancos (*Phaseolus vulgaris* L.), alfalfa (*Medicago sativa*) las lentejas (*Lens culinaris*), los garbanzos (*Cicer arietinum*), frijol mungo (*Vigna radiata*), Las alubias (*Phaseolus vulgaris*), los guisantes (*Pisum sativum*), las habas secas (*Vicia faba*), la soja (*Glycine soja*) y el cacahuete (*Arachis hypogaea*) entre otros. Este alimento es consumido ampliamente en todo el mundo y es conocido por su gran aporte nutricional a la dieta; dentro de los componentes que aporta se encuentran proteínas, carbohidratos, fibra, grasas (ácido linoleico), vitaminas y oligoelementos. El alimento como tal se consume en forma de semillas secas sin vaina, su aporte nutricional a la dieta diaria comprende carbohidratos en una 50-60%, proteínas en un 20-40%, fibra de 12-25% y grasas de 2-5% (OTRI, 2016a; Sanchez *et al.*, 2016). El consumo de leguminosas se ha relacionado con tener un papel protector frente a enfermedades crónicas como la diabetes, hipertensión, el cáncer, enfermedades cardiovasculares y prevención de la obesidad (OTRI, 2016b).

Si bien las leguminosas aportan una gran cantidad de nutrientes al cuerpo mediante su consumo en forma de semilla seca, su consumo se ve favorecido a nivel de digestibilidad y de disponibilidad de nutrientes al ser consumidas en forma de germinado. La tabla 6 muestra el contenido nutricional de los principales germinados de leguminosas y cereales según la FDC de los Estados Unidos.

3.2.1.1 Frijol

Dentro de los alimentos más consumidos en forma de germinados se encuentran el frijol mungo (*Vigna radiata*), el frijol de la especie *Phaseolus vulgaris* y el frijol adsuki; el sabor de estos germinados se caracteriza por ser dulce. Los germinados de este grupo son ricos en proteínas, fibra, vitaminas y minerales ((Martin, 2005), además de compuestos fitoquímicos.

El frijol de la especie *Phaseolus vulgaris* es una de las leguminosas más consumidas en todo el mundo, este alimento contiene gran cantidad de nutrientes así como componentes fitoquímicos (compuestos fenólicos, isoflavonas, fitoesteroles etc..) por lo cual se considera un alimento funcional ya que su consumo es benéfico para la salud pues se le ha atribuido un poder antioxidante y anticancerígeno. Sin embargo, este alimento contiene compuestos anti nutricionales como los son inhibidores de tripsina, acidofítico y taninos que afectan su digestibilidad y provocan malestar para la salud de las personas que los consumen (Mendoza, 2018).

Los germinados de *Phaseolus vulgaris* son alimentos que contienen cantidades similares de proteínas, vitaminas, minerales y compuestos fitoquímicos que el alimento sin germinar; sin embargo se ha comprobado que los germinados tienen menor contenido de compuestos anti nutricionales, lo que los convierte en una opción atractiva de alimentación; En un estudio realizado por Dueñas *et al.*, (2016) se encontró que la germinación además de mejorar las características nutricionales del alimento

disminuye el contenido de estos compuestos anti nutricionales, mejorando así la digestibilidad del alimento al consumirlo germinado; Esto se confirma con lo encontrado por E. Sangronis & Machado, (2007) en un estudio en el cual se determinó el efecto de la germinación sobre factores anti nutricionales de frijoles negros (*Phaseolus vulgaris L.*) y frijoles blancos (*Phaseolus vulgaris L.*) dando como resultado una disminución de inhibidores de tripsina de 25% y 52,5% respectivamente, así como una reducción de ácido fítico del 40% con relación al grano sin germinar en las dos especies. Resultados similares fueron obtenidos por Mendoza, (2018) quien obtuvo una reducción de inhibidores de tripsina y ácido fítico por el proceso de germinación de 41% y 36% respectivamente al comparar con la semilla sin germinar.

En cuanto al contenido de proteína de los germinados Sangronis et al., (2004) determinó que el contenido de proteína en especies de frijol *Phaseolus vulgaris* en el grano crudo sin germinar (*P. vulgaris* var. Blanca: 21,1 g/100g; *P. vulgaris* var. Negra:23,3 g/100g) con relación al grano germinado (*P. vulgaris* var. Blanca:21,7 g/100g; *P. vulgaris* var. Negra 23,3 g/100g) no tiene una variación significativa. Datos similares obtuvieron Ramos de Vega & Sangronis, (2006) quienes estudiaron diferentes variedades de frijol germinado y encontraron concentraciones de proteína de 24 a 27 g/100g; estas concentraciones de proteína representan un buen aporte nutricional para la dieta diaria.

Resultados similares se han obtenido para el frijol mungo (*Vigna radiata*); en un estudio realizado por Ebert et al., (2017) en el cual se compararon las características nutricionales del frijol mungo germinado y sin germinar se encontró que el contenido de proteína y minerales fue mayor en el frijol sin germinar en comparación con el frijol germinado (Proteína:26,88 g y 4,27 g; Ca:96,56 mg y 7,82mg; Fe 6,88 mg y 0,63 mg; Zn: 3,61 mg y 0,60 mg respectivamente), sin embargo el contenido de vitamina C se vio aumentado en el frijol germinado (18,86 mg) con respecto al frijol sin germinar (7,04 mg), estos resultados son similares a los encontrados por Masood et al., (2014), el cual encontró un incremento de vitamina C de 0 mg/ 100g a 37 mg/100 g a las 120 horas de germinación; sin embargo este autor si encontró un aumento de contenido de proteína de 23,5% a 30,43%.

Otros componentes de los germinados de frijol son los minerales como calcio, hierro, folatos y sodio (Martin, 2005); En un estudio realizado por Morales et al., (2016) se encontró que los germinados de *Phaseolus vulgaris* tienen un gran contenido de Fe y Zn (7,2 y 14,5 % respectivamente), así como potasio y calcio en menor proporción.

E. Sangronis & Machado, (2007) encontraron concentraciones de ácido ascórbico (12,2 mg/100g), ácido fítico (4,32 mg/100g), tiamina (0,91 mg/100g), calcio (187,4 mg/100g), magnesio (199,8 mg/100g), zinc (9,3 mg/100g), hierro (5,8 mg/100g) y cobre (1,1 mg/100g) en los germinados de *Phaseolus vulgaris* variedad negra.

También se ha relacionado a los germinados de *Phaseolus vulgaris* con propiedades como adyuvantes hipolipémicos debido a su alto contenido de fitoquímicos, como lo demuestra Mendoza-Sánchez et al., (2019) en un estudio en el cual se encontraron altas concentraciones de hesperidina y soyaaponina I en los germinados de *P. vulgaris* componentes hipotriglicéridemicos que disminuyen la absorción intestinal de Triacilglicéridos (TAG).

3.2.1.2 Lentejas

La lenteja (*Lens culinaris*) es un alimento con una alta concentración de nutrientes; su ingesta confiere proteínas en un 22%, fibra en un 18%, hidratos de carbono en un 58% y un muy bajo aporte de lípidos (2,3%). Los germinados de lentejas son los más fáciles de cultivar, su sabor es ligeramente dulce y picante; con relación a la semillas sin germinar, los germinados de lenteja tienen un alto contenido de proteínas y carbohidratos que les dan gran valor nutricional (Salas-Pérez et al., 2018), también contienen vitamina B1, B3, B6, tienen altos niveles de hierro, potasio, ácido fólico, niacina y zinc así como compuestos bioactivos con capacidad antioxidante (Solorzano et al., 2019). Los germinados de lenteja son ricos en fibra y bajos en grasa; este tipo de germinados son muy recomendados para vegetarianos que requieren suplementos adicionales para lograr niveles adecuados de hierro y proteína en la alimentación diaria (Świeca et al., 2013). También son recomendados para las personas que sufren de diabetes ya que tienen un índice glicémico bajo, liberan lentamente la glucosa a la sangre y esto ayuda a estabilizar la producción de insulina (Świeca et al., 2013).

Un estudio realizado por Raimondi et al., (2017), se encontró que los germinados de lenteja contienen 285 g/Kg de materia seca (DM) de proteína, 3,9 g/Kg DM de fósforo, 7,8 g/Kg DM de potasio así como 4,4 g/Kg DM de ácido ascórbico.

Martínez, (2019) realizó un estudio en el cual evaluó el contenido de hierro, calcio y magnesio en los germinados de lenteja a diferentes días de germinación encontrando que la mayor concentración se presenta en el día 10 de germinación con contenido de hierro de 14,63 mg%g, calcio de 544,6 mg%g y magnesio 601,6 mg%g y mostrando un aumento significativo en estos minerales con respecto al alimento sin germinar.

Gil et al., (2014) estudió el contenido de riboflavina en harinas de lentejas germinadas y sin germinar encontrando que las harinas de lentejas germinadas contienen mayor cantidad de proteína (20,12%) que las harinas de lentejas sin germinar (17,06%); para el contenido de riboflavina se encontró que la germinación aumenta en un 100% el contenido de esta vitamina pasando de 0,04 mg/100g a 0,10 mg/100g.

Solorzano et al., (2019) evaluó la actividad antioxidante de los germinados de lenteja encontrando que estos contienen compuestos antioxidantes como la clorofila (13,5 mg/g), beta-carotenos (8,64 µg/ml) y compuestos fenólicos (0,033 mg ácido gálico/g peso fresco) en una cantidad considerable, la cual se ve aumentada al exponer los germinados a luz LED de color azul. Este estudio mostró además que al aplicar luz LED de color azul a los germinados durante su cultivo se pueden mejorar aspectos nutricionales como el contenido de proteína que aumentó hasta 36,80 mg/g peso fresco.

Según los anteriores estudios los germinados de lentejas aportan proteínas, vitaminas y minerales en concentraciones adecuadas para suplir las necesidades diarias, además tiene actividad antioxidante y ayudan a controlar los niveles de glucosa en sangre.

3.2.1.3 Alfalfa

Los brotes de alfalfa (*Medicago sativa*) son los más populares en el mundo; su sabor a nueces dulces, fresca y crocancia al morder, además de sus cualidades nutricionales los convierte en un alimento muy apetecido (Zula, 2013). Los germinados de alfalfa tienen un alto contenido de humedad que va de 90 a 94% según los días de germinación (5 y 7 días respectivamente) (Michalczyk et al., 2019); esta cualidad los vuelve blanco de microorganismos patógenos; este germinado es el que más se ha

relacionado con causar enfermedades en las personas que los consumen ya que por su abundante contenido de agua favorecen la multiplicación de bacterias como *E. coli* y *Salmonella spp* como se verá en el capítulo siguiente (Cuellar, 2017).

Dentro de los nutrientes que aporta el consumo de este tipo de germinados se encuentra una gran variedad de vitaminas, aminoácidos y minerales, así como proteína y enzimas que ayudan a su digestión. Estos germinados no contienen grasa ni colesterol, el consumo de una taza de germinado de alfalfa aporta solo 10 calorías a la dieta (Zula, 2013);

Los germinados de alfalfa son buena fuente de proteína vegetal: Zula, (2013) menciona que cada taza del germinado aporta 1,3 gramos de proteína; Przybysz et al.,(2016) reportó 24,94 %/DM de proteína de la alfalfa germinada en condiciones de luz y 43,8 g % DM en condiciones de oscuridad. Estos resultados son similares a los encontrados por López et al.,(1990) en los germinados de alfalfa (Proteína: 48,3 g % DM).

En cuanto al contenido de minerales los germinados de alfalfa tienen una mayor concentración de sodio, potasio y calcio, como lo demuestra un estudio realizado por Chiriac et al.,(2020) en el cual se determinó el contenido de minerales en los germinados de alfalfa en comparación con las semillas sin germinar encontrándose un aumento de Ca (de 200,74 ug/g DM a 2765,31 ug/g DM), Mg (de 2117,59 ug/g DM a 2933,72 ug/g DM), Na (de 818,15 ug/g DM a 4080 ug/g DM), K (de 7304,81 ug/g DM a 16475 ug/g DM), Zn (de 57,06 ug/g DM a 68,24 ug/g DM), Cu (de 16,41 ug/g DM a 20,12 ug/g DM) y Mn (de 11,69 ug/g DM a 17,99 ug/g DM) al día 5 de germinación, mientras que los niveles de Fe, Se y Ni no variaron significativamente con la germinación. En un estudio similar realizado por Almuhayawi et al.,(2021), se encontraron estos minerales en mayor concentración (Na:2,56 mg/g DM), K:16,6 mg/g DM y Ca:3,3 mg/g DM).

Los germinados de alfalfa también aportan vitaminas a la dieta, principalmente vitamina C, vitamina E, vitamina B1 y vitamina B2 (Almuhayawi et al., 2021) pero en pequeñas cantidades.

Los germinados de alfalfa se han relacionado con tener potencial antiinflamatorio debido a su contenido de acetato de etilo que se puede extraer y usar como antiinflamatorio ya que regula la producción de factor de necrosis tumoral α (TNF- α), IL-6 e IL-1 β (Hong et al., 2009). También se considera que tienen poder antioxidante debido al contenido de taninos, fenoles y flavonoides (Perez et al., 2018).

Los germinados de alfalfa aportan buena cantidad de proteínas, calcio, potasio y sodio a la dieta diaria, su sabor es atractivo para los consumidores y tiene propiedades antiinflamatorias y antioxidantes.

3.2.1.4 Garbanzo

El garbanzo (*Cicer arietinum L.*) es una de las leguminosas más consumidas en el mundo, son una fuente económica de proteína vegetal de alta calidad, además son ricos en carbohidratos, minerales y oligoelementos (Zhao et al., 2009). Como se ha mencionado anteriormente se considera que consumir este tipo de leguminosas germinadas aumenta su valor nutricional, digestibilidad y se disminuyen compuestos anti nutricionales (Escobedo, 2018; Khattak et al., 2008; Zhao et al., 2009).

En un estudio realizado por (Masood et al., 2014) encontró que la germinación aumenta el contenido de vitamina C en los germinados de garbanzo encontrándose hasta 20 mg/100 g DM, también se encontró un aumento en proteína, fibra y humedad de 17,80% a 23,37%, 6,48% a 7,83% y 9,75% a 56,70% respectivamente a las 120 horas de germinación.

Los germinados de garbanzo son ricos en compuestos bioactivos, contienen principalmente isoflavonas (Zhao et al.,(2009) identificó 7 tipos de isoflavonas en los germinados de garbanzo: Biocanina A, calicosina, formononetina, genisteína, trifolirizina, ononina y sissotrin) las cuales tienen una gran variedad de beneficios para la salud ya que se consideran antioxidantes, estrogénicas, anticonceptivas, además tienen propiedades antifúngicas y microbidas (Shang et al., 2019; Zhao et al., 2009). La germinación aumenta el contenido de isoflavonas en los garbanzos más de 100 veces con relación a la semilla sin germinar(Shang et al., 2019).

Esto germinados son ricos en selenio (2,29 μg /g de dieta) y se ha investigado su aplicación en el tratamiento de cánceres como el colorrectal, ya que gracias a su contenido de selenio e isoflavonoides ejercen efectos quimiopreventivos por su acción antioxidante al regular la actividad del glutatión peroxidasa promoviendo la apoptosis de células cancerígenas (Guardado-Félix et al., 2019). Además, por su alto contenido de biocanina A tienen propiedades hipolipídica y antiinflamatoria (Escobedo, 2018).

3.2.1.5 Soja

La soja(*Glycine max L.*) también conocida como soya es otra de las leguminosas más consumidas en el mundo principalmente en el continente asiático; esta aporta gran cantidad de proteína vegetal de alta calidad y se utiliza principalmente como materia prima en forma de harinas (Oyededeji et al., 2018). Su consumo se ve reducido debido al contenido de factores anti nutricionales y reacciones alérgicas que puede ocasionar en el ser humano(Oyededeji et al., 2018);Es por ello que su consumo en forma de germinado proporciona mejor digestibilidad de proteínas, aprovechamiento de nutrientes así como la disminución de compuestos anti nutricionales (D. C. Chaparro et al., 2010; Morón et al., 2020; Oyededeji et al., 2018).

Los germinados de soja son ricos en proteínas, minerales y oligoelementos; en un estudio realizado por Chaparro et al.,(2010) se encontró que el contenido de proteína en los germinados de soja aumentan con los días de germinación pasando de $37,71 \pm 0,17$ g/100 g en el día cero de germinación a $38,73 \pm 0,97$ g/100 g en el día 3 de germinación (aumento de 2,26%), además encontraron que la germinación aumenta la digestibilidad de las proteínas (de 80,23% a 85,99%); estos germinados también son ricos en hierro y calcio como lo demuestra Chaparro et al.,(2011) quien determinó el contenido de estos minerales en los germinados de soja encontrando que contienen $6,96 \pm 1,43$ mg/100 g de hierro y $211,98 \pm 20,93$ mg/100 g de calcio, sin embargo en su estudio encontraron que la semilla sin germinar contenía más de estos minerales (Fe: $8,20 \pm 0,11$ mg/100 g; Ca: $241,37 \pm 17,94$ mg/100 g) que las semillas germinadas.

Así como otros germinados de leguminosas, los de soja contienen isoflavonoides por tanto tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas; (Quinhone & Ida, 2015) encontró que las semillas de soja germinadas contienen 26% de β -glucósidos, 72,9 % de malonil glucósidos y 1,2 % de agliconas lo que contribuye a su poder antioxidante.

Tabla 6. Valor nutricional de los principales germinados de leguminosas y cereales según la FDC de EEUU. Cantidad en 100 g. tomado de <https://fdc.nal.usda.gov/>

Nutriente	Germinado de Frijol	Germinado de Lenteja ¹	Germinados de Alfalfa	Germinado de Soja ²	Germinado de Trigo ³	Germinado de Maíz	Germinado de Avena	Germinado de Cebada
Agua (g)	90.4	67,34	90,82	69,05	47,75	-	-	-
Energía (kcal)	30	106	23	122	198	250	423	265
Proteína (g)	3.04	8,96	3,99	13,09	7,49	4,17	15,38	14,71
Lípidos totales (g)	0.18	0,55	0,69	6,7	1,21	3,12	5,77	0
Carbohidratos (g)	5.94	22,14	2,1	9,57	42,53	54,17	73,08	47,06
Fibra (g)	1.8	-	1,9	1,1	1,1	4,2	11,5	5,9
Azúcares (g)	4.13	-	0,2	-	-	0	7,7	5.88
Ca (mg)	13	25	32	67	28	142	50	0
Fe (mg)	0.91	3,21	0,96	2,1	2,14	2,08	3,85	2,12
Mg (mg)	21	37	27	72	82	69	169	-
P (mg)	54	173	70	164	200	190	477	235
K (mg)	149	322	79	484	169	221	442	221
Na (mg)	6	11	6	14	16	115	269	471
Zn (mg)	0.41	1,51	0,92	1,17	1,65	-	3,85	-
Cu (mg)	0.164	0,352	0,157	0,427	0,261	-	-	-
Se (µg)	0.6	0,6	0,6	0,6	42,5	10	0	-
Vitamina C (mg)	13.2	16,5	8,2	15,3	2,6	-	-	0

Tiamina (mg)	0.084	0,228	0,076	0,34	0,225	0	1	-
Riboflavina (mg)	0.124	0,128	0,126	0,118	0,155	-	0	-
Niacina (mg)	0.749	1,128	0,481	1,148	3,087	2,083	3,846	-
Vitamina B-6 (mg)	0.088	0,19	0,034	0,176	0,265	0,208	0	-
Folatos (µg)	61	100	36	172	38	-	-	-
Vitamina A (µg)	1	2	8	1	0	-	-	0
Beta carotenos (µg)	6	-	87	-	-	-	-	-
Alfa carotenos (µg)	6	-	6	-	-	-	-	-
Vitamina E (mg)	0.1	-	0,02	-	-	-	-	-
Vitamina K (µg)	33		30,5	-	-	-	-	-
Ácidos grasos saturados (g)	0.046	0,057	0,069	0,929	0,206	0	0	0

^{1,2,3}Los germinados de lenteja y soja contienen además aminoácidos:

¹Lenteja: treonina: 0,328 g, isoleucina:0,326 g, leucina:0,628 g,lisina:0,712 g, metionina:0,105 g,cisteina:0,334 g, fenilalanina: 0,442 g, tirosina:0,252 g, valina:0,399 g, arginina:0,611 g, histidina:0,257 g, alanina:0,356 ácido aspártico:1,433 g, acido glutámico:1,258 g, glicina:0,319 g,prolina:0,356 g, serina:0,495 g.

²Soja: treonina: 0,503 g, isoleucina:0,58 g, leucina:0,58 g,lisina:0,752 g, metionina:0,138 g, cisteina:0,157 g, fenilalanina: 0,641 g, tirosina:0,477 g, valina:0,62 g, arginina:0,905 g,

histidina:0,348 g, alanina:0,549 g, ácido aspártico:1,774 g, ácido glutámico:1,966 g, glicina:0,503 g, prolina:0,674 g, serina:0,651 g, triptófano: 0,159 g.

³Trigo: Triptofano:0,115 g, treonina:0,254 g, isoleucina:0,287 g, leucina:0,507 g, lisina:0,245 g, metionina:0,116 g, cisteína:0,134 g, fenilalanina: 0,35 g, tirosina:0,275 g, valina:0,361 g, arginina:0,425 g, histidina:0,196 g, alanina:0,295, ácido aspártico:0,453 g, ácido glutámico:1,871 g, glicina:0,306 g, prolina:0,674 g, serina:0,341 g.

3.2.1.6 Habas

Las habas (*Vicia faba*) al igual que las demás leguminosas son ricas en proteínas, carbohidratos, fibra, minerales y oligoelementos, sin embargo también contienen compuestos anti nutricionales como los taninos y glucósidos pirimidínicos, vicina y convicina que disminuyen su apetecibilidad y valor nutricional (Burbano et al., 2010); es por ello que su consumo en forma de germinado es más recomendado ya que durante las germinación estos compuestos se reducen, como lo demuestra Goyoaga Jorba, (2005) quien determinó que la germinación disminuye los glucósidos pirimidínicos vicina (4,74 mg/g DM a 3,39 mg/g DM) y convicina (2,82 mg/g DM a 1,39 mg/g DM) y aumenta los niveles de L-dopa (de 1,95 a 77,44 mg/g DM) la cual es un compuesto fenólico con poder antioxidante. Otro compuesto como la rafinosa causante de flatulencias se disminuye en un 90-94% dependiendo de la variedad con la germinación, también se reducen los niveles inositol fosfato de 14-18% aumentando la biodisponibilidad de nutrientes.

Debido a la gran cantidad de L-dopa que contienen los germinados de habas, estos se han empleado en el tratamiento del Parkinson ya que brindan los mismos beneficios que la L-dopa comercial pero sin sus efectos secundarios (Burbano et al., 2010).

3.2.2 Cereales

Los cereales son quizás el alimento más antiguo consumido por el hombre, su consumo es global ya que son económicos y fáciles de cultivar además de ser nutricionalmente eficientes; en este grupo se encuentran clasificadas las semillas gramíneas que incluyen trigo, arroz, maíz, avena, cebada entre otros, dentro de este grupo se incluirá para efectos de este documento la quinua y el amaranto que son considerados por diversos autores como pseudocereales ya poseen características similares; estos alimentos son ricos en carbohidratos. En las semillas de cereales la disposición de nutrientes se encuentra distribuida es decir la cascara o envoltura es rica en fibra, contiene en menor cantidad vitaminas del grupo B y vitamina E, el germen o embrión contiene la mayoría de la proteína, hierro, niacina, tiamina, riboflavina y grasas y el endospermo contiene en su mayoría almidón y proteína (INCAP & OPS, 2013; SAN, 2011). El aporte nutricional a la dieta diaria del consumo de germinados comprende carbohidratos en un 58-72%, proteínas en un 8-13%, grasas 2-5%, fibra no digerible 2-11% y vitaminas y minerales trazas (INCAP & OPS, 2013).

Los cereales en su mayoría se consumen procesados ya sea en forma de harinas o como componentes de alimentos como el pan, las galletas etc... Es por eso que son sometidos a diversos procesos industriales que afectan su composición nutricional. El consumo de estos cereales fundamentales para suplir las necesidades nutricionales diarias en forma de germinados proporciona un alimento natural, con mayor concentración de nutrientes, fácil de cultivar, económico y que se puede obtener en

cualquier época del año (Apráez et al., 2017). La tabla 6 muestra el contenido nutricional de los principales germinados de leguminosas y cereales según la FDC de los Estados Unidos.

3.2.2.1 Trigo

El trigo (*Triticum spp*) es uno de los cereales más consumidos en el mundo, este se consume principalmente procesado en forma de harina como componente de alimentos como el pan, tortas, galletas, pasta etc.; el trigo contiene un 60-75% de almidón y 10-15% de proteínas, también contiene vitaminas y minerales en menor proporción (Dos Santos, 2018; Ponce De León et al., 2013).

El consumo de germinados de trigo aporta a la dieta proteínas, hidratos de carbono, fibra y minerales; un estudio realizado por (Ponce De León et al., 2013) se encontró que los germinados de trigo contienen 9,7 g de proteína, 1,5 g de lípidos, 30,3 g de carbohidratos, 9,6 g de fibra y 0.4 g de minerales en 100 g de producto fresco. En este estudio también se encontró un contenido importante de vitamina C en los germinados de trigo de 110 mg/100 g, este es un dato importante ya que las semillas de trigo no contienen vitamina C lo que indica que la producen durante la germinación. Resultados similares obtuvo Apráez et al., (2017) quien encontró 9,80 g de proteína en los germinados de trigo.

La germinación hace que se produzca una activación enzimática que ayuda a mejorar la digestibilidad del trigo así como a aumentar el contenido de compuestos bioactivos como los folatos, ácido γ -aminobutírico y compuestos fenólicos (Chen et al., 2017; Świeca et al., 2017), esto lo demostró Chen et al., (2017) quien estudio como afecta la germinación a tres variedades de trigo (Jimai 22, Sumai 188 y Luyuan 502) respecto al contenido de compuestos fenólicos y encontró un aumento significativo de estos compuestos en las tres variedades de trigo estudiadas a los 4 días de germinación, informando un aumento de compuestos fenólicos principalmente para la variedad Jimai 22 (ácido p- hidrogenoico de 5,34 a 27,23 $\mu\text{g/g DM}$; ácido p-cumarínico de 18,16 a 208,15 $\mu\text{g/g DM}$; ácido ferúlico de 517,55 a 1470,03 $\mu\text{g/g DM}$); estos compuestos le confieren capacidad antioxidante a los germinados de trigo, por tanto su consumo ayuda a disminuir el riesgo de enfermedades crónicas y estrés oxidativo.

Adicionalmente se han estudiado sustancias como el ácido benzoico, el peróxido de hidrogeno, extractos de corteza de levadura etc.. para mejorar la calidad nutracéutica de los germinados de trigo aumentando así su contenido de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante; Pérez et al., (2017) investigó el efecto de agregar diferentes concentraciones de ácido benzoico a los germinados durante su producción para evaluar su efecto sobre el contenido de compuesto fenólicos encontrando que al adicionar este compuesto en concentración de 10^2 el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y la capacidad antioxidante de los germinados de trigo aumento en un 188%, 252% y 125% respectivamente.

3.2.2.2 Maíz

El maíz (*Zea mays*) junto con el trigo y el arroz son los cereales más consumidos y producidos en el mundo, este alimento se puede consumir procesado en forma de harinas o las semillas cocidas en diversas preparaciones; el maíz al igual que los demás cereales es rico en almidones, aporta a la dieta diaria 65% calorías, 53% de proteínas, 69% de calcio, 51% de hierro, 62% de tiamina, 36% de riboflavina y 54% de niacina, también aporta betacarotenos y vitamina A.

La proteína del maíz es de bajo valor nutricional ya que carece de lisina y triptófano, dos aminoácidos esenciales (Arias, 2014; Garcia et al., 2017).

El maíz germinado aumenta su contenido de lisina y triptófano hasta en un 19%, lo que hace que consumir este cereal en forma de germinado proporcione una proteína de mayor valor nutricional (Garcia et al., 2017). En un estudio realizado por Tarazona, (2018) en el cual se determinó el valor nutricional de los germinados de maíz se encontró que este contiene proteína cruda en un 16,04% a los 15 días de germinación, además contiene calcio (0,048%), magnesio (0,19%), potasio (0,259%), sodio (0,031%), cobre (3,012 ppm) y zinc (50,5 ppm) aunque en bajas concentraciones. Se dice que los germinados de maíz son ricos en magnesio (Martin, 2005) sin embargo no hay estudios científicos que avalen dicha afirmación. Estos germinados se utilizan principalmente como forrajes para la producción de proteína animal debido a su cantidad de almidones y aporte calórico (Garrido, 2018; J. de J. Pérez, 2018; Vázquez-Vázquez et al., 2020).

Al igual que los demás germinados, los de maíz tienen compuestos fenólicos que le proporcionan propiedades antioxidantes y se están estudiando sustancias que pueden mejorar la cantidad de estos compuestos para mejorar la calidad nutracéutica de estos germinados (Vázquez-Vázquez et al., 2020).

3.2.2.3 Avena

La avena (*Avena sativa L.*) es el séptimo cereal más cultivado a nivel mundial, su consumo es frecuente en todo el mundo, también es utilizada como forraje para alimentación animal (3). La avena es rica en hidratos de carbono (60%), fibra (10-20 %), proteína (11-15%), lípidos (5-9%), vitaminas (E y B principalmente) y minerales, así como fitoquímicos. (3) la avena difiere de otros cereales por su contenido de β - glucanos, polisacáridos que ayudan a reducir la presión arterial, así como los niveles de glucosa en sangre; consumir avena a diario aporta 3 g de β - glucanos, lo que ayuda a prevenir enfermedades coronarias, diabetes e hiperlipemias (Aparicio-García et al., 2020; Ding et al., 2019; Martínez, 2016).

los germinados de avena cambian su conformación nutricional con respecto al alimento sin germinar haciéndolos más atractivos nutricionalmente, ya que durante la germinación hay mayor disponibilidad de proteínas solubles, disminución de almidones, también hay reducción de compuestos anti nutricionales como el ácido fítico, además hay un aumento en el contenido de fibra (Donkor et al., 2012; Krapf et al., 2019); en un estudio realizado por Tian et al., (2010) se encontró que la avena germinada tiene mayor contenido de azúcares reductores y solubles, además hubo un aumento en el contenido de proteína con predominio del aminoácido lisina que aumento en un 30%, también se encontró una disminución de almidones de 60% a 20% y de ácido fítico de 0,35% a 0,11%. Aparicio-García et al., (2020) realizó un estudio con avena germinada y sin germinar en el cual encontró que la avena germinada es fuente importante de proteína (10,17%), β - glucanos (2.1%), tiamina (687,1 $\mu\text{g}/100\text{g}$), riboflavina (218,4 $\mu\text{g}/100\text{g}$) y minerales (P, K, Ca y Mg); así mismo encontraron un aumento en las concentraciones de aminoácidos esenciales y ácidos grasos como el γ -aminobutírico (54.9 mg/100g), compuestos fenólicos (de 202,92 a 507,39 mg GAE/100g) y capacidad antioxidante (de 585,26 a 1744,27 mg TE/100g). Resultados similares obtuvo (Martínez, 2016) quien encontró un aumento de compuestos fenólicos en la avena germinada de 1641,85 mg GAE/100 g p.s. con respecto a la avena sin germinar (680,62 85 mg GAE/100 g p.s.).

3.2.2.4 Cebada

La cebada (*Hordeum vulgare*) es el cuarto cereal de mayor importancia en el mundo después del maíz, trigo y arroz. Su consumo ha ido siendo relevado con el tiempo por otros cereales, sin embargo en muchas partes del mundo aún se consume con frecuencia en forma de harina, también se utiliza para la producción de bebidas fermentadas como la cerveza y como pienso para animales (Cistue, 2012; INCAP & OPS, 2013).

La cebada aporta a la dieta 2-3% de grasas, 65-68% de carbohidratos (almidón), 10-17% de proteína, además de minerales, vitaminas principalmente vitamina E, antioxidantes y fibra (Cistue, 2012); también contiene β - glucanos que constituyen el 75% de su pared celular. Al igual que la avena se considera a la cebada como un alimento cuyo consumo ayuda a prevenir enfermedades coronarias, diabetes e hipertensión (Apráez et al., 2017; Cistue, 2012).

Los germinados de cebada tienen un sabor dulce debido al contenido de almidones, son duros por ellos se consumen en su mayoría cocinados como componentes de sopas; Al igual que los demás cereales la germinación aumenta las características nutricionales de la cebada como lo demostró Donkor et al., (2012) en un estudio en el cual evaluó diferentes semillas de germinados y el efecto de la germinación sobre sus componentes nutricionales, así pues Donkor et al., (2012) encontró que la cebada germinada contiene mayor cantidad de proteína (19,57 g/100g DM), lípidos (3,01 g/100g DM) y almidón (45,22 g/100g DM) con respecto a la semilla sin germinar (15,69 g/100g DM, 2,37 g/100g DM, 28,23 g/100g DM respectivamente), en este mismo estudio se encontró que la cebada germinada contiene mayor cantidad de compuestos fenólicos que la semillas sin germinar, lo que favorece la capacidad antioxidante de este alimento.

3.2.2.5 Quinoa

La quinoa (*Chenopodium quinoa*) no es como tal un cereal, pertenece a la familia de las *Amaranthaceae* dentro de la cual se encuentran las acelgas, remolacha y espinacas, sin embargo diversos autores (FAO, 2011; Hernández Rodríguez, 2015; Montoya & Martínez, 2005) la consideran un pseudocereal por sus características y consumo, por tanto para fines de este documento se incluyó dentro del grupo de los cereales.

La quinoa es el único cereal que contiene todos los aminoácidos esenciales, es por ello que su proteína es de muy alto valor nutricional y se considera el alimento de origen vegetal con mayor aporte de proteína que se puede igualar a la proteína que brinda por ejemplo la leche y el huevo.

El aporte nutricional del consumo de quinoa comprende 13% de proteínas, 6,1% lípidos, 5,2% de hierro y 71% hidratos de carbono, además contiene minerales en mayor proporción que otros cereales y vitaminas (FAO, 2011).

Los granos germinados de quinoa tienen mayores propiedades nutricionales con relación a los granos sin germinar, ya que el proceso de germinación aumenta el contenido de vitaminas, minerales, oligoelementos, enzimas y proteínas como lo demuestra Bravo et al., (2013) quien estudio el efecto de la germinación sobre las características nutricionales de los granos de quinoa, encontrando un aumento de proteína de 12,94% a 13,09% , hierro de 4,2 mg% a 4,56 mg%, calcio de 85 mg% a 405,44 mg%, niacina de 0,95 mg% a 4,24 mg% y ácido ascórbico de 0,74 mg% a 6,20 mg%. Resultados similares obtuvo Elguera, (2017) quien encontró un aumento de proteína en los germinados de quinoa con respecto al grano sin germinar de 15,18% a 18,37% que fue un aumento

más significativo en el contenido de proteína. Además Luque et al., (2019) encontró que los germinados de quinua contienen más aminoácidos esenciales que el grano sin germinar, predominando el contenido de lisina que varío de 118,4 mg/100 g a 163,6 mg/100 g y metionina que varío de 9,2 mg/100 g a 12,9 mg/100 g.

Los germinados de quinua también aportan compuestos fenólicos de los cuales los flavonoides se ven aumentados en los germinados con respecto a la semilla sin germinar (Enrique et al., 2017).

3.2.3 Semillas

Dentro de este grupo se incluyen las semillas de fenogreco, rábano, remolacha, cebolla, puerro, girasol, calabaza, mostaza, sésamo y berro que son las que se germinan con mayor frecuencia; sin embargo, no se cuenta con mucha información al respecto de estas semillas por lo cual esta revisión se enfocara en el fenogreco, sésamo y girasol.

3.2.3.1 Fenogreco

Los germinados de fenogreco(*foenum graecum*) tienen un sabor amargo y poco se comercializan en los mercados internacionales y nacionales, son potenciadores de la digestión y el apetito por tanto se recomienda su consumo como acompañantes de ensaladas que disimulen su sabor (Vallory, 2020). El fenogreco contiene 23 g de proteína, 6,4 g de lípidos, 10,1 g de fibra, 58,4 g de carbohidratos totales, además contiene minerales y vitaminas en 100 g de semillas (Melendrez, 2011), la información al respecto de esta semilla es escasa, sin embargo algunos autores refieren que los germinados de fenogreco contienen una buena cantidad de proteínas de fácil asimilación así como hierro fosforo y vitamina A (Botero, 2015; Martin, 2005). Un estudio realizado por Pajak et al., (2019) se encontró que los germinados de fenogreco tienen mayor contenido de calcio (267 mg/100 g DM), hierro (3,22 mg/100 g DM) y magnesio (167 mg/100 g DM) con respecto a la semillas sin germinar, además el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante es mucho mayor con respecto a las semillas sin germinar por tanto el consumo de germinados de fenogreco aumenta la ingesta de estos nutrientes. El consumo de germinados de fenogreco se ha relacionado también con reducción en los niveles de colesterol total y colesterol LDL por tanto tienen un efecto hipocolesterolémico(Sowmya & Rajyalakshmi, 1999).

3.2.3.2 Sésamo

El sésamo (*Sesamun indicum L.*), también llamado ajonjolí es una semilla oleaginosa que se consume de forma directa o como ingrediente de alimentos de panadería, repostería, confitería y pastelería. También es conocido como ajonjolí y se caracteriza por no contener gluten es por ello una opción de alimentación para las personas celiacas. El consumo de 100 g de sésamo aporta a la dieta 17,73 g de proteína, 49,67 g de lípidos, 23,45 g de carbohidratos, 11,88 g de fibra, además de minerales con predominio del calcio (975 mg), fósforo (629 mg) y potasio (468 mg), también contiene niacina, vitamina E y folatos, y es rico en fitoesteroles, sin embargo contiene compuestos anti nutricionales como el ácido oxálico que quela minerales impidiendo su absorción (Chiriboga, 2013; Tejada Rico, 2018).

Los germinados de sésamo tiene mayor cantidad de aminoácidos libres y ácido γ -aminobutírico con respecto a la semillas sin germinar, además de compuestos fenólicos y mayor capacidad antioxidante

((Liu et al., 2011). En un estudio realizado por Ha et al., (2017) se encontró que los germinados de sésamo aumentan hasta 4 veces su contenido de compuestos fenólicos con respecto a las semillas sin germinar (de 503,1 a 2085,0 $\mu\text{g GAE/g}$), además de un aumento en el contenido de aminoácidos principalmente asparagina, arginina, triptófano, leucina y alanina.

Al consumo de germinados de sésamo se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas y antioxidantes debido a su contenido de compuestos fenólicos (Ha et al., 2017). Además se consideran hipocolesterolémico, hepatoprotectores y se asocian con la prevención de la hipertensión (Liu et al., 2011).

3.2.3.3 Girasol

El girasol (*Helianthus annuus L.*) se cultiva comercialmente en todo el mundo y se comercializa ya sea la flor o sus semillas a las que se le atribuyen propiedades nutricionales y medicinales. Hay diferentes variedades de girasol por ejemplo aquellas cuyas semillas son negras se usan principalmente para extraer aceite comestible de gran calidad; otra variedad cuyas semillas son rayadas se utilizan como alimentos y a estas semillas se les conoce como semillas de confección o comestibles, estas se consumen tostadas y son muy apetecidas por su crocancia y sabor (USA Sunflower Association, 2020).

Las semillas de girasol son ricas en lípidos (34-55%), contienen principalmente ácidos grasos saturados e insaturados (palmítico, esteárico, oleico y linoleico), proteínas (10-27%), hidratos de carbono (18-26%), fibra (22-24%), así como fenoles (1-4,5%) y minerales (2-4%), además son ricas en vitamina E (37,8 mg/100g) (Salgado, 2009; USA Sunflower Association, 2020).

Los germinados de girasol tienen un sabor dulce y son crocantes, se les atribuyen beneficios antioxidantes, antimicrobianos, antiinflamatorios, antihipertensivos, cicatrizantes y cardiovasculares debido a su contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, ácidos grasos poliinsaturados y vitaminas principalmente vitamina E (Guo et al., 2017). Pajak et al., (2014) realizó un estudio en el cual investigó el efecto de la germinación sobre el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de diversas semillas, encontrando que los germinados de girasol aumentan su contenido de ácidos fenólicos principalmente ácido gálico y cafeico, así como su capacidad antioxidante y contenido de flavonoides.

CAPITULO IV

MICROBIOLOGÍA DE LOS GERMINADOS

Los germinados son alimentos muy susceptibles a contaminación microbiana, debido principalmente a dos causas; la gran exposición que tienen las semillas durante su cosecha y tratamiento (condiciones de humedad y temperatura) y el consumo de los mismos sin ningún tipo de proceso antimicrobiano efectivo previo. Esto conlleva a incrementar el riesgo de enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) y a disminuir la prevalencia en su consumo. La presencia de bacterias en estos alimentos constituye un riesgo directo para el consumidor; Sin embargo el grado de riesgo depende de la capacidad del microorganismo para desarrollarse y sobrevivir.

Una gran parte de las semillas son producidas para forraje o pastoreo de animales, y de estas mismas algunas son destinadas a los productores de semillas germinadas. Durante el manejo dado a las semillas destinadas para forraje no se emplean procedimientos adecuados de buenas prácticas agrícolas ni buenas prácticas de manufactura que garanticen un producto final libre de contaminación bacteriana. En el manejo dado a estas semillas se emplean fertilizantes naturales que contienen; estiércol, humus de lombriz entre otros compuestos orgánicos que aumentan el riesgo de contaminación; Sumado a esto el empleo de agua no potable para riego de las semillas aumenta la probabilidad de contaminación de las mismas, obteniendo germinados con presencia de microorganismos.

Es indispensable prohibir la presencia de animales silvestres y/o domésticos en las zonas donde se produzcan o almacenen las semillas para germinación y consumo humano y a su vez impedir el uso de fertilizantes naturales como el estiércol y biosólidos que faciliten el proceso de proliferación bacteriana.

La implementación de medidas de control durante la producción, obtención, almacenamiento y disposición de las semillas contribuye a la obtención final de productos inocuos. El monitoreo de todo el sistema productivo basado en la implementación de buenas prácticas de manufactura (BPM), procedimientos operativos estandarizados de higiene (POEH) y el análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC), ayudan a detectar las etapas con mayor riesgo de contaminación, para poder implementar sistemas de producción seguros que garanticen la inocuidad de los alimentos.

Se recomienda el uso de productos agroquímicos como plaguicidas y agentes desecantes durante la fase de producción y tratamiento de la semilla destinada a la producción de semillas germinadas para consumo humano. En la producción de germinados la fase de descontaminación microbiana que se le aplica a la semilla ayuda a reducir posibles agentes contaminantes y el empleo de BPH impide la introducción de nuevos patógenos microbianos. (Comisión del Codex Alimentarius & OMS, 2015).

Es muy amplia la variedad de microorganismos asociados a contaminación de los germinados, esta contaminación puede darse desde la semilla en su manejo y tratamiento, por el empleo de agua residual para riego de la planta o la semilla, durante el transporte y manipulación por parte del hombre; estas medidas de riesgo de contaminación condicionan la flora microbiana presente en la semilla y por ende en el germinado (Moragas & Bustos, 2017), Reglamento (CE) N° 1441 de 2007 relativo a los criterios

microbiológicos (ver tabla 4) aplicables a los productos alimenticios (semillas germinadas “brotes” listas para el consumo) se encuentra:

- *Salmonella spp* ausencia en 25 g
- *Listeria monocytogenes* ausencia en 25 g
- *Escherichia coli* (STEC) ausencia en 25 g

4.1 Contenido microbiano de los germinados

Por su alto contenido en nutrientes los germinados constituyen un alimento muy apetecido por los microorganismos, además las condiciones de humedad, luz y temperatura necesarias para el proceso de germinación favorecen el desarrollo de microorganismos.

Dentro de los microorganismos asociados a contaminación de los germinados se encuentran principalmente bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales, *Escherichia coli* (de ahora en adelante *E. coli*), *Salmonella spp* y *Listeria spp*. (Torres, K., Chaves, K., 2016). Estos microorganismos se pueden agrupar en aquellos microorganismos indicadores de condiciones de manejo o eficiencia del proceso como: aerobios mesófilos, coliformes totales, mohos y levaduras, y aquellos indicadores de contaminación fecal como *E. coli*, Enterococos, *Clostridium perfringens*.

4.1.1 Bacterias aerobias mesófilas

Constituyen un grupo de bacterias capaces de crecer en un rango de temperatura de 30 a 37°C, en presencia de oxígeno. Se estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos, refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima (Campuzano et al., 2015).

Los extremos de temperatura a la cual se realiza el recuento de colonias es a los 20 y 30°C. Dentro de la morfología bacteriana en este grupo se pueden encontrar en los alimentos cocos y bacilos, Gram negativos y Gram positivos. Según su fisiología y patogenicidad se encuentran microorganismos cromógenos, proteolíticos, fermentativos, lipolíticos, psicotróficos, termotóxicos, patógenos y saprofitos entre otros.

Un recuento elevado de estas bacterias puede significar las siguientes alteraciones (Grupo técnico de microbiología de la RENALOA, 2013).

- Excesiva contaminación de la materia prima

Las materias primas contaminadas, en el caso de los germinados se da cuando las semillas presentan contaminación por microorganismos lo que aumenta las probabilidades de obtener germinados contaminados. Esta materia prima (la semilla), se puede contaminar durante el proceso de recolección, tratamiento y/o almacenamiento.

- Mala manipulación durante el proceso de elaboración

El empleo de buenas prácticas de higiene durante el proceso de producción de los germinados es indispensable para evitar contaminación de los mismos por mala manipulación humana. Dentro de las fuentes de contaminación se encuentran: falta de higiene en el personal, escaso lavado de manos, utensilios sin desinfectar, falta de lavado y desinfección de la materia prima.

- Posible presencia de microorganismos patógenos

Una cantidad reducida viable de bacterias no garantiza la ausencia de microorganismos patógenos, así como tampoco una gran cantidad viable de bacterias asegura la presencia de los mismos, encontrando que la predicción de la presencia de bacterias patógenas con este método es inexacto.

- Alteración organoléptica del producto

Encontrar un elevado número de bacterias en un alimento puede o no cambiar las características organolépticas del mismo. Las alteraciones en los alimentos a causa de origen bacteriano se deben principalmente a la actividad enzimática generada durante la proliferación y desarrollo de las bacterias, por lo cual se podría establecer una relación directamente proporcional entre el número de microorganismos y el grado de descomposición del alimento, como es el caso de *Clostridium botulinum* tipo A o B en donde pequeñas proliferaciones de esta bacteria generan cambios indeseables en el alimento. Si bien esta relación es cierta no se cumple en todos los casos, ya que hay bacterias que se multiplican exponencialmente en el alimento sin llegar a causar alteración de sus características organolépticas, entre las cuales se encuentran:

Clostridium perfringens, a pesar de ser una bacteria anaerobia y no estar dentro de este grupo, un elevado número de esta bacteria en el alimento causa brotes de toxiinfecciones alimentarias debido a la enterotoxina que posee, el alimento afectado no sufre ningún cambio en su olor, sabor y consistencia, llegando a ser consumido por la población sin ninguna precaución.

Staphylococcus aureus puede llegar a concentrar suficiente cantidad de enterotoxina en el alimento generando afectación clínica en los consumidores.

La descomposición y degradación de los alimentos a causa de origen bacteriano va a depender del tipo de microorganismo en actividad y del tipo de alimento.

4.1.1.1 Limitaciones del recuento de bacterias aerobias mesófilas

El recuento de bacterias aerobias mesófilas es realizado en microorganismo vivos, y su uso como indicador sanitario en los alimentos tiene limitaciones frente a los siguientes aspectos:

- Alimentos con procesos de fermentación o maduración (quesos, embutidos), es normal y necesario encontrar gran cantidad de microorganismo
- Alimentos sometidos a procesos térmicos con elevada temperatura, en donde la población de microorganismos viables es muy baja
- Alimentos conservados en refrigeración, ya que por las bajas temperaturas esta clase de bacterias no se desarrolla.

4.1.2 Principales bacterias aerobias mesófilas asociadas a ETAs

4.1.2.1 *Bacillus cereus*

Bacilo Gram positivo, móvil, esporulado, aerobio y anaerobio facultativo. Se desarrolla en un rango de temperatura de 10-48°C. Se encuentra en el suelo, agua, vegetación, tracto intestinal de invertebrados y ha sido aislado de muchos alimentos, debido a prácticas de manufactura deficientes.

Forma esporas resistentes a niveles extremos de altastemperaturas, a procesos de radiación y al ácido clorhídrico presente en el estómago. La tabla 7 muestra las principales características fenotípicas de las principales especies del género *Bacillus*.

Para la germinación de las esporas, algunas cepas de *Bacillus cereus* necesitan activación por calor a 80°C durante 10 minutos, característica muy importante en el momento de establecer el origen de algunos brotes de ETA. Una concentración mayor de 10⁴ UFC/g de este microorganismo en el alimento podría llegar a considerarlo como alimento no seguro para su consumo (Grupo técnico de microbiología de la RENALOA, 2013). Es una bacteria oportunista con un grado de virulencia relativamente bajo.

Tabla 7. Características fenotípicas de *Bacillus cereus* y otras especies de *Bacillus*. Tomado de (J. Sánchez et al., 2016)

Característica	<i>B. cereus</i>	<i>B. thuringiensis</i>	<i>B. anthracis</i>	<i>B. mycoides</i>
Actividad lecitinasa	+	+	+	+
Manitol	-	-	-	-
Hemólisis	-	+	-	+
Cristal parasporal	-	+	-	-
Reducción de nitratos	+	+	+	+
Movilidad	+	+	-	-
Catalasa	+	+	+	+
Sensibilidad a penicilina	-	-	+	-
Hidrólisis de urea	+/-	+	-	+/-
Crecimiento rizoide	-	-	-	+
Presencia de plásmido emético	+	-	-	-
Presencia de genes enterotóxicos	+	+	+	+

4.1.2.1.1 Patogenia

Es productor de enzimas como lecitinasa, hemolisina, factor letal, factor de permeabilidad vascular y de toxinas como la toxina necrótica y la toxina emética.

Otros factores de virulencia importantes producidos a nivel cromosomal son las enterotoxinas hemolítica (HBL), no hemolítica (NHE), citotoxina K (CytK), la enterotoxina FM (EntFM) y la enterotoxina T (BceT) (J. Sánchez et al., 2016).

Puede causar dos tipos de síndrome, el síndrome diarreico causado por la enterotoxina termolábil, con un periodo de incubación de 8 a 16 horas, en donde se genera una estimulación del sistema de la adenil ciclasa-adenosina monofosfato cíclico de las células epiteliales del tracto gastrointestinal, ocasionando diarrea. Y la forma emética, causada por la enterotoxina termoestable y resistente a la

proteólisis, preformada en el alimento llamada cereulida o vomitoxina, con un periodo de incubación corto de 1 a 5 horas, ocasionando náuseas y vómit (Obregón & Zambrano, 2017).

4.1.2.1.2 Significado clínico

Los dos tipos de intoxicación alimentaria causadas por esta bacteria suelen ser autolimitadas, con una duración menor a 24 h, basta con hidratación y reposo para resolver la sintomatología. Es necesario identificar la bacteria en el alimento con un recuento igual o superior a 10^5 UFC/g, para confirmar el caso de ETA (Grupo técnico de microbiología de la RENALOA, 2013b).

Los alimentos susceptibles a contaminación por cepas de *Bacillus cereus* son aquellos que se conservan a temperatura ambiente luego de la cocción, permitiendo así el desarrollo de la bacteria con la consecuente producción de toxina. Por lo tanto para disminuir el riesgo de contaminación de los alimentos por este microorganismo, estos deben ser consumidos inmediatamente después de su cocción o garantizar un adecuado proceso de refrigeración en el caso de no ser consumidos de inmediato. Los alimentos deben ser refrigerados a temperaturas de 4°C o menor, someterse a una cocción mayor a 100°C.

El control y prevención de toxiinfecciones por *Bacillus cereus* requiere de un correcto manejo en las diferentes fases de la cadena de producción del alimento, empezando por condiciones higiénicas de almacenamiento, transporte y distribución, temperaturas de cocción y almacenamiento y buenas prácticas de higiene en el personal involucrado.

4.1.2.1.3 Detección de *Bacillus cereus* y sus toxinas en el alimento

A nivel mundial la detección de *Bacillus cereus* en alimentos se lleva a cabo según la Norma Internacional ISO 7932:2004 e ISO 21871:2006. En Colombia el Instituto Nacional para la Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), implementó la Norma Técnica Colombiana (NTC:4679 de 2006), directrices para el recuento de *Bacillus cereus* en productos destinados para consumo humano o alimentos para animales, por medio de la técnica de recuento de colonias, la cual es una adopción modificada de la ISO 7932:2004. En estas normas se establece realizar el recuento en placa, empleando agares diferenciales para *Bacillus cereus* como el agar polimixina-yema de huevo-manitol (MYP), en donde se forma un precipitado blanco alrededor de la colonia de color rosa y el agar polimixina-yema de huevo-manitol-azul de bromotimo (PEMBA), y su valoración de la producción de B-hemólisis en agar sangre de carnero (Cortés-Sánchez et al., 2018).

Otra metodología reportada para el análisis de *Bacillus cereus* en alimentos es el basado en la enumeración por el método de número más probable (NMP), empleando series de tubos con caldos selectivos (caldo soya tripticasa-polimixina) (J. Sánchez et al., 2016).

A nivel molecular se encuentra la implementación de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convencional, múltiple y PCR en tiempo real para detectar cepas de *Bacillus cereus* en los alimentos detectando la presencia de genes específicos o aquellos que codifican para sus toxinas.

4.1.2 Coliformes totales

Las bacterias coliformes comprenden algunos grupos de la familia Enterobacteriaceae, son bacterias indicadoras de posible contaminación fecal, mala manipulación y tratamiento de los alimentos.

Se distribuyen ampliamente en la naturaleza, encontrándose en plantas, suelo y animales incluyendo el ser humano.

Dentro del grupo de los coliformes se encuentran los coliformes totales y los coliformes fecales o termotolerantes.

El grupo de los coliformes totales está comprendido por 4 géneros de bacterias; *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Escherichia*, y se definen como bacilos Gram negativos, aerobios o anaerobios facultativos, fermentadores de lactosa con producción de gas a las 48 h de incubación a 35°C, no productores de esporas. Y el grupo de los coliformes fecales, el cual se deriva del grupo de coliformes totales es definido de la misma manera con la diferencia de fermentación de lactosa con producción de gas a las 48 h de incubación a 44.5°C. Su principal pero no único representante es *Escherichia coli*, ya que se ha reportado *Klebsiella* capaz de fermentar la lactosa a estas temperaturas. La implementación de nuevos métodos microbiológicos que detectan más rápido a *Escherichia coli*, es lo que ha permitido establecer este microorganismo con indicador principal de contaminación fecal (FDA, 2020).

4.1.2.1 Citrobacter

Este género de bacterias se compone de bacilos Gram negativos, móviles, aerobios o anaerobios facultativos, incluyen 11 especies de bacterias, las aisladas con mayor frecuencia son *C. freundii*, *C. koseri* y *C. amalonaticus*. Reciben esta denominación por su capacidad para utilizar citrato como única fuente de carbono, tienen la capacidad de convertir el triptófano en indol, fermentar la lactosa y utilizar el malonato.

Se encuentran distribuidas ampliamente en la naturaleza, encontrándose en agua, tierra, alimentos y habitando el tracto gastrointestinal de los humanos. Es parte de la flora normal en una pequeña proporción de individuos sanos, pero el número de unidades formadoras de colonias aumenta a medida que el individuo entra en estado de inmunosupresión, lo cual ocasiona las infecciones.

La mayoría de los casos de infección se asocian a las especies *C. freundii*, *C. koseri*, *C. amalonaticus*.

4.1.2.1.1 Patogenia

Dentro de los factores de virulencia se encuentran algunos antígenos representativos como el lípido A, lipopolisacárido con actividad endotoxina, antígenos somáticos O y antígeno flagelar H. (M. Sánchez et al., 2018).

4.1.2.1.2 Significado clínico

Las especies del género *Citrobacter* son responsables de varias infecciones en el ser humano que pueden comprometer las vías urinaria, el tracto respiratorio, intraabdominales, óseas, de la vía biliar y gastrointestinales.

4.1.2.1.3 Identificación de especies del género Citrobacter

Para el aislamiento e identificación del género *Citrobacter* a nivel clínico se utilizan diferentes tipos de muestras biológicas como orina, sangre, bilis, secreciones de abscesos y heridas. Y se emplean medios de cultivo selectivos como agar MC, CLDE o agar EMB, los cuales se incuban a 37°C durante 18 a 24 h, seguido de una siembra en estria en agar TSA, agar TSI y agar LIA bajo las mismas

condiciones de temperatura y tiempo, con el fin de identificar las características bioquímicas del género (ver Tabla 8)(Lopardo et al., 2011).

Los métodos de detección e identificación de estos microorganismos a partir de muestras de alimentos o agua, están basados en la eficiencia de los medios de cultivo selectivos empleados con las muestras biológicas.

Tabla 8. Características bioquímicas de *Citrobacter spp.* Tomado de (Lopardo et al, 2011).

Pruebas bioquímicas	<i>Citrobacter spp</i>
Movilidad	+
Urea (hidrolisis)	débil
Lactosa(fermentación)	débil
Manitol (fermentación)	+
Lisina descarboxilasa	-
Ornitina descarboxilasa	débil
Arginina dihidrolasa	débil
ONPG	+
Citrato de Simmons	+
Rojo de metilo	+
Voges-Proskauer	-

4.1.2.2 *Enterobacter*

Este género de bacterias se compone de bacilos Gram negativos, móviles, aerobios o anaerobios facultativos, compuesto por 22 especies hasta la fecha, dentro de las cuales *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae* son las que presentan mayor aislamiento. Las especies de este género se encuentran como comensales en el medio ambiente, en el tracto gastrointestinal de animales y humanos y en fórmulas alimentarias.

En brotes nosocomiales se han encontrado presentes en soluciones de nutrición parenteral, soluciones salinas, equipo de diálisis y en agua de hidroterapia. A pesar de esto muchas de las infecciones en el ser humano provienen de la flora endógena.(Lopardo et al., 2011)

Enterobacter cloacae se ha aislado de alimentos compuestos principalmente por plantas, verduras crudas y raíces, y también se ha encontrado presente en agua potable. Las especies de este género son documentadas como patógenos oportunistas en animales y seres humanos y fitopatógenos para varias especies de plantas. Poseen una gran resistencia a los agentes antimicrobianos, debido a su capacidad de gestionar diferentes mecanismos de resistencia por la presencia de diversos genes reguladores locales y globales y por la modulación en la expresión de diferentes proteínas, incluyendo enzimas B-lactamasas o transportadores de membrana como las porinas (Davin-Regli et al., 2019).

4.1.2.2.1 Patogenia

Las especies de este género bacteriano no son consideradas agentes primarios causales de infecciones humanas, sin embargo los estudios han demostrado que algunas especies son agentes etiológicos relevantes en infecciones nosocomiales.

Dentro de los factores de virulencia se encuentran la presencia de polisacárido capsular y la producción de hemaglutininas manosa sensibles asociadas a fimbrias tipo 1 o tipo 3 y quelantes de hierro (aerobactina y enterochelin). Sumado a esto la capacidad de este género para transportar plásmidos que codifican resistencia a numerosos antimicrobianos convirtiéndose en un factor de importancia asociado a infecciones nosocomiales.

4.1.2.2.2 Significado clínico

Son responsables de infecciones del tracto respiratorio inferiores, de la piel y de tejidos blandos. También se encuentran presentes en infecciones del tracto urinario, intraabdominales, endocarditis, artritis séptica, osteomielitis e infecciones oftálmicas. (Lopardo et al., 2011).

4.1.2.2.3 Identificación de especies del género *Enterobacter*

Con la evaluación de las características fenotípicas mediante el uso de sistemas de identificación comerciales como la galería Api 20E, el sistema Vitek 2 o el empleo manual de baterías bioquímicas se pueden identificar algunas de las especies de este género bacteriano (ver tabla 9).

Se emplean medios de siembra como el agar Mac Conkey en donde las colonias son de color rosa, el agar EMB que genera colonias mucoides de color marrón oscuro.

Tabla 9. Características bioquímicas de *Enterobacter* spp. Tomado de (Lopardo et al., 2011).

Prueba	Resultado
TSI (agar con hierro y triple azúcar)	Ácido/ácido con producción de gas
ONPG (o-nitrofenilgalactopiranosido)	Positivo
SIM (sulfhídrico, indol, movilidad)	Negativo, negativo, positivo
Cristal de Simmons	Positivo
Urea de Christensen	Variable
Rojo de metilo	Negativo
Voges Proskauer	Positivo
Lisina descarboxilasa	85-95% de las cepas negativas
Ornitina descarboxilasa	Positivo
Arginina dihidrolasa	Variable

4.1.2.3 Klebsiella

Este género de bacterias se compone de bacilos Gram negativos, inmóviles, anaerobios facultativos, la gran mayoría encapsulados, patógenos oportunistas comunes para animales y humanos. Su hábitat puede ser muy variado incluyendo el tracto gastrointestinal de los seres humanos y animales, en agua residual, agua potable, aguas superficiales, suelo y vegetación.

Es huésped habitual saprofito del ser humano y de los animales. *Klebsiella pneumoniae* forma parte de la microbiota normal del intestino humano y de la cavidad oral.

Utilizan el citrato y la glucosa como única fuente de carbono y presentan una temperatura óptima de crecimiento de 30 a 37°C, aunque algunas especies crecen a 44.5°C.

Este género bacteriano se encuentra integrado por 6 especies de las cuales 3 son las aisladas con mayor frecuencia, estas son; *K. oxycota*, *K. granulomatis*, *K. pneumoniae* esta última a su vez se encuentra dividida en 3 subespecies; *K. pneumoniae subsp pneumoniae*, *K. pneumoniae subsp rhinoscleromatis* y *K. pneumoniae subsp ozaenae* (Cubero, 2016).

4.1.2.3.1 Patogenia

Dentro de los principales factores de virulencia identificados en *K. pneumoniae* se encuentran: el lipopolisacárido de la superficie celular (LPS) el cual contiene el antígeno O, el polisacárido capsular (CPS) que contienen el antígeno K, las adhesinas fimbriales y no fimbriales, la presencia de un plásmido de 180 kDa que codifica para la producción de aerobactina, el fenotipo mucóide, la resistencia a la actividad bactericida del suero y la producción de citotoxinas, enterotoxinas y hemolisinas (Lopardo et al., 2011).

La cápsula es esencial para la virulencia de esta bacteria, ya que la protege de la fagocitosis por los granulocitos y evita su muerte por los factores bactericidas del suero.

K. pneumoniae tienen 3 proteínas de membrana externa (OMPs), porinas Omp35, OmpK36 y OmpK37, las cuales ligan macrofagos y células dendríticas (Lopardo et al., 2011).

4.1.2.3.2 Significado clínico

La presencia de *Klebsiella* en el ser humano tradicionalmente se asocia con infección de la vía respiratoria superior, neumonía pulmonar e infecciones del tracto urinario, no obstante se han realizado asociaciones de esta bacteria con brotes de diarrea debido a contaminación de alimentos por este microorganismo.

Klebsiella pneumoniae no está catalogada como una especie patógena para el hombre, sin embargo estudios indican que el constante uso de antibióticos y el empleo de procedimientos diagnósticos más agresivos, lo han ido posicionando como agente etiológico responsable de varias patologías, principalmente infecciones del tracto urinario, respiratorio, meningitis, septicemias e infecciones de tejidos blandos. Su principal reservorio es el tracto gastrointestinal, siendo las manos el principal vehículo de transmisión (Lopardo et al., 2011).

4.1.2.3 Identificación de especies del género *Klebsiella*

La identificación de este género bacteriano se realiza en base a las características que generan las reacciones bioquímicas. Las principales características fenotípicas utilizadas para la identificación de las especies del género *Klebsiella* son las siguientes (ver tabla 10).

Tabla 10. Características fenotípicas del género *Klebsiella*. Tomado de (Cubrero, 2016).

	<i>K. pneumoniae</i>			<i>k. oxycota</i>	<i>k. terrigena</i>	<i>k. planticola</i>	<i>k. ornithinolytica</i>
	<i>subsp. Pneumoniae</i>	<i>subsp. Ozaenae</i>	<i>subsp. Rhinoscleromatis</i>				
Indol	-	-	-	+	-	v	+
Rojo de metilo	-	+	+	v	+	v	+
Voges-Proskauer	+	-	-	+	+	+	+
Citrato	+	-	-	+	+	+	+
ONPG	+	+	-	+	+	+	+
Ornitina descarboxilasa	-	-	-	-	-	-	+
Arginina dihidrolasa	-	-	-	-	-	-	-
Lisina descarboxilasa	+	v	-	+	+	+	+
Urea	+	v	-	+	+	+	+
Malonato	+	-	+	+	+	+	+
Lactosa	+	-	-	+	-	-	-
Crecimiento a 10°C	-	-	-	+	+	+	+
Movilidad	-	-	-	-	-	-	-

El empleo de métodos moleculares es actualmente el más utilizado para la correcta identificación de las especies de *Klebsiella*, ya que solo las características fenotípicas no permiten realizar una correcta identificación.

4.1.3 Coliformes fecales

4.1.3.1 *Escherichia coli*

Bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, inmóvil o móvil debido a la presencia de flajelos peritricos, catalasa positivo, oxidasa negativo, no esporulado, se encuentra presente en el tracto intestinal inferior de animales y humanos, y es descargado al medio ambiente por medio de la materia fecal o los efluentes de agua residual. En la materia fecal alcanza cifras de 10^6 a 10^9 ufc/g (Ramirez, 2006).

Es un patógeno oportunista que causa infecciones en hospedadores inmunocomprometidos. Los aislamientos de las cepas de *E.coli* se diferencian serológicamente por la presencia de antígeno somático (O), flagelar (H) o capsular (K), en la actualidad se han identificado más de 174 antígenos O, 56 H y 80 K con más de 700 serotipos, muchos de los cuales se asocian con enfermedad en el ser humano (Lopardo et al., 2011).

Esta bacteria es el marcador sanitario ideal en el análisis microbiológico de los alimentos crudos o aquellos que no han sido sometidos a ningún tratamiento que garantice su inocuidad. Como es el caso de los germinados, alimentos que se consumen crudos sin ningún tipo de tratamiento previo, y en las verduras, frutas y hortalizas las cuales se pueden contaminar con materia fecal proveniente de animales y seres humanos durante las etapas de producción, manejo y disposición final, facilitando el ingreso de este microorganismo en el ser humano y causando enfermedad.

Una de las principales causas de contaminación de los vegetales y las semillas es la fertilización de los cultivos con estiércol fresco, llevando a que los vegetales, las semillas para germinar y los germinados que son alimentos que pueden ser consumidos crudos, se conviertan en un vector importante de transmisión de *E.coli*. Al abonar con estiércol fresco no sometido al proceso de compostaje el cual consiste en una degradación microbiana parcial, aumenta la probabilidad de contaminación en los alimentos abonados con este compuesto, ocasionando infecciones en el consumidor.

Las cepas de *E.coli* que causan diarrea en el ser humano se clasifican en 6 patotipos: *E.coli* enteropatógeno (EPEC), enterotoxigénico (ETEC), enteroinvasivo (EIEC), enteroagregativo (EAEC), productores de toxinas shiga/verotoxinas o enterohemorrágicos (STEC/VTEC/EHEC) y con adherencia difusa (DAEC) (Minsalud, 2015).

E.coli verotoxigénica o productora de toxina shiga (VTEC), es el patotipo más virulento en humanos debido a las toxinas que produce. Su principal reservorio son los rumiantes, convirtiéndose el ganado bovino en el vehículo más importante de transmisión.

4.1.3.1.1 Significado clínico

Es considerada parte de la flora normal del intestino en el ser humano y la mayoría de las cepas no son patógenas. Las cepas enteropatógenas en el ser humano se caracterizan por generar procesos diarreicos

4.1.3.1.2 Patogenia

Las cepas diarreogénicas de *E. coli* poseen una serie de mecanismos de patogenicidad, dentro de los cuales se encuentran: producción de enterotoxina, ulceración de la mucosa intestinal, producción de proteínas con daño epitelial y efecto citopático.

4.1.3.1.3 Identificación de *Escherichia coli*

La identificación de este microorganismo se realiza empleando métodos microbiológicos simples, como son siembra en medios de agar EMB, agar MacConkey su posterior realización de pruebas bioquímicas. También se emplean métodos más complejos como tipificación serológica, técnicas de recombinación genética, técnicas de reacción en cadena de la polimerasa.

4.1.3.2 Escherichia coli enteropatógena (EPEC)

El hombre es uno de los principales reservorios de este grupo, el cual se asocia principalmente con casos de diarrea infantil, puede ser transmitido por la ingestión de alimentos y/o agua contaminada. Este patotipo en el ser humano genera casos de diarrea abundante secretora con moco sin sangre, con pérdidas importantes de líquidos y electrolitos en las heces, llegando a ocasionar problemas de desnutrición por una mala absorción de nutrientes, en especial si la diarrea es persistente (Lopardo et al., 2011).

Se necesita una dosis infectiva alta de este patotipo para generar diarrea, alrededor de (10^9 - 10^{10} bacterias), aunque se presume que en los niños la dosis es más baja (Lopardo et al., 2011)

El mecanismo de patogenicidad de este patotipo de enfoca principalmente en el proceso de adherencia entre la bacteria y la membrana de las células epiteliales del intestino. Tras la adhesión de la bacteria la cual es mediada por pilis o fimbrias llamadas Bfp (bundle-forming pilus), se genera un proceso de destrucción de las microvellosidades del epitelio intestinal, con una polimerización de actina que conlleva a una alteración del citoesqueleto en el sitio de unión de la bacteria, debido al aumento en los niveles de calcio intracelular y de proteína C (Rodríguez, 2002).

4.1.3.3 Escherichia coli enterotoxigénico (ETEC)

Afecta principalmente a lactantes y niños menores de 2 años. La contaminación del agua y los alimentos se convierte en la principal fuente de infección, con una dosis infectiva de 10^8 UFC (Rodríguez, 2002)

La colonización de la mucosa intestinal esta mediada por la presencia de pilis o fimbrias y como principal mecanismo de patogenicidad esta la síntesis de enterotoxinas toxina termolábil (LT) y toxina termoestable (ST), las cuales aumentan el nivel intracelular de cAMP y cGMP presente en la membrana de las células intestinales, provocando la salida de iones y agua, llevando a procesos diarreicos acompañados de fiebre y vómito (Rodríguez, 2002).

La adherencia a las células epiteliales de la mucosa del intestino delgado esta mediada por adhesinas proteicas conocidas como factores de colonización (CFs), luego de este proceso viene la producción de una o de las dos enterotoxinas, las cuales generan una estimulación en la secreción de iones cloruro y la inhibición de NaCl, aumentando el contenido acuoso en el lumen intestinal y así ocasionando diarrea (Lopardo et al., 2011). La detección de ETEC en los alimentos se basa en la búsqueda de las toxinas LT y ST (Minsalud, 2015).

4.1.3.4 Escherichia coli enteroinvasiva (EIEC)

Las cepas de EIEC son no fermentadoras de lactosa y se encuentran asociadas principalmente con brotes más que casos aislados, en donde la transmisión se da de persona a persona y/o por la ingestión de alimentos y agua contaminada con materia fecal.

Su mecanismo de patogenicidad se relaciona con la invasión del epitelio del colon, en donde en primer lugar ocurre una adherencia del microorganismo a las vellosidades de la mucosa por acción de mucinas y adhesinas, logrando entrar por endocitosis a la célula, logrando así una multiplicación y diseminación hacia células sanas (Rodríguez, 2002). La invasión del epitelio del intestino grueso y la multiplicación en las células del enterocito, es una de las principales características de este patotipo, la cual se da gracias a la presencia del plásmido Ipa (invasión plasmid antigen), este proceso ocasiona

ulceración de la mucosa y muerte celular, llevando a una sintomatología clínica acompañada de diarrea de tipo inflamatorio con sangre, pus y fiebre (Lopardo et al., 2011).

4.1.3.5 *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC)

Este patotipo presenta un fenotipo de adherencia agregativo, el cual se caracteriza por la adherencia de las bacterias entre sí y por ser inespecífica debido a que las bacterias se adhieren a la superficie de las células Hep-2 y a la superficie de cubreobjetos libre de células Hep-2, la adherencia a estas células y a su vez la hemaglutinación de los hematies se debe a la presencia de una fimbria o adhesina flexible llamada fimbria I de adherencia agregativa (AAF/I) (Rodríguez, 2002).

Las cepas de EAEC tienen la capacidad de incrementar en la mucosa la capacidad de producción y secreción de moco, cuya finalidad es atrapar a las bacterias y aglutinarlas en una fina película en el epitelio intestinal, a su vez se han identificado dos proteínas relacionadas con el mecanismo de patogenicidad de este patotipo, la proteína Pet (plasmid-encoded toxin) con efecto citopático en células Hep-2 y la proteína Pic con actividad de proteasa (Rodríguez, 2002).

La diarrea generada por estas cepas puede ser de color verde, con moco con o sin sangre y en algunos casos ocasionar procesos de deshidratación.

4.1.3.6 *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC)

A las cepas de *E.coli* capaces de producir la citotoxina con actividad en las células Vero se les denominó *E.coli* verotoxigénica (VTEC), aquellas en donde la citotoxina fuera neutralizada con antitoxina obtenida a partir de *Shigella dysenteriae* tipo 1 se les llama (STEC) (Rodríguez, 2002).

Su principal mecanismo de patogenicidad es la citotoxina STX, con variantes STX1 y STX2, responsables de colitis hemorrágica y diarrea acuosa con sangre, acompañada o no de fiebre, que puede llevar a un síndrome urémico hemolítico (Rodríguez, 2002).

La adherencia y esfacelación (A/E) que se caracteriza por una estrecha adhesión de la bacteria al epitelio intestinal con una consecuente destrucción de las microvelocidades y el plásmido pO157 que codifica para la enterohemolisina, son otros de los factores de virulencia de estas cepas (Rodríguez, 2002).

Los reservorios de la EHEC O157:H7 son los rumiantes, especialmente el ganado bovino y las ovejas, los cuales se infectan sin presentar síntomas y eliminan el microorganismo en la heces, lugar a partir del cual se presentan los casos de contaminación ya sea por contacto directo con las heces de los animales portadores o por el consumo de agua o alimentos contaminados. Se han presentado brotes de esta cepa vinculados con alfalfa, rábano, lechuga y espinaca, siendo el agua de riego el mecanismo de transmisión debido a la contaminación con materia fecal de animales portadores. También se ha encontrado que EHEC O157:H7 puede internalizarse en los tejidos de algunas plantas como la lechuga (CFSPH, 2009).

4.1.3.7 *Escherichia coli* de adherencia difusa (DAEC)

Estudios morfológicos han determinado que las cepas DAEC generan un fenotipo inusual de adherencia celular sobre el cultivo de células Hep-2, observándose inducción de algunas proyecciones de la membrana celular. Su principal mecanismo de patogenicidad es la expresión de adhesinas afimbriales (Afa) y adhesinas fimbriales, las cuales se encuentran en la superficie de la membrana

externa de la bacteria y generan daño en la membrana celular ocasionando elongación, daño en las microvellosidades y reordenamiento de las proteínas en el citoesqueleto, llevando a un aumento de la permeabilidad del enterocito (Farfán et al., 2016). La ilustración 3 muestra el mecanismo de acción de la *E. coli* diarreogénica en la membrana celular.

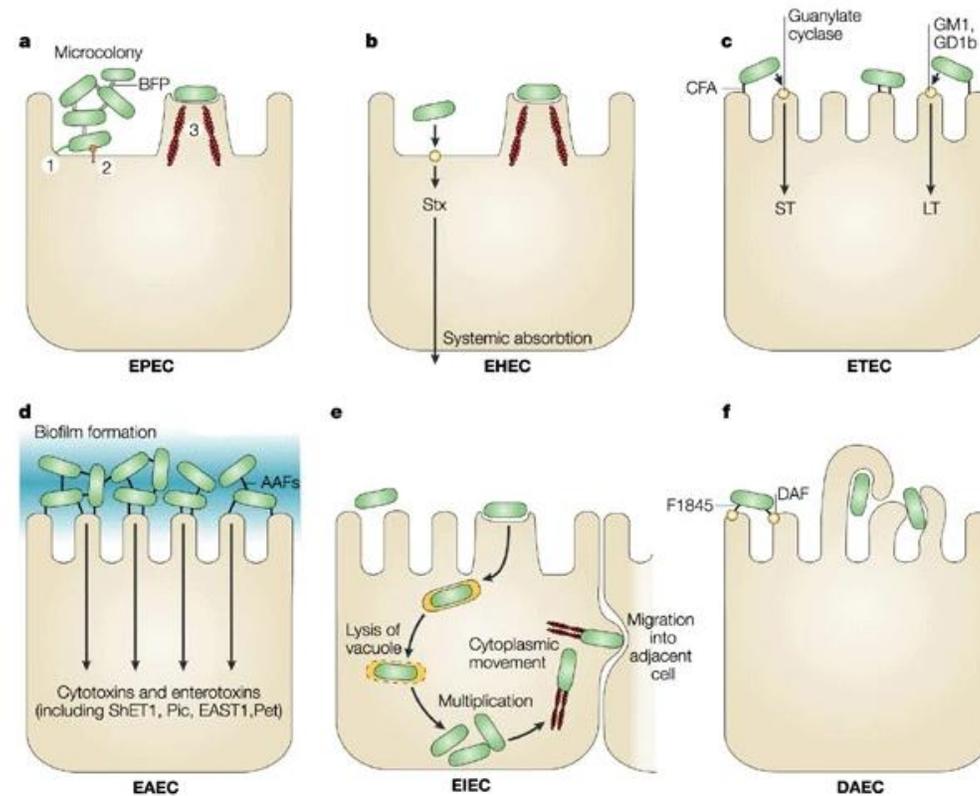


Ilustración 3. Esquema patológico de *E. coli* diarreogénica (Kaper et al., 2004).

4.1.4 Salmonella

Este género pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, se encuentra constituido por bacterias Gram negativas, intracelulares facultativas, no esporulados, móviles por la presencia de flajelos peritricos. Este género bacteriano se divide en dos especies las cuales son: *S. bongori* y *S. enterica*, siendo esta última la especie con mayor potencial de patogenicidad. De estas especies se han encontrado más de 2.500 serovariedades, en función de las diferentes asociaciones de factores antigénicos somáticos O y flagelares H (ANMAT, 2014).

Se transmite por contacto directo con la materia fecal o por el consumo de agua o alimentos contaminados con heces. Su temperatura de crecimiento abarca un rango amplio que va desde los 7 a 49°C, con un pH que varía de 4 a 9 (ver tabla 11).

Se desarrolla bien en los alimentos tanto de origen animal como vegetal, especialmente en aquellos con alto contenido proteico (INS, 2011), como es el caso de los germinados. La sintomatología clínica cursa con gastroenteritis sin complicación ni tratamiento, aunque puede agravarse en niños o

pacientes inmunocomprometidos. La enfermedad que causa este género bacteriano recibe el nombre de salmonelosis, caracterizada por la presencia de fiebre brusca, dolor abdominal, diarrea y en ocasiones vómito (OMS, 2018).

Puede vivir por largos periodos de tiempo en ambientes secos sin agua, se encuentra en los animales domésticos y salvajes, en los alimentos puede permanecer durante toda la cadena alimentaria, superando todas las etapas de producción, recolección, tratamiento, almacenamiento y disposición final de los mismos. La mayoría de los casos de infección en el ser humano se presentan por consumo de alimentos de origen animal (huevos, leche, carne) y de origen vegetal (hortalizas y germinados) contaminados con *Salmonella*.

Tabla 11. Condiciones de crecimiento de *Salmonella*. Tomado de (INS, 2011).

Característica	Máxima	Mínimo	Óptimo
Temperatura	49,5°C	5.9°C, su crecimiento reducido a <15°C	35-37°C
pH	9,5	3,8	6,5-7,5
Actividad de agua (a _w)		0,94	0,995

4.1.4.1 Patogenia

Este microorganismo evade las defensas intracelulares de las células intestinales y comienza un proceso de división dentro de la célula, luego pasa a la sangre ocasionando una infección sistémica, multiplicándose en macrófagos y localizándose en hígado, bazo y médula ósea. En la actualidad se conoce que *Salmonella* cuenta con 5 islas de patogenicidad, cuyos genes se encuentran involucrados en los procesos de adhesión, invasión, apoptosis de macrófagos y activación de la cascada de fosforilación dependientes de MAP (Figuroa & Verdugo, 2005).

Dentro de los mecanismos de patogenicidad de este género se encuentran involucrados diversos factores de virulencia, dentro de los cuales se menciona la producción de enterotoxina, endotoxina (LPS) y citotoxina, de igual manera la migración de neutrófilos y macrófagos que ocasiona esta bacteria genera la liberación de citoquinas proinflamatorias, las cuales reclutan células fagocíticas, favoreciendo el proceso diarreico (Comité científico de seguridad agroalimentaria de la CAE, 2008).

4.1.4.2 Significado clínico

Afecta principalmente al íleon y el colon, generando ulceraciones de la mucosa. Su cuadro clínico cursa con cefalea, náuseas, vómito y diarrea la cual puede ser sanguinolenta con moco. Tiene una duración de 5 a 7 días y una vez terminada la persona puede continuar eliminando la bacteria en las heces por un periodo de tres meses.

4.1.4.3 Identificación de Salmonella

El aislamiento de este microorganismo se basa en los métodos convencionales mediante cultivo a partir de muestras de heces y/o de los alimentos implicados. Se realiza un pre-enriquecimiento en medio líquido rico en nutrientes como agua de peptona, caldo lactosado, caldo nutritivo entre otros, con el fin de recuperar las células lesionadas de esta bacteria, posteriormente se realiza un aislamiento en medio sólido selectivo (agar Hektoen entérico, agar XLD, agar Bismuto Sulfito, agar Mac Conkey, agar SS, agar verde brillante), para finalmente realizar pruebas bioquímicas y así identificar el género *Salmonella* (Comité científico de seguridad agroalimentaria de la CAE, 2008).

A nivel internacional se encuentra la norma ISO 6579 de 2017 “Método horizontal para la detección, enumeración y serotipado de *Salmonella* spp. En Colombia se encuentra la Norma Técnica Colombia 4574 de 2017 “Método horizontal para la detección de *Salmonella* spp” (NTC 4574, 2007).

4.1.5 Listeria

Bacilos Gram positivos cortos no esporulados, anaerobios facultativos, móviles. El género se encuentra dividido en 6 especies, de las cuales *Listeria monocytogenes* es patogénica para el hombre. Se distribuye ampliamente en la naturaleza, encontrándose en el suelo, agua, vegetales y contenido fecal de animales y humanos. La principal vía de transmisión es el consumo de alimentos contaminados, aunque también se han reportado casos de transmisión directa de animales a humanos y entre humanos. Esta bacteria produce biofilm en los alimentos, crece a temperaturas de refrigeración, resiste condiciones adversas de pH y altas concentraciones de NaCl.

Los principales alimentos asociados a brotes de listeriosis, son aquellos que vienen listos para el consumo refrigerados con una vida útil prolongada, como los pescados ahumados, los productos cárnicos tratados por calor y los quesos. La mayoría de estos alimentos incluye una fase en su producción que elimina a *Listeria*, sean procesos de cocción, horneado entre otros; Indicando que la contaminación de estos alimentos ocurre después del tratamiento térmico y antes de su envasado final por contacto con materias primas contaminadas o superficies mal desinfectadas (Ballesteros, 2019). El Reglamento (CE) n° 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, exige que los alimentos listos para el consumo que puedan presentar riesgo contengan un máximo de 100 unidades formadoras de colonias (ufc)/g, exigiéndose en algunos casos la ausencia de *L. monocytogenes* en 25 gr de alimento (Ballesteros, 2019).

4.1.5.1 Patogenia

Es una bacteria capaz de atravesar las 3 barreras fisiológicas presentes en el ser humano (intestinal, hematoencefálica y placentaria). A nivel intestinal el proceso infeccioso comprende las etapas de adhesión e invasión de la célula huésped, escape vacuolar, multiplicación intracelular y proliferación extracelular. En el proceso de adhesión intervienen las proteínas Lap, Ami, FbpA, LapB e InlJ (Vera et al., 2013).

Otros factores de virulencia encontrados, llamados factores accesorios son la proteína p60 involucrada en la división celular, los mediadores en respuesta al estrés (ClpC, ClpE, ClpP) involucrados en el escape desde el fagosoma y la multiplicación intracelular, enzimas superóxido dimutasa y catalasa y sistemas de captación de hierro (Vera et al., 2013).

4.1.5.2 Significado clínico

La listeriosis es una de las enfermedades transmitidas por alimentos de mayor importancia a nivel de salud pública, debido a que su cuadro clínico genera gran impacto social y económico. *Listeria monocytogenes* ocasiona dos tipos de listeriosis por el consumo de alimentos: la invasiva y la no invasiva (ver tabla 12).

La listeriosis invasiva son aquellos casos en donde una infección inicial del tejido intestinal por *L. monocytogenes* deriva en la invasión de partes del organismo generalmente estériles, presenta una tasa de letalidad del 20 a 30%. Y los casos de listeriosis no invasiva cursan con síntomas de gastroenteritis (FAO, 2004).

Tabla 12. Descripción epidemiológica y clínica de la Listeriosis en humanos (INS & Min Salud, 2011)

Tipo De Listeriosis		Modo De Transmisión	Severidad	Periodo De Incubación
Listeriosis Invasiva	Infección Neonatal Temprana	Infección De Neonatos Durante El Parto o Por Contaminación Cruzada Con Neonatos En Salas De Recién Nacidos	Puede Ser Extremadamente Severa, Resultando En Meningitis Y Muerte (Mortalidad De Hasta 35%)	1-2 Días (Incubación Temprana) Habitual En La Infección Congénita Previa Al Nacimiento. 5-12 Días En El Caso De Contaminación Con Otros Neonatos.
	Infección Neonatal Tardía	10-15% De Los Casos Neonatales Transferencia En El Canal Vaginal	Involucra Periodos Febriles, Meningitis, En Algunos Casos Diarrea Y Neumonía (Mortalidad De 13-43% En Pacientes Tratados Y 100% De Mortalidad En Pacientes No Tratados)	1-8 Semanas Postparto
	Durante El Embarazo (Prenatal)	Adquirida Por El Consumo De Alimentos Contaminados	Enfermedad Leve, Asintomática Para La Madre (Afección Respiratoria Leve O Moderada). Serias Implicaciones Para El Feto, Incluyendo: Abordo Espontaneo, Muerte Del Feto, Mortinato Y Meningitis. Es Más Común En El Tercer Trimestre.	De Uno A Varios Días. Incluso Semanas

			La Mujer Puede Portar El Microorganismo En El Tracto Genital Por Algún Tiempo, Ocasionando Complicaciones En Embarazos Posteriores	
	Adultos Mayores De 65 Años, Inmunosuprimidos	Adquirida Por El Consumo De Alimentos Contaminados	Puede Evolucionar A Enfermedades Del Sistema Nervioso Central Incluida Meningitis. Tasa De Mortalidad Puede Llegar Al 80%	De 1 Día A 3 Meses Con Promedio De 20-30 Días
Listeriosis No Invasiva		Consumo De Alimentos Contaminados Con Concentraciones Elevadas De <i>L. Monocytogenes</i> (10^7 UFC/G)	Vomito, Diarrea, Fiebre, Náuseas, Dolor De Cabeza Y Fatiga, Puede Evolucionar A Bacteriemia, Suele Ser Autolimitante. No Genera Complicaciones. La Información Sobre Los Mecanismos Que Utiliza <i>Listeria</i> Para Desarrollar La Enfermedad No Se Ha Logrado Establecer	<24 Horas Después Del Consumo.

4.1.5.3 Identificación de *Listeria*

Para el aislamiento de *Listeria* en alimentos se sugiere los métodos planteados en la norma ISO 11290-1: 2017. Como los demás microorganismos mencionados, para el caso de *Listeria* también se pueden emplear métodos microbiológicos convencionales y métodos de detección rápida.

La batería bioquímica como el sistema Api *Listeria* es muy empleado, el uso de medios para aislamiento como el PALMAC (polimixina, acriflavina, cloruro de litio, ceftazidima, manitol y esculina) y el medio Oxford son utilizados para el aislamiento de *Listeria* en muestras poco viables o ricas en microbiota competitiva (Alonso, 2018).

CAPITULO V

BUENAS PRACTICAS AGRICOLAS Y BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA EN LA CADENA DE PRODUCCIÓN DE LOS GERMINADOS

El creciente aumento en el consumo de germinados ha despertado el interés en los consumidores, la industria alimentaria y el sector normativo alimentario con respecto a la aplicación y correcto uso de las buenas prácticas agrícolas (BPA) y las buenas prácticas de manufactura (BPM) en el sistema de producción de los germinados, ya que el aumento en el consumo de estos productos alimentarios genera a su vez un aumento en la incidencia de enfermedades de transmisión alimentaria (ETA), debido a que son alimentos que pueden ser consumidos crudos sin ser sometidos a ningún proceso químico, térmico, ácido entre otros que garanticen un producto final libre de microorganismos.

Las semillas se han convertido en el principal punto de partida de la contaminación de germinados, debido a que estas suelen estar más expuestas al medio ambiente y cuentan con un sistema productivo rudimentario que no promueve la seguridad e inocuidad de las semillas, facilitando que estas se contaminen con bacterias en las distintas etapas de producción (cosecha, almacenamiento y transporte. Durante el desarrollo del germinado la falta de buenas prácticas de higiene por parte del productor y el empleo de utensilios sin desinfectar también puede desencadenar riesgo de contaminación con microorganismos. Los bajos niveles de bacterias en las semillas van aumentando a medida que estas se someten al proceso de germinación, ya que este proceso germinativo les confiere a los microorganismos las condiciones óptimas de luz, temperatura y humedad necesarias para el desarrollo bacteriano. Es importante tener en cuenta que la implementación de BPA y BPM en el sistema de producción de los germinados, partiendo desde la cosecha de la semilla hasta la obtención del producto final, no garantiza en su totalidad que el germinado se encuentre libre de bacterias patógenas, pero si contribuye de manera significativa en la reducción del riesgo de contaminación.

Durante todo es sistema de producción de los germinados, se recomienda la adopción de medidas de control higiénico-sanitarias en dos etapas del proceso: primera etapa durante la producción, acondicionamiento y almacenamiento de semillas la aplicación de BPA y BPH orienta a prevenir la contaminación de las semillas por patógenos microbianos y la segunda etapa durante la producción de semillas germinadas, la fase de desinfección de las semillas se orienta a reducir los posibles contaminantes y las BPH a impedir la introducción de patógenos microbianos y reducir al mínimo su posible proliferación (Comision del codex alimentarius, 2001).

En Colombia no se cuenta con una Ley, Decreto, Resolución, Norma o guía específica que direcciona los sistemas de producción para la obtención de germinados inocuos. Por todo lo anteriormente mencionado se realiza una recopilación de las principales recomendaciones sobre BPA, BPM y Buenas prácticas de higiene (BPH) aplicadas a todo el proceso de producción de germinados, con el

fin de facilitar a los productores la obtención de germinados inocuos y así generar seguridad y confianza en el consumidor, aumentando la comercialización de estos productos.

5. Ámbito de la aplicación

Las recomendaciones dadas a continuación van dirigidas a los productores de semillas destinadas a germinación y a los productores de germinados, con el fin de obtener un producto inocuo y sano para el consumidor.

6. Producción primaria de las semillas

En base al Código de Prácticas de Higiene para la Producción Primaria y el Envasado de Frutas y Hortalizas Frescas, 2003. Se utiliza la misma información, pero aplicada a las semillas, estas se cultivan y recolectan en condiciones climáticas y geográficas variadas, lo cual se convierte en un factor predisponente de peligros físicos, químicos y lo que más nos interesa en este apartado, biológicos. De igual manera este código refiere la importancia de examinar las prácticas agrícolas particulares que favorecen la producción de semillas inocuas, en base a las condiciones concretas de la zona de producción primaria, el tipo de semilla y los métodos utilizados. Es necesario que durante la producción primaria de semillas todos los procedimientos empleados se apliquen en buenas condiciones de higiene, reduciendo así al mínimo los peligros potenciales para la salud derivados de semillas contaminadas (Comision del codex alimentarius, 2001).

6.1 Producción higiénica de las semillas

Cuando las semillas se destinen a la producción de semillas germinadas, no se permitirá que los animales pasten en los campos donde se cultivan las semillas; Se plantean las siguientes recomendaciones a tener en cuenta (Comision del codex alimentarius, 2001).

- Evaluación de los usos anteriores de las zonas utilizadas para la producción de germinados y de sus lugares adyacentes, con el fin de identificar los posibles peligros microbianos, inclusión de contaminación por materia fecal y demás peligros ambientales que puedan afectar la zona de producción.
- Evitar el acceso de animales silvestres y domésticos al lugar de producción, así como a las fuentes de agua empleadas para riego
- Evitar contaminación de las zonas de producción por mecanismos como goteo, desbordamiento de lugares donde se almacena estiércol y/o contacto con aguas residuales
- Si el análisis de los sitios de cultivo o los lugares adyacentes evidencian peligros potenciales de contaminación, no se podrán utilizar estas zonas para producción de germinados, hasta que no se hayan empleado las medidas correctivas o de control.
- Realizar un análisis de las semillas, las semillas germinadas y el agua empleada para la germinación, con el fin de detectar la presencia de patógenos.

6.1.1 Especificaciones para las semillas recibidas

Los proveedores de semillas para germinar deberán adoptar buenas prácticas agrícolas, con el código de buenas prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015), y cumplir con lo establecido en este capítulo en su numeral 6.

Los productores de semillas y de semillas germinadas deberían obtener de los productores o distribuidores de semillas la garantía de que los residuos de productos químicos de cada lote que se recibe están dentro de los límites establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius y, cuando proceda, deberían obtener certificados de análisis relativos a los patógenos microbianos que son motivo de preocupación (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015).

Las semillas para germinación deberán almacenarse a cierta distancia del suelo, lejos de paredes y en condiciones de almacenamiento adecuadas que impidan la formación de moho y la proliferación de bacterias y que faciliten la inspección para la lucha contra las plagas (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015).

6.1.2 Estiércol y biosólidos

Es fundamental impedir la contaminación microbiana proveniente de estiércol, biosólidos y fertilizantes naturales, debido a la posibilidad de proliferación de los patógenos microbianos durante el proceso de germinación. Por lo tanto estos productos solo se podrán utilizar después de haber sido sometidos a tratamientos que consigan reducir a los patógenos a niveles poco probable de causar contaminación en los germinados (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015). Dentro de estos tratamientos se encuentran: compostaje, pasteurización, secado por calor, radiación ultravioleta, digestión alcalina, secado al sol, entre otros) (FAO, 2003).

6.1.3 Equipo utilizado en el cultivo y la recolección

El equipo empleado para el cultivo y la recolección de las semillas destinadas a germinación, deberá ajustarse para reducir al mínimo la aspiración de tierra y partículas que puedan contaminar las semillas así como el uso de implementos adecuados que no afecten la integridad física de la semilla (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015).

Antes de tratar un nuevo lote de semillas, el equipo y utensilios empleados deberán limpiarse y desinfectarse adecuadamente (Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria, 2016)

6.1.4 Manipulación, almacenamiento y transporte de las semillas

En el anexo II del documento Codex, 2015 se dan las siguientes recomendaciones con respecto a las semillas destinadas para germinación:

- Las semillas cuya integridad física este afectada, se encuentren dañadas o enfermas, que puedan ser susceptibles de contaminación microbiana, no deberán utilizarse para la producción de semillas germinadas destinadas para consumo humano
- La producción de semillas destinadas a geminación deberá mantenerse separada y etiquetada correctamente de los productos que serán sembrados para piensos
- Evitar que, durante los procesos de trillado, volteo y secado, las semillas queden expuestas a vapor, humedad elevada o neblina, controlando así la multiplicación de patógenos bacterianos

Los productores y distribuidores de semillas y semillas germinadas deberán analizar lotes de semillas para detectar patógenos, utilizando métodos de análisis aceptados internacionalmente (Comision del

codex alimentarius, 2001), esto con el fin de garantizar que las semillas que producen y expenden no van a generar ninguna afección en la salud del consumidor, garantizando que son productos inocuos. Para lo cual se recomienda consultar los principios del Codex para el Establecimiento y la Aplicación de Criterios Microbiológicos para los alimentos. La aplicación de estos criterios microbiológicos se basa en el conocimiento de las BPH y en el sistema de control de inocuidad de los alimentos como el análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC) (Codex Alimentarius, 2013).

7. Establecimientos para la producción de semillas germinadas

Las recomendaciones dadas a continuación son tomadas a partir de los Principios Generales de Higiene de los Alimentos 2003.

La naturaleza de las operaciones y por los riesgos a las cuales se encuentran sujetas, los edificios, los lugares abiertos para la producción de germinados y el equipo empleado deberán emplazarse, proyectarse y construirse de manera que se asegure lo siguiente:

- Reduzca al mínimo la contaminación
- El lugar destinado a la producción de germinados permita un adecuado mantenimiento, limpieza, desinfección y se reduzca al mínimo la contaminación transmitida por el aire
- Las superficies y los materiales que entren en contacto con las semillas a germinar, no deben ser tóxicos, deben ser duraderos y fáciles de limpiar
- Durante el proceso de germinación, las semillas deben estar protegidas contra el acceso y anidamiento de plagas

7.1 Establecimiento

Los establecimientos tanto para la producción de las semillas destinadas a la germinación como el lugar donde se desarrollan el germinado, deberán ubicarse alejados de:

- Zonas industriales que constituyan una amenaza para la contaminación de las semillas en cosecha o de las semillas en germinación
- Zonas expuestas a inundaciones
- Zonas expuestas a infestaciones por plagas, mosquitos, ratones, cucarachas entre otros, que puedan generar contaminación microbiana en la semilla o en el germinado
- Zonas que no permitan realizar una limpieza adecuada y cuya retirada de desechos sea difícil

Las zonas de almacenamiento, enjuague y descontaminación microbiana de las semillas, germinación y envasado, deberán estar físicamente aisladas entre sí (Comisión del Codex Alimentarius & OMS, 2015).

7.2 Concepción y diseño de instalaciones

Información extraída de los requisitos contemplados en el Reglamento (UE) N°210 de 2013 de la Comisión (ESSA, 2013)

- El diseño de los establecimientos destinados para la producción de semillas germinadas deberá permitir unas prácticas de higiene alimentarias correctas, en particular las superficies

(incluidos equipos), donde se manipulen las semillas y los germinados deberán ser fáciles de limpiar

- Todos los fregaderos o instalaciones similares destinadas al lavado de los productos alimenticios, tendrán un suministro suficiente de agua potable y deberán mantenerse limpios
- Todos los equipos con los que entren en contacto las semillas y los germinados deberán estar contruidos en materiales adecuados y mantenidos de manera que se reduzca al mínimo el riesgo de contaminación
- La producción de germinados deberá efectuarse en edificios completamente cerrados
- Deberá existir una separación física entre las zonas de recepción y almacenamiento de las semillas, las zonas en las que se preparan y enjuagan, las zonas en las que se produce la germinación y las zonas en las que se refrigeran y embalan los germinados. El flujo del proceso de producción podría indicarse al personal por medio señales o etiquetas
- Las instalaciones deberán contar con dispensadores de jabón y equipo de secado de manos, deberán instalarse preferentemente grifos con sensores automáticos.

7.3 Saneamiento

Información extraída del documento Directrices de higiene para la producción de brotes y semillas para la germinación de la ESSA (ESSA, 2013). El saneamiento se llevará a cabo mediante limpieza y desinfección de superficies y del equipo empleado, las instalaciones destinadas para la producción de germinados deberán contar con un plan de limpieza por escrito en donde se indicarán:

- los métodos empleados y el personal programado para garantizar la limpieza periódica de las zonas
- frecuencia con la que se lleva a cabo la limpieza
- identificación de zonas probables de humedad, moho, suciedad, insectos y la descripción de como impedir dicha acumulación

Recomendaciones dadas en el del documento Directrices de higiene para la producción de brotes y semillas para la germinación de la ESSA (ESSA, 2013)

- Todo el equipo que entre en contacto con las semillas y/o los germinados, deberá limpiarse y desinfectarse con los productos de limpieza aprobados y agua potable o proveniente de una fuente confiable.
- Las tareas de limpieza y desinfección se llevarán a cabo cuando no haya semillas en germinación, con el fin evitar que estos productos entren en contacto con los germinados
- Las empresas productoras de brotes deberán conservar registro de las fechas en las que se lleva a cabo la limpieza y desinfección, así como las áreas y elementos del equipo que han sido limpiados y el producto químico empleado.
- Deberá minimizarse todo peligro de contaminación por fragmentos de cristales o metales, residuos, sustancias químicas, productos de limpieza o desinfección, manteniéndolos separados del proceso de producción.
- Los productos de limpieza y desinfección se almacenarán en un lugar o armario destinado para tal fin, cerrado con llave y con las correspondientes señales o etiquetas

7.4 Control de plagas

Recomendaciones dadas en el del documento Directrices de higiene para la producción de brotes y semillas para la germinación de la ESSA (ESSA, 2013):

- El acceso de plagas y animales a las instalaciones de producción de germinados, deberá impedirse manteniendo cerradas las ventanas y otras vías de acceso, protegiéndolas con tela metálica u otro material oportuno
- La infraestructura relacionada con el proceso de producción (tuberías, conductos de aire), deben construirse de forma que se impida el acceso de plagas o sustancias contaminantes
- Se debe aplicar un plan de control de plagas y disponer de trampas, para esto se recomienda contratar una empresa de control de plagas.

7.5 Equipo utilizado para el proceso de germinación

Los utensilios empleados en el proceso de desarrollo de la semilla para dar lugar al germinado, sea en la producción a gran escala como en el campo, en huertas o en pequeños lugares como en las casas, deberá permitir un mantenimiento y una limpieza adecuada, facilitando el empleo de buenas prácticas de higiene.

8. Personal manipulador del alimento

El Codex Alimentarius recomienda revisar los Principios Generales de Higiene de los Alimentos, a partir de los cuales se extrae información para aplicarla al proceso de germinación. Los lugares donde se desarrollen los germinados deberán contar con las siguientes medidas:

- Medios adecuados para lavarse y secarse las manos higiénicamente, con abastecimiento de agua caliente y fría
- Retretes
- Vestuarios adecuados para el personal de producción

Recomendaciones dadas en el del documento Directrices de higiene para la producción de brotes y semillas para la germinación de la ESSA (ESSA, 2013):

Los trabajadores deberán conocer los principios de higiene y salud, deberán ser capacitados en materia de higiene y evaluados periódicamente, tanto el personal trabajador como los visitantes deberán usar vestimenta limpia y cubrirse la cabeza mientras están en las instalaciones de producción

8.1 Higiene del personal trabajador

- Llevar las manos limpias, uñas cortas y usar guantes si está manipulando las semillas o los germinados
- No fumar, comer ni beber en la zona de manipulación de alimentos
- No estornudar ni toser sobre los germinados
- Cubrirse el pelo
- Cubrir heridas o abscesos en las manos con un apósito impermeable
- No llevar joyas ni usar productos de belleza que puedan generar un riesgo de contaminación

- Lavarse las manos antes de manipular los germinados, después de un descanso, después de ir al aseo, después de limpiar, después de retirar los residuos
- Las normas de higiene del personal deberán imprimirse y colocarse visibles en paredes

9. Control de las operaciones

9.1 Análisis de lotes de semillas antes de iniciar su producción

Información extraída de (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015), se recomienda a los distribuidores y productores de semillas germinadas analicen cada lote nuevo de semillas recibido en las instalaciones de germinación, antes de iniciar su producción.

- Las semillas seleccionadas para el análisis deberán hacerse germinar antes del análisis, para aumentar las posibilidades de detectar los patógenos que pudieran estar presentes
- Estas semillas seleccionadas no deberán someterse a ningún tratamiento de descontaminación microbiológica en las instalaciones de germinación

9.2 Análisis de las semillas germinadas y/o el agua de riego utilizada

Información extraída de (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015), los productores de semillas germinadas deberán establecer un plan de muestreo y análisis para vigilar periódicamente la presencia de patógenos en una o varias fases tras el comienzo de la germinación .

- Puede realizarse análisis durante el proceso de germinación, por ejemplo, del agua de riego utilizada o de las semillas germinadas
- Se recomienda que los productores analicen cada lote producido, debido a la naturaleza esporádica de la contaminación de la semilla

9.3 Inspección visual de las semillas para germinación

Se deberá inspeccionar visualmente que las bolsas y recipientes donde vienen las semillas no presenten riesgo de contaminación física, por ejemplo, (residuos de animales, orificios sin cerrar, manchas, materia extraña, entre otros). Deben existir documentos disponibles que certifiquen la realización de la inspección visual (ESSA, 2013).

9.4 Utilización de agua en la producción de semillas germinadas

La calidad del agua empleada va a depender de la fase de la operación, se puede emplear agua limpia en las fases iniciales de lavado de la semilla y en las siguientes fases después de la descontaminación microbiológica y en el proceso de germinación se recomienda el uso de agua potable (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015).

Recomendaciones dadas en el del documento Directrices de higiene para la producción de brotes y semillas para la germinación de la ESSA (ESSA, 2013):

- Durante todas las etapas del desarrollo del germinado, el agua empleada deberá cumplir con los requisitos microbiológicos de agua potable
- Los sistemas de suministro de agua deberán limpiarse y mantenerse de forma adecuada, se deben conservar registros del mantenimiento

9.5 Descontaminación microbiológica de las semillas destinadas a germinación

Debido a que no se puede garantizar que las semillas destinadas para germinación se encuentren libres de patógenos bacterianos, estas deberán ser sometidas con anterioridad a tratamientos de descontaminación (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015).

9.6 Enjuague después de la descontaminación

Las semillas serán enjuagadas con agua potable o agua limpia una cantidad de veces suficiente que garantice la eliminación del agente antimicrobiano empleado (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015).

9.7 Remojo previo a la germinación

Se realiza con el fin de mejorar el proceso de germinación. El productor de las semillas germinadas deberá cumplir con lo siguiente: (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015)

- Desinfectar los recipientes empleados para el remojo antes de su utilización
- Se emplea agua potable para el remojo, el cual no debe excederse en tiempo ya que esto podría estimular el desarrollo de flora patógena
- Se realiza un enjuague con agua potable después de terminado el remojo de las semillas

9.8 Germinación

Solo se podrá utilizar agua potable para el proceso de germinación de la semilla (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015).

9.9 Enjuague final

Recomendaciones tomadas de (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015).

- Los germinados se deben enjuagar con agua potable fría, para disminuir la temperatura de las semillas y así frenar la proliferación microbiana
- Cambiar el agua entre lotes para evitar la contaminación cruzada
- Los germinados se deben escurrir utilizando un equipo adecuado, por ejemplo, una secadora centrífuga para alimentos.

10. Desagüe y eliminación de desechos

Deberá haber sistemas e instalaciones adecuados de desagüe y eliminación de desechos (Dirzo et al., 1997)

11. Almacenamiento del producto final

Los germinados serán almacenados a temperaturas bajas, por ejemplo 5°C (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015), reduciendo al mínimo la proliferación microbiana y ayudando a la conservación del producto. Se debe realizar una vigilancia periódica y eficaz de la temperatura en las zonas de almacenamiento y en los vehículos de transporte para garantizar una correcta cadena de frío (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015).

12. Transporte

Las recomendaciones dadas están basadas en los Principio Generales de Higiene de los Alimentos.

12.1 Requisitos de los materiales para empaque de germinados

- Materiales asépticos, que no contaminen los germinados
- Que se puedan limpiar y desinfectar fácilmente
- Que permita una correcta separación del germinado
- Proporcionen una protección eficaz contra el polvo y los humos

13. Procedimiento para la retirada de productos del mercado

Se deben establecer registros y procedimientos de retirada de las semillas por parte de los productores de semillas, a fin de responder de manera eficaz a situaciones de riesgo para la salud, de igual manera estos procedimientos brindaran información detallada para la investigación e identificación de las semillas o semillas germinadas contaminadas, se sugiere adoptar las siguientes medidas (Comision del codex alimentarius & OMS, 2015).

- Aplicar prácticas de producción y distribución de semillas, evitar le mezcla de varios lotes, mantener un registro para lote. En cada recipiente deberá ir el número de lote, el productor y el país de origen
- Los productores de semillas deberían tener un sistema que les permitiese identificar eficazmente los lotes y rastrear los lugares de producción y los insumos agrícolas asociados con los lotes, así como recuperar físicamente las semillas cuando se sospeche que existe un peligro
- Cuando se haya retirado un lote porque representa un peligro para la salud, debería evaluarse la inocuidad de otros lotes que hayan sido producidos en condiciones análogas
- Las semillas que puedan representar un peligro deberían retenerse y conservarse hasta que sean eliminadas de manera adecuada.

14. Certificado de importación

Recomendaciones dadas en el del documento Directrices de higiene para la producción de brotes y semillas para la germinación de la ESSA (ESSA, 2013).

- Si las semillas destinadas a la producción de germinados son originarias de países no pertenecientes a la UE, es obligatorio que vayan acompañadas de un certificado de importaciones, según lo exige el Reglamento (UE) N°704 de 2014, se le debe dar una copia al productor de germinados, el cual conservará hasta que los brotes sean consumidos.
- El certificado se expedirá en la lengua del país emisor y en la lengua del país de importación
- Si un lote de semillas originario de un país no perteneciente a la UE no cuenta con el certificado, las semillas no se podrán usar para producir germinados de consumo humano.
- El Ministerio de Agricultura o una autoridad de seguridad y sanidad alimentaria es quien emite el certificado.

- Si un lote de semillas destinado a la producción de germinados se envasa y se vende al por menor, también debe estar acompañado de una copia del certificado de importación, este será enviado a la empresa que recibe las semillas y las envasa para su venta.

14.1 Requisitos de trazabilidad de las semillas recibidas

Los productores de germinados deben obtener de sus proveedores de semillas un documento con la siguiente información, sin importar si el país pertenece o no a la UE (ESSA, 2013).

- El nombre del producto, incluido el nombre científico (nombre taxonómico)
- El número de identificación o la referencia del lote equivalente
- El nombre del proveedor
- El nombre y la dirección del receptor (si se emplea un transitario o agente: el nombre y la dirección del agente o transitario)
- La fecha del envío
- La cantidad suministrada.

CONCLUSIONES

Los germinados son económicos, fáciles de cultivar y son asequibles en cualquier época del año, por tanto, son una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria de las poblaciones más vulnerables. Durante el proceso de germinación las semillas sufren una serie de transformaciones en su composición lo que hace que se aumente su contenido de nutrientes ya que se producen enzimas que metabolizan los compuestos en moléculas más simple, lo que mejora la concentración de nutrientes, así como la disponibilidad y digestibilidad de los mismos.

Los germinados aportan a la dieta una cantidad de proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales que ayudan a suplir las necesidades diarias, estos a diferencia de las semillas sin germinar contienen una gran cantidad de compuestos fitoquímicos como lo son los compuestos fenólicos, flavonoides y antioxidantes, que les confieren a estos alimentos propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antioxidantes, hipocolesterolémicas e hipoglucémicas, siendo su consumo bueno para mantener un buen estado de salud.

Los germinados de leguminosas tienen menor cantidad de compuestos anti nutricionales que los granos por tanto su consumo favorece la digestión y evita malestares digestivos como pesadez y flatulencias, además los germinados de lentejas son ricos en hierro por tanto son una alternativa de alimentación para las personas vegetarianas ya que les aporta la cantidad de hierro necesaria para evitar condiciones como la anemia sin causar molestias digestivas, adicionalmente los germinados de cereales son ricos en carbohidratos en forma de almidón, por tanto, su digestión es mucho más sencilla, además de ser buena fuente de energía. En este grupo se destaca la avena y la cebada por su contenido de β -glucanos.

La humedad y condiciones de producción (temperatura, luz y oxígeno) de los germinados los convierte en un blanco fácil para los microorganismos; las principales fuentes de contaminación de los germinados son las semillas (materia prima) y el agua de riego empleada durante la producción, el control de estos parámetros es fundamental para garantizar un proceso productivo que de como resultado un alimento inocuo apto para el consumo humano.

Dentro de los microorganismos asociados a contaminación de los germinados se encuentran los coliformes totales, coliformes fecales, *Salmonella* y *Listeria*. *E. coli* es el microorganismo que más se asocia a contaminación de las semillas para germinar y por ende de los germinados, debido a la contaminación de estos alimentos con materia fecal proveniente de animales durante la producción y recolección de las semillas y durante el desarrollo del germinado por materia fecal proveniente del ser humano por manipulación inadecuada, con falta de asepsia por parte de los manipuladores durante el proceso. La intoxicación por este tipo de alimentos puede causar desde una enfermedad leve que curse con diarrea hasta una condición grave e incluso la muerte.

La implementación de BPA y BPM son fundamentales en cualquier proceso productivo sin embargo su importancia se ve acrecentada en el proceso productivo de los germinados ya que como estos en su mayoría se consumen crudos es fundamental un proceso controlado que garantice un producto final inocuo que no cause daño al consumidor.

Colombia es un país que está apenas iniciando en lo que referente a la producción y comercialización de germinados por ello es necesario la implementación de una normativa, manual o guía por parte de

las Instituciones competentes, que dirija y unifique el sistema de producción de semillas para germinar y de germinados, con el fin de obtener productos inocuos y de calidad y así promover su consumo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGCI, Fondo De Cooperación Chile-Mexico, & AMEXCID. (2017). Estándares Para La Producción, Cosecha, Empaque Y Almacenamiento De Alimentos Para El Consumo Humano.
- Almuhayawi, M. S., Hassan, A. H. A., Al Jaouni, S. K., Alkhalifah, D. H. M., Hozzein, W. N., Selim, S., Abdelgawad, H., & Khamis, G. (2021). Influence Of Elevated CO₂ On Nutritive Value And Health-Promoting Prospective Of Three Genotypes Of Alfalfa Sprouts (*Medicago Sativa*). *Food Chemistry*, 340(May 2020), 128147. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128147>
- Alonso, A. (2018). Métodos De Detección Y Control De *Listeria Monocytogenes* En La Industria Alimentaria [Universidad De Oviedo].
- ANMAT. (2014). Salmonelosis Enfermedades Transmitidas Por Alimentos. *Renapra*, 9, 11.
- Aparicio-García, N., Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., & Peñas, E. (2020). Changes In Protein Profile, Bioactive Potential And Enzymatic Activities Of Gluten-Free Flours Obtained From Hulled And Dehulled Oat Varieties As Affected By Germination Conditions. *Lwt*, 134(June). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109955>
- Apráez, E., Calderón, D., & Guerrero, L. (2017). Valoración Nutricional Y Productiva De Diferentes Granos De Cereales Germinados. *Agro Sur*, 45(2), 11–19. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2017.v45n2-02>
- Arias, D. (2014). Propuesta Gastronómica A Base De Germinados Y Brotes De Cereales Cultivados En La Provincia De Chimborazo-Ecuador, 2013. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo.
- Arriagada, V. (2000). Semillas Inspección, Análisis, Tratamiento Y Legislación (Vol. 1).
- Ballesteros, J. (2019). Listeriosis: Realidad De Un Brote Alimentario. *Sanidad Militar*, 75(4), 189–190.
- Bonvillani, J., Ohanian, A., Gonzalez, S., Salusso, N., Ohanian, I., Pereyra, T., Pagliaricci, A., & Pagliaricci, H. (2019). Efecto De La Temperatura Y Fotoperíodo Durante La Germinación Y Emergencia De Alfalfa (*Medicago Sativa* L.) Con Distintos Grados De Reposo Invernal. *Revista Científica FAV-UNRC Ab Intus*, 3((2)), 21–30.
- Botero, B. (2015). Los Germinados Como Alimento Excepcional Y Medicina Natural (Vol. 3). Germinados Cosecha Sagrada.
- Botero, B. (2015). Los Germinados Como Alimento Excepcional Y Medicina Natural (Vol. 3). Germinados Cosecha Sagrada.
- Braunstein, Mark. (2012). Germinados, Guía Para Cultivarlos En Casa. Ediciones Del Serbal.
- Bravo, M., Reyna, J., Gomez, P., & Huapaya, M. (2013). Estudio Químico Y Nutricional De Granos Andinos Germinados De Quinoa (*Chenopodium Quinoa*) Y Kiwicha (*Amarantus Caudatus*). *Rev.Per.Quim.Ing.Quim.*, 16(1), 54–60.
- Burbano, C., Duc, G., Pedrosa, M. M., Muzquiz, M., & Torres, A. M. (2010). Elevada Concentración De L-Dopa En Habas Germinadas Sin Taninos Ni Vicina-Convicina (V-C). *Actas Hortícolas*,

1995, 147–148.

- Campuzano, S., Mejía, D., Madero, C., & Pabón, P. (2015). Determinación De La Calidad Microbiológica Y Sanitaria De Alimentos Preparados Vendidos En La Vía Pública De La Ciudad De Bogotá D.C. Universidad Mayor De Cundinamarca, 110.
- CFSPH. (2009). E.Coli Enterohemorrágica. 1–12.
- Chaparro, D. C., Pismag, R. Y., Elizalde, A., Vivas, N. J., & Erazo, C. A. (2010). Efecto De La Germinación Sobre El Contenido Y Digestibilidad De Proteína En Semillas De Amaranto, Quinoa, Soya Y Guandul. Facultad De Ciencias Agropecuarias, 8(1).
- Chaparro, D., Pismag, R., & Elizalde, A. De D. (2011). Efecto De La Germinación Sobre El Contenido De Hierro Y Calcio En Amaranto, Quinoa, Guandul Y Soya. Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial, 9(1), 51–59.
- Chaparro, D., Pismag, Y., Elizalde, A. De D., Vivas, N., & Erazo, C. (2009). Estrategia ARPCC En La Producción De Semillas Germinadas. Facultad De Ciencias Agropecuarias, 7(1).
- Chen, Z., Wang, P., Weng, Y., Ma, Y., Gu, Z., & Yang, R. (2017). Comparison Of Phenolic Profiles, Antioxidant Capacity And Relevant Enzyme Activity Of Different Chinese Wheat Varieties During Germination. Food Bioscience, 20(July), 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.10.004>
- Chiriac, E. R., Chițescu, C. L., Sandru, C., Geană, E. I., Lupoae, M., Dobre, M., Borda, D., Gird, C. E., & Boscencu, R. (2020). Comparative Study Of The Bioactive Properties And Elemental Composition Of Red Clover (*Trifolium Pratense*) And Alfalfa (*Medicago Sativa*) Sprouts During Germination. Applied Sciences (Switzerland), 10(20), 1–14. <https://doi.org/10.3390/app10207249>
- Chiriboga, M. G. (2013). “Evaluación De La Efectividad Nutricional De La Pasta De Ajonjolí (*Sesamum Indicum* L.) Como Sustituto De La Pasta De Soya En El Crecimiento De Codornices (*Coturnix Coturnix*)” María. Universidad San Francisco De Quito.
- Cistue, L. (2012). Cebada Para Alimentación Humana. Recuperado de: Barleyworld.org.
- Codex Alimentarius. (2013). Principios Y Directrices Para El Establecimiento Y La Aplicación De Criterios Microbiológicos Relativos A Los Alimentos. Codex Alimentarius, 1–7.
- Código De Prácticas Higiénicas Para Las Frutas Y Hortalizas Frescas, CAC/RCP 53 (2003).
- Comision Del Codex Alimentarius, & OMS. (2015). Documento Debate Acerca De La Necesidad De Revisar El Código De Prácticas De Higiene Para Frutas Y Hortalizas Frescas, Anexo II Semillas Germinadas. In FAO.
- Comision Del Codex Alimentarius, & OMS. (2015). Documento Debate Acerca De La Necesidad De Revisar El Código De Prácticas De Higiene Para Frutas Y Hortalizas Frescas, Anexo II Semillas Germinadas. In FAO.
- Comision Del Codex Alimentarius. (2001). Programa Conjunto FAO/OMS Sobre Normas Alimentarias.

- Comité Científico De Seguridad Agroalimentaria De La CAE. (2008). Evaluación Del Riesgo Asociado A La Presencia De Los Serovares Zoonóticos De Salmonella En Huevo Fresco Producido En La CAE. *Elika*, 37.
- Coopeland LO, McDonald MB (1995) Principles Of Seed Science And Technology. Kluwer Academic Publishing Third Edition, Massachusetts, USA. Pp 59-111
- Cortés-Sánchez, A. D. J., Díaz-Ramírez, M., & Guzmán-Medina, C. A. (2018). Sobre *Bacillus Cereus* Y La Inocuidad De Los Alimentos (Una Revisión). *Revista De Ciencias*, 22(1), 93–108.
- Cubero, M. (2016). Epidemiología Molecular, Factores De Virulencia Y Caracterización De Los Mecanismos De Resistencia De *Klebsiella Pneumoniae*. Universidad De Barcelona.
- Cuellar, F. (2017). Germinados: Principales Riesgos En La Producción, Medidas Preventivas Y Tratamientos. *Colegio Oficial De Veterinarios De Madrid*, ENAC No 257 / EI 408, 48–60.
- Cuellar, F. (2017). Germinados: Principales Riesgos En La Producción, Medidas Preventivas Y Tratamientos. *Colegio Oficial De Veterinarios De Madrid*, ENAC No 257 / EI 408, 48–60.
- Davin-Regli, A., Lavigne, J. P., & Pagès, J. M. (2019). Enterobacter Spp.: Update On Taxonomy, Clinical Aspects, And Emerging Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(4).
- De La Cuadra, C. (1993). Germinacion, Latencia Y Dormicion De Las Semillas. Hojas Divulgadoras.
- Ding, J., Johnson, J., Chu, Y. F., & Feng, H. (2019). Enhancement Of Γ -Aminobutyric Acid, Avenanthramides, And Other Health-Promoting Metabolites In Germinating Oats (*Avena Sativa* L.) Treated With And Without Power Ultrasound. *Food Chemistry*, 283(November 2018), 239–247. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.136>
- Dirección General De Sanidad De La Producción Agraria. (2016). Guía De Buenas Prácticas De Higiene En La Producción Primaria De Brotes Vegetales.
- Dirección General De Sanidad De La Producción Agraria. (2016). Guía De Buenas Prácticas De Higiene En La Producción Primaria De Brotes Vegetales. Ministerio De Agricultura Y Pesca, Alimentación Y Medio Ambiente, Centro De Publicaciones.
- Dirzo, R., González, E., & Vogt, R. (1997). *Codex Alimentarius Higiene De Los Alimentos*.
- Document, J. (2019). Efecto De Tratamiento De Ondas De Luz Led En La Producción De Germinados De Alfalfa (*Medicago Sativa*).
- Donkor, O. N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J., & Vasiljevic, T. (2012). Germinated Grains - Sources Of Bioactive Compounds. *Food Chemistry*, 135(3), 950–959. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.058>
- Doria, J. (2010). Generalidades Sobre Las Semillas: Su Producción, Conservación Y Almacenamiento. In *Cultivos Tropicales* (Vol. 31, Issue 1).
- Dos Santos, I. (2018). Efeito Da Germinação No Amido, Proteína E Digestibilidade Do Trigo. In *Reumat: Revista Eletrônica De Educação Matemática*.

- Ebert, A. W., Chang, C. H., Yan, M. R., & Yang, R. Y. (2017). Nutritional Composition Of Mungbean And Soybean Sprouts Compared To Their Adult Growth Stage. *Food Chemistry*, 237, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.073>
- Elguera, M. (2017). “Evaluación De La Digestibilidad Biológica De La Proteína De Germinado De Quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd) Precocido, En Ratas Hotzman” [Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga]. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/3353>
- Enrique, A., Romero, M., Velazco, C., & Oré, K. (2017). Actividad Antioxidante Del Germinado De Cuatro Variedades De *Chenopodium Quinoa* Willd. “Quinoa.” *Revista De Investigación UNSCH*, 25(2), 35, 55. [https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/1566/2947%0Afile:///C:/Users/Bjumb/Downloads/1566-8791-5-PB \(4\).pdf](https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/1566/2947%0Afile:///C:/Users/Bjumb/Downloads/1566-8791-5-PB%20(4).pdf)
- Escobedo, D. (2018). “Producción De Germinados De Garbanzo (*Cicer Arietinum* L.) Con Actividad Antioxidante Mejorada A Través De Inducción Química.” Universidad Autónoma De Querétaro.
- ESSA. (2013). Directrices De Higiene Para La Producción De Brotes Y Semillas Para Germinación De La ESSA.
- FAO. (2003). Código De Prácticas De Higiene Para Las Frutas Y Hortalizas Frescas. *Codex Alimentarius*, 1–19.
- FAO. (2004). Evaluación De Riesgos *Listeria Monocytogenes* En Alimentos Listos Para Consumo. 1–86.
- FAO. (2011). La Quinoa: Cultivo Milenario Para Contribuir A La Seguridad Alimentaria Mundial. Oficina Regional Para América Latina Y El Caribe, FAO, 37, 66. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2009.03.010>
- FAO. (2011). Manual Técnico : Producción Artesanal De Semillas De Hortalizas Para La Huerta Familiar. D - FAO.
- Farfán, A., Ariza, S., Vargas, F., & Vargas, L. (2016). Mecanismos De Virulencia De *Escherichia Coli* Enteropatógena. *Revista Chilena De Infectología*, 33(4), 438–450.
- FDA, U.S. Department Of Health And Human Service, & Center For Food Safety And Applied Nutrition. (2017). Contains Nonbinding Recommendations Draft-Not For Implementation Compliance With And Recommendations For Implementation Of The Standards For The Growing, Harvesting, Packing, And Holding Of Produce For Human Consumption For Sprout Operations: Guidance For Industry Draft Guidance. <https://www.regulations.gov/>.
- FDA. (2020). Bacteriological Analytical Manual (BMA), Enumeración De *Escherichia Coli* Y Las Bacterias Coliformes (Capítulo 4). U.S. FOOD & DRUG.
- Figueroa, I., & Verdugo, A. (2005). Mecanismos Moleculares De Patogenicidad De *Salmonella* Sp. *Revista Latinoamericana De Microbiología*, 47(1–2), 25–42.
- García, J. G., Cervantes, F., Ramírez, J. G., Aguirre, C., Rodríguez, G., Ochoa, F., & Mendoza, M. (2017). Determination Of Lysine, Tryptophan And Protein In Germinated Of Creole And QPM Maize. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 8(4), 877–890.

- Garrido, E. C. (2018). Periodo De Aplicación De Agua Ozonizada Para Optimizar La Producción Y Valor Nutricional De Germinado Hidropónico De Maíz (*Zea Mays L.*) En Lambayeque. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Gil, L., Umaña, J., Pinillos, J., Lopera, S., & Gallardo, C. (2014). Evaluación Del Contenido De Riboflavina Por Método De Cromatografía Líquida De Alta Resolución (HPLC) En Harinas De Lenteja (*Lens Esculenta*) Germinada Y Sin Germinar. *Revista De La Asociación Colombiana De Ciencia Y Tecnología De Alimentos*, 22(32).
- Goyoaga Jorba, C. (2005). Estudio De Factores No Nutritivos En “Vicia Faba I.”: Influencia De La Germinación Sobre Su Valor Nutritivo. In Doctor. Universidad Complutense De Madrid.
- Grupo Técnico De Microbiología De La RENALOA. (2013a). Análisis Microbiológico De Los Alimentos, *Microorganismos Patógenos*. 2, 5–71.
- Grupo Técnico De Microbiología De La RENALOA. (2013b). Análisis Microbiológico De Los Alimentos, *Microorganismos Patógenos*. 2, 5–29.
- Guo, S., Ge, Y., & Na Jom, K. (2017). A Review Of Phytochemistry, Metabolite Changes, And Medicinal Uses Of The Common Sunflower Seed And Sprouts (*Helianthus Annuus L.*). *Chemistry Central Journal*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S13065-017-0328-7>
- Ha, T. J., Lee, M. H., Seo, W. D., Baek, I. Y., Kang, J. E., & Lee, J. H. (2017). Changes Occurring In Nutritional Components (Phytochemicals And Free Amino Acid) Of Raw And Sprouted Seeds Of White And Black Sesame (*Sesamum Indicum L.*) And Screening Of Their Antioxidant Activities. *Food Science And Biotechnology*, 26(1), 71–78. <https://doi.org/10.1007/S10068-017-0010-9>
- Hernández Rodríguez, J. (2015). La Quinoa, Una Opción Para La Nutrición Del Paciente Con Diabetes Mellitus. *Revista Cubana De Endocrinología*, 26(3), 0–0.
- Hong, Y.-H., Wen-Wan, C., Chen, M.-L., & Lin, B.-F. (2009). Ethyl Acetate Extracts Of Alfalfa (*Medicago Sativa L.*) Sprouts Inhibit Lipopolysaccharide-Induced Inflammation In Vitro And In Vivo. *Journal Of Biomedical Science*, 16(64).
- INCAP, & OPS. (2013). Cereales Y Sus Productos. Cadena (Contenido Actualizado De Nutrición Y Alimentación).
- INS, & Minsalud. (2011). Evaluación De Riesgos De *Listeria Monocytogenes* En Queso Fresco En Colombia.
- INS. (2011). Perfil De Riesgo *Salmonella Spp* (No Tifoidea) En Pollo Entero Y En Piezas.
- ISF. (2007). Tratamiento De Semillas Una Herramienta Para Una Agricultura Sustentable. Croplife, Comité De Tratamiento De Semillas Y Medio Ambiente De La Federación Internacional De Semillas. www.wordseed.org
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T. (2004). Pathogenic *Escherichia Coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123–140.
- Khattak, A. B., Zeb, A., & Bibi, N. (2008). Impact Of Germination Time And Type Of Illumination On Carotenoid Content, Protein Solubility And In Vitro Protein Digestibility Of Chickpea (*Cicer*

- Arietinum L.) Sprouts. *Food Chemistry*, 109(4), 797–801.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.046>
- Krapf, J., Kandzia, F., Brühan, J., Walther, G., & Flöter, E. (2019). Sprouting Of Oats: A New Approach To Quantify Compositional Changes. *Cereal Chemistry*, 96(6), 994–1003.
<https://doi.org/10.1002/cche.10203>
- Liu, B., Guo, X., Zhu, K., & Liu, Y. (2011). Nutritional Evaluation And Antioxidant Activity Of Sesame Sprouts. *Food Chemistry*, 129(3), 799–803.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.024>
- Lopardo, H. A., Predari, S. C., & Vay, C. (2011). Bacterias De Importancia Clínica. *Manual De Microbiología Clínica De La Asociación Argentina De Microbiología*, 1, 11–73.
- López, J., Fente, C., Romero, A., González, V., & Simal Lozano, J. (1990). Evolucion De Algunos Componentes En La Germinacion De La Alfalfa Destinada A Alimentacion Humana. *Anales De La Bromatología*, 1(May 2014), 65–69.
- Luque, O. M., Parillo, I., Sacachipana, R., Yucra, Y. E., Mamani, Y., & Baylor, L. R. (2019). Influencia Del Proceso De Germinación En El Contenido De Proteínas Y Aminoácidos De La Quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd*) Variedad Pasankalla Roja. *Revista De Investigación Científica*, 2(1), 25–30.
- Machado, A. L. De L., Barcelos, M. De F. P., Teixeira, A. H. R., & Nogueira, D. A. (2009). Evaluation Of Chemical Compounds In Fabaceae Sprouts For The Human Consumption. *Ciencia E Agrotecnologia*, 33(4), 1071–1078. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542009000400018>
- Martín Gordo, D. A. (2018). Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. *Revista De Investigación Agraria Y Ambiental*, 9(1), 81–104.
<https://doi.org/10.22490/21456453.1968>
- Martin, L. (2005). Más Energía Y Salud Con Los Germinados (Vol. 2). Oceano Ambar.
- Martinez, E. (2019). "Contenido De Hierro, Calcio Y Magnesio Durante El Proceso De Lentejas (*Lens Culinaris*) Bajo Cultivo Aeropónico ” [Universidad Nacional De Cuyo]. http://m.bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/13643/tesis-brom.-martinez-mara-eugenia-2019.pdf
- Martínez, R. (2016). Optimización Del Proceso De Germinación Para La Obtención De Derivados Saludables De Avena [Universidad Complutense De Madrid]. <https://digital.csic.es/handle/10261/172376>
- Masood, T., Shah, H. U., & Zeb, A. (2014). Effect Of Sprouting Time On Proximate Composition And Ascorbic Acid Level Of Mung Bean (*Vigna Radiate L.*) And Chickpea (*Cicer Arietinum L.*) Seeds. *Journal Of Animal And Plant Sciences*, 24(3), 850–859.
- Matilla, A. J. (2008). Desarrollo Y Germinación De Las Semillas (2nd Ed.). <https://www.researchgate.net/publication/271512205>
- Melendrez, L. D. (2011). Evaluación De Propiedades Fisicoquímicas Y Fitoquímicas De La Fracción

- Lipídica En La Semilla Del Fenogreco (*Trigonella Foenum-Graecum L.*) Obtenida A Nivel Laboratorio, Utilizando El Método De Extracción Por Decocción. Universidad De San Carlos De Guatemala.
- Mendoza, M. (2018). Inducción De Metabolitos De Interés Nutracéutico En Germinados De Frijol (*Phaseolus Vulgaris L.*) Y El Efecto De Su Consumo En Un Modelo De Dislipidemia. Universidad Autonoma De Querétaro.
- Mendoza-Sánchez, M., Pérez-Ramírez, I. F., Wall-Medrano, A., Martínez-Gonzalez, A. I., Gallegos-Corona, M. A., & Reynoso-Camacho, R. (2019). Chemically Induced Common Bean (*Phaseolus Vulgaris L.*) Sprouts Ameliorate Dyslipidemia By Lipid Intestinal Absorption Inhibition. *Journal Of Functional Foods*, 52(July 2018), 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.032>
- Michalczyk, M., Fiutak, G., & Tarko, T. (2019). Effect Of Hot Water Treatment Of Seeds On Quality Indicators Of Alfalfa Sprouts. *Lwt*, 113(June), 108270. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108270>
- Minsalud. (2015). Perfil De Riesgo De *Escherichia Coli* Enterotoxigenica Y Verotoxigenica En Queso Fresco. Instituto Nacional De Salud.
- Montoya, L. A., & Martínez, L. (2005). Análisis De Variables Estratégicas Para La Conformación De Una Cadena Productiva De Quinoa En Colombia. *Revista Innovar Journal Revista De Ciencias Administrativas Y Sociales*, 15(25), 103–119.
- Moragas, M., & Bustos, P. (2017). Recopilación Normas Microbiológicas De Los Alimentos Y Asimilados (Superficies, Aguas Diferentes De Consumo, Aire, Subproductos) Otros Parámetros Fisicoquímicos De Interés Sanitario. *Food Sanitizer*, 54.
- Morales Morales, A., Cruz Lázaro, E., Osorio Osorio, R., Sánchez Chávez, E., Montemayor-Trejo, J., & Márquez Quiroz, C. (2016). Contenido Mineral Y Rendimiento De Germinados De Frijol Cauquí Biofortificados. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 17, 3415–3425.
- Moreno, P. (1996). Estructura Y Formación De Las Semillas.
- Morón, M. J., Elías, L., Bressani, R., Navarrete, D., Gómez, R., & Molina, M. R. (2020). Biochemical And Nutritional Studies Of Germinated. *Archivos Latinoamericanos De Nutrición*, 35(3), 32920.
- NTC 4574. (2007). Microbiología De Alimentos Y Alimentos Para Animales. Método Horizontal Para La Detección De *Salmonella Spp.* Instituto Colombiano De Normas Técnicas Y Certificación ICONTEC, 571, 1–9.
- Obregón, D. C., & Zambrano, Z. J. (2017). Evaluación Microbiológica (Aerobios Mesófilos, *Bacillus Cereus* Y *Staphylococcus Aureus*) Y Químico - Toxicológica De Metales Pesados (Pb, Hg) En Leche Para Consumo Humano En El Distrito De Puente Piedra - Lima. Universidad Nacional Mayor De San Marcos.
- OTRI, O. De T. De R. De I. (2016a). Legumbres, Un Alimento Estrella. Unidad De Información Científica Y Divulgación De La Investigación, 4. <http://www.ucm.es/Otri-1>

- OTRI, O. De T. De R. De I. (2016b). Legumbres, Un Alimento Estrella. Unidad De Información Científica Y Divulgación De La Investigación, 4.
- Oyedeji, A. B., Mellem, J. J., & Ijabadeniyi, O. A. (2018). Potential For Enhanced Soy Storage Protein Breakdown And Allergen Reduction In Soy-Based Foods Produced With Optimized Sprouted Soybeans. *Lwt-Food Science And Technology*, 98(May), 540–545. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.019>
- Pająk, P., Socha, R., Broniek, J., Królikowska, K., & Fortuna, T. (2019). Antioxidant Properties, Phenolic And Mineral Composition Of Germinated Chia, Golden Flax, Evening Primrose, Phacelia And Fenugreek. *Food Chemistry*, 275(March 2018), 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.081>
- Pająk, P., Socha, R., Galkowska, D., Rożnowski, J., & Fortuna, T. (2014). Phenolic Profile And Antioxidant Activity In Selected Seeds And Sprouts. *Food Chemistry*, 143, 300–306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.064>
- Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Compuestos Fenólicos Y Su Presencia En Alimentos. *Revista Boliviana De Química*, 31(2), 68–81.
- Perez, A., & Zapata, S. (2015). Evaluación Del Comportamiento Comercial De Los Germinados Y Brotes Tiernos En La Ciudad De Medellín: Posibles Alternativas De Comercialización.
- Perez, I., Feregrino, A., & Jiménez, S. (2018). Contenido De Compuestos Bioactivos Y Capacidad Antioxidante En Germinados De Alfalfa (*Medicago Sativa*) Y Amaranto (*Amaranthus Cruentus*). *Congreso Internacional De Investigación E Innovación*, 1, 8223–8234. https://www.researchgate.net/profile/Anthony_Fow/publication/328565688_PROCESOS_DE_PRODUCCION_Y_APLICACIONES_DEL_BIOCARBON/links/5bd5089e299bf1124fa751b4/PROCESOS-DE-PRODUCCION-Y-APLICACIONES-DEL-BIOCARBON.pdf#page=266
- Pérez, J. De J. (2018). Evaluación Nutricional Y Bromatológica De Germinado De Maiz Hidropónico NS-82 Para La Alimentación Complementaria En Producción Animal. Universidad De Guayaquil.
- Pérez, L., Delgado, J., Rangel, P., Hernández, M., García, J., & Garay, A. (2017). Efecto Del Ácido Benzoico En La Capacidad Antioxidante De Germinados De Trigo. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 3397–3404.
- Ponce De León, C., Isasa, E., González, M., Cruz, M., & García, C. (2020). Interés De Los Germinados Y Su Seguridad Alimentaria. *Nutricion Clinica Y Dietetica Hospitalaria*, 40(1), 62–73. <https://doi.org/10.12873/401ponce>
- Ponce De León, C., Torija, E., & Matallana, M. C. (2013). Utilidad En La Alimentación De Algunas Semillas Germinadas: Brotes De Soja Y Trigo. *Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. Sec. Biol*, 107, 47–55.
- Przybysz, A., Wrochna, M., Małecka-Przybysz, M., Gawrońska, H., & Gawroński, S. W. (2016). Vegetable Sprouts Enriched With Iron: Effects On Yield, ROS Generation And Antioxidative System. *Scientia Horticulturae*, 203, 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.03.017>

- Quinhone, J., & Ida, E. I. (2015). Profile Of The Contents Of Different Forms Of Soybean Isoflavones And The Effect Of Germination Time On These Compounds And The Physical Parameters In Soybean Sprouts. *Food Chemistry*, 166, 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.012>
- Raimondi, G., Roupael, Y., Kyriacou, M. C., Di Stasio, E., Barbieri, G., & De Pascale, S. (2017). Genotypic, Storage And Processing Effects On Compositional And Bioactive Components Of Fresh Sprouts. *LWT - Food Science And Technology*, 85, 394–399. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.005>
- Ramirez, E. (2006). Frecuencia De Microorganismos Indicadores De Higiene Y Salmonella Y El Comportamiento De Grupos Patógenos De Escherichia Coli En Germinados De Soya. Universidad Autonoma Del Estado De Hidalgo.
- Ramos De Vega, M., & Sangronis, E. (2006). Influencia De La Germinación En La Composición Del Phaseolus Vulgaris Y Vigna Sinensis. *Agronomía Tropical*, 54(4).
- Reglamento (CE) 2073; Comisión De Regulación, Unión Europea, 15 De Noviembre De 2005.
- Rey, G., (2020). El Negocio De Los Germinados. *Revista Portafolio*. Recuperado De: <https://www.portafolio.co/tendencias/el-negocio-de-los-germinados-543362>
- Rodríguez, M. (2002). Principales Características Y Diagnóstico De Los Grupos Patógenos De Escherichia Coli. *Salud Publica De Mexico*, 44(5), 464–475.
- Rubio, N. (2016). Empaque Y Temperatura En La Vida Util De Brotes De Amaranto (*Amaranthus Caudatus L.*) Para Consumo Humano.
- Salas-Pérez, L., Gaucín Delgado, J. M., Preciado-Rangel, P., Gonzales Fuentes, J. A., Ayala Garay, A. V., & Segura Castruita, M. Á. (2018). Aplicación De Ácido Cítrico Incrementa La Calidad Y Capacidad Antioxidante De Germinados De Lenteja. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 20, 4301–4309. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i20.999>
- Salgado, P. (2009). Proteínas De Girasol: Aislamiento, Caracterización Y Aplicación En La Industria Alimentaria. [Universidad Nacional De La Plata]. File:///C:/Users/Cristian C Baquero/Desktop/Para Referenciar/Proteinas Girasol.Pdf
- SAN. (2011). Cereales Y Legumbres: La Base De Una Alimentación Sana. *Charlas Para La Comunidad*, 2, 1–4.
- Sánchez, J., Correa, M., & Castañesa-Sandoval, L. M. (2016). *Bacillus Cereus* Un Patógeno Importante En El Control Microbiológico De Los Alimentos. *Revista Facultad Nacional De Salud Pública*, 34(2), 16.
- Sánchez, M., Ojembarrena, A., & Suárez, J. (2018). Gramnegativos Infrecuentes Como Agentes Etiológicos De Infecciones Nosocomiales En Una Unidad De Cuidados Intensivos Neonatales. *Revista Española De Quimioterapia*, 3, 288–290.
- Sanchez, N., Jimenez, C., Cardador, A., Martin, S., & Dávila, G. (2016). Caracterización Física , Nutricional Y No Nutricional De Las Semillas De Inga Paterno. *Revista Chilena De Nutrición*, 43(4), 400–407. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182016000400010>

- Sangronis, E., & Machado, C. J. (2007). Influence Of Germination On The Nutritional Quality Of Phaseolus Vulgaris And Cajanus Cajan. *LWT - Food Science And Technology*, 40(1), 116–120. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.08.003>
- Sangronis, Elba, Machado, C., & Cava, R. (2004). Propiedades Funcionales De Las Harinas De Leguminosas (Phaseolus Vulgaris Y Cajan Cajan) Germinadas. *Interciencia*, 29(2), 80–85.
- Sarmiento, T. (2012). Impacto Del Procesamiento Sobre La Pared Celular Y Las Propiedades Hipoglucémicas Y Tecnofuncionales De Leguminosas.
- Shang, X., Dou, Y., Zhang, Y., Tan, J. N., Liu, X., & Zhang, Z. (2019). Tailor-Made Natural Deep Eutectic Solvents For Green Extraction Of Isoflavones From Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) Sprouts. *Industrial Crops And Products*, 140(January), 111724. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111724>
- Solorzano, A., Ruiz, J., Sansón, D., Hernández, J., Sotelo, J., & Mireles, A. (2019). Evaluación De Actividad Antioxidante En Germinados De Lenteja (*Lens Culinaris*) Producidos Bajo Luz Artificial En Distintos Rangos Nanometricos | Solorzano Sánchez | Jóvenes En La Ciencia. *Jóvenes En La Ciencia*, 1, 12–17. <http://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/2336>
- Sowmya, P., & Rajyalakshmi, P. (1999). Hypocholesterolemic Effect Of Germinated Fenugreek Seeds In Human Subjects. *Plant Foods For Human Nutrition*, 53(4), 359–365. <https://doi.org/10.1023/A:1008021618733>
- Suárez, D., & Melgarejo, L. M. (2010). Biología Y Germinación De Semillas. In *Experimentos En Fisiología Vegetal* (1st Ed., Vol. 1, Pp. 13–24). Goth's Imágenes Taller Editorial.
- Świeca, M., Baraniak, B., & Gawlik-Dziki, U. (2013). In Vitro Digestibility And Starch Content, Predicted Glycemic Index And Potential In Vitro Antidiabetic Effect Of Lentil Sprouts Obtained By Different Germination Techniques. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1414–1420. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.122>
- Świeca, M., Dziki, D., & Gawlik-Dziki, U. (2017). Starch And Protein Analysis Of Wheat Bread Enriched With Phenolics-Rich Sprouted Wheat Flour. *Food Chemistry*, 228, 643–648. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.052>
- Tarazona, J. C. (2018). Contenido Nutricional Del Germinado De Grano De Maíz (Zea Mays) A Diferentes Edades De Cosecha En El Tropic. In *Facultad De Zootecnia. Universidad Nacional Agraria De La Selva*.
- Tejada Rico, M. A. (2018). Estudio Sobre Grano De Ajonjolí (*Sesame Indicum* Sp.) Y Su Procesamiento En La Actualidad. *Universidad Nacional Abierta Y A Distancia UNAD*.
- Tian, B., Xie, B., Shi, J., Wu, J., Cai, Y., Xu, T., Xue, S., & Deng, Q. (2010). Physicochemical Changes Of Oat Seeds During Germination. *Food Chemistry*, 119(3), 1195–1200. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.035>
- Torrez, A. A. A., Chevreuil, L. R., De Sousa, K. A., Sampaio, P. De T. B., Bruno, F. S., & Sales-Campos, C. (2018). Tratamientos Químico Y Biológico En Semillas De Aniba *Rosaeodora* Para El Control De *Heilipus Odoratus* (Coleoptera, Curculionidae, Molytinae) En Viveros,

- Amazonas, Brasil. Bosque, 39(2), 299–308. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002018000200299>
- USA Sunflower Association. (2020). Semillas De Girasol. recuperado de: <http://www.girasol-usa.com/index.php>, fecha de consulta 25/11/2020.
- Vallory, M. (2020). Germinados De Alfalfa Y Fenogreco En La Cocina Diaria. Soy Como Como. <https://soycomocomo.es/articulo-vallory/germinados-de-alfalfa-y-fenogreco-en-la-cocina-diaria-2>
- Vázquez-Vázquez, C., Borroel-García, V. J., Espino-Paredes, B. Y., Santa María-Hinojosa, F. N., García-Hernández, J. L., & Ramírez-Aragón, M. G. (2020). Efecto De La Adición De Lixiviado Y Azufre En La Capacidad Antioxidante Y Contenido Fenólico En Brotes De Germinados De Maíz. *Revista Terra Latinoamericana*, 38(3), 481–487. <https://doi.org/10.28940/Terra.V38i3.697>
- Vera, A., González, G., Domínguez, M., & Bello, H. (2013). Principales Factores De Virulencia De *Listeria monocytogenes* Y Su Regulación. *Revista Chilena De Infectología*, 30(4), 407–416.
- Zhao, S., Zhang, L., Gao, P., & Shao, Z. (2009). Isolation And Characterisation Of The Isoflavones From Sprouted Chickpea Seeds. *Food Chemistry*, 114(3), 869–873. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.026>
- Zula, K. (2013). Propuesta Gastronómica, Uso Y Aplicación De Los Brotes De Soja Y Alfalfa. Universidad Tecnológica Equinoccial.

ANEXO I

PRINCIPALES TECNICAS DE MONTAJE DE GERMINADOS PARA PRODUCCIÓN ARTESANAL

1. Método del tarro o frasco

Este es el recipiente más fácil de conseguir en casa y durante décadas ha demostrado ser muy eficiente para el proceso. Los pasos a seguir son:

Se tomo de ejemplo la alfalfa, pero este método aplica para todos los germinados, solo varia el tiempo de remojo y de cosecha y si se debe o no exponer a la luz.

MÉTODO EN FRASCO
Medir 2 cucharadas de semillas (previamente seleccionadas y desinfectadas)
Llenar con agua potable a temperatura ambiente ¹ las $\frac{3}{4}$ partes del frasco y adicionar las semillas
Mezclar con una cuchara de palo o metal, y sacar las semillas que queden flotando (semillas dañadas)
Descarte el agua y repita el proceso por lo menos en 2 ocasiones más
Volver a llenar las $\frac{3}{4}$ partes del tarro con agua potable y a temperatura ambiente y cubrir con una tela o malla ² . (El tiempo de remojo va a depender del tipo de semilla, tabla 3.) Para el ejemplo de la alfalfa esta se debe dejar 4 a 6 horas en remojo.
Drenar el agua de remojo una vez transcurrido el tiempo necesario.
Enjuagar las semillas con agua potable y a temperatura ambiente, hacer pasar el agua por las paredes del tarro no directamente sobre las semillas y gire el frasco con suavidad. ³
Dejar 5 minutos al agua y luego voltear el tarro para que esta salga.
El frasco debe permanecer invertido y en posición inclinada para evitar que se estanque agua y se pudran las semillas.
Exponer al sol ⁴ el 4 o 5 día de germinación
Lavado final 8 horas antes de la cosecha

Cosechar y empacar o guardar: escurrir el frasco y sacar los germinados, colocarlos en una toalla para que se sequen⁵, una vez secos empacarlos o guardarlos en la nevera.

¹se considera agua a temperatura ambiente entre 17°C y 24°C

²la tela o malla que se escoja debe permitir la entrada de oxígeno al frasco, por tanto, debe ser de fibras abiertas.

³el enjuague se debe realizar por lo menos cada 10 horas dependiendo del tipo de semilla

⁴este paso solo es necesario para germinados de hoja como la alfalfa, brócoli, repollo, col rizada, rábano, berro, chía y linaza. Permite activar la producción de clorofila.

⁵no guarde los germinados hasta que estén bien secos, pues se descomponen más rápido y se vuelven blandos.

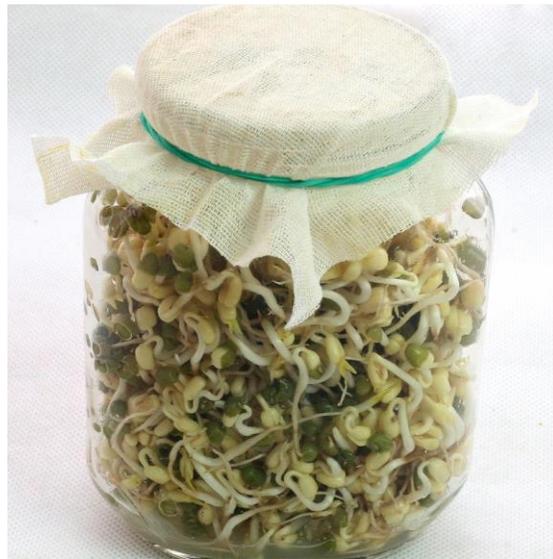


Ilustración 4. Frasco casero para germinar. tomada de :<https://www.cucute.com/tarro-para-germinar-semillas-con-soporte-600-ml-cristal-germline.html>



Ilustración 5. Frasco para germinar comercial. tomado de: <https://www.cucute.com/tarro-para-germinar-semillas-con-soporte-600-ml-cristal-germline.html>

2. Método de la bolsa

Este método es aún más sencillo que el método del tarro ya que cada persona puede confeccionar su propia bolsa de germinar.

MÉTODO DE LA BOLSA

Confección de la bolsa: para una bolsa de capacidad de 1 litro, se requiere un trozo de tela de algodón, cáñamo o lino de tejido suelto de aproximadamente 30 cm.

Colocar las semillas en el centro de la tela, juntar las 4 puntas para formar una bolsa y cerrarlas con una goma o cordel^{1,2}.

Sumergir la bolsa en un balde o frasco con agua³ por un tiempo determinado (4-8Horas); esta consiste en la etapa de remojo⁴.

Luego para el enjuague colocar la bolsa en un fregadero sobre el chorro de agua³, este procedimiento se debe realizar mínimo dos veces al día (en mañana y en la noche).

Dejar la bolsa colgada sobre un fregadero y en un clima cálido, ni muy caliente ni muy frío. Donde le dé la luz del sol indirectamente.

Una vez transcurrido el tiempo de cosecha⁵, abra la bolsa y saque los germinados, lavarlos con abundante agua³.

Colocar los germinados en una toalla para que se sequen, una vez secos empacarlos o guardarlos en la nevera.

¹No se debe abrir hasta que los germinados estén maduros.

²También se puede coser la tela para formar la bolsa.

³Agua potable y a temperatura ambiente (17-24°C)

⁴Considerar los tiempos de remojo dependiendo de la semilla a germinar

⁵El tiempo de cosecha depende del tipo de semilla a germinar



*Ilustración 6. Bolsa germinadora comercial tomada de:
https://www.codisverd.com/sojamatic?product_id=669*

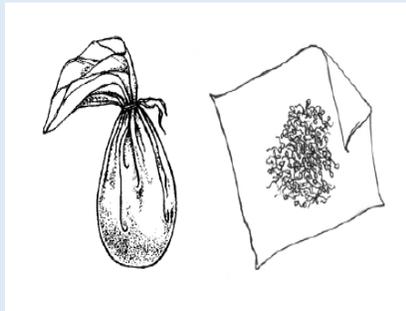


Ilustración 7. Bolsa germinadora artesanal. Tomado de Braunstein, M.,2012.

Precauciones: los germinados son frágiles por tanto hay que manipular la bolsa con delicadeza. El método de la bolsa está recomendado para las legumbres cuyas semillas son de mayor tamaño y más resistentes.

3. Método de la bandeja

Su mayor cualidad es que mediante esta técnica los germinados crecen de forma vertical, como cualquier planta sembrada en tierra hacia el cielo. Por su disposición se da más fácil la distribución del aire lo que evita humedad y con ello producción de moho.

MÉTODO DE LA BANDEJA

La bandeja: se puede emplear cualquier tipo de bandeja plástica que tenga disponible, o puede comprarla en cualquier mercado, se pueden emplear incluso bandejas de transportar alimentos en casa.

Una vez se tenga la bandeja se le deben hacer orificios para facilitar la salida del agua. En uno de los extremos los orificios deben ser más grandes para el drenaje del agua durante los lavados.

Una vez se tenga la bandeja con sus perforaciones se procede a distribuir las semillas¹ sobre toda la superficie de la bandeja.

Se debe humedecer las semillas al menos dos veces al día (en la mañana y en la noche), para ello se adiciona el agua² y se colocan las bandejas en posición inclinada colocando debajo de uno de los extremos una madera o cualquier objeto que lo mantenga inclinado para facilitar la salida del agua.

Cuando los brotes estén listos cosechar, lavar con agua², poner a secar. Una vez secos empacarlos o guárdalos en la nevera.

¹ las semillas deben ser previamente lavadas y tratadas, además dejadas en remojo (6-8 horas dependiendo de la semilla) se debe realizar antes del montaje en las bandejas, por ejemplo, mediante el método del frasco.

² Agua potable y a temperatura ambiente (17-24°C).

Es recomendable colocar una toalla de papel absorbente en el fondo de la bandeja para lograr mantener la humedad, pero sin sobre humedecer las semillas.



Ilustración 8. Montaje de bandejas de germinación. Tomado de [:https://www.tekcrispy.com/2017/10/03/nuevo-metodo-cultivo-mas-eficiente/](https://www.tekcrispy.com/2017/10/03/nuevo-metodo-cultivo-mas-eficiente/)



Ilustración 9. Bandejas comerciales para producir germinados. Tomado de: <http://www.lonchura.com/index.php/especies-2/815-germinar-semillas-con-seguridad>

*También se pueden emplear otro tipo de recipientes como platos hondos, bandejas de barro, bambú etc... El método de siembra es el mismo.

4. Método de la toalla

Este método es recomendado solo cuando los demás métodos fallan ya que por sus características las toallas retienen mucha humedad y excipientes de las semillas que son un

medio favorable para la proliferación de microorganismos; sin embargo esta cualidad de retención de humedad la convierte en la única alternativa para algunas semillas muy exigentes y se emplea principalmente para semillas como las legumbres grandes, la avena pelada y semillas mucilaginosas como las de chíá, linaza y berros, así como para las almendras (Braunstein, M.,2012).

Una opción a este método es mantener las semillas en la toalla los 2 primeros días y luego pasarlas a un frasco o bandeja de germinación, mejorando así la calidad del producto final.

MÉTODO DE LA TOALLA
Para este método se emplea una toalla de algodón blanca, también se pueden emplear telas de lino o cáñamo.
Una vez se tenga la toalla se procede a humedecer esta con agua ¹ hasta que quede bien empapada.
La toalla se debe colocar sobre una superficie firme y limpia como una bandeja o tabla de picar en un lugar específico
Posteriormente se colocan las semillas dispersas por la mitad de la toalla ² .
Luego tomar cada uno de los extremos de la toalla y llevarlos hasta la mitad para cubrir las semillas ³ .
Una vez al día se debe desdoblar la toalla y humedecer las semillas con agua ¹ , para esto se puede emplear un rociador.
Una vez desarrollados los germinados cosechar, lavar con agua ¹ , poner a secar.
Una vez secos empacar y refrigerar.
¹ Agua potable y a temperatura ambiente (17-24°C).
² Las semillas deben ser previamente lavadas y tratadas, además dejadas en remojo (el tiempo depende de la semilla) se debe realizar antes del montaje, por ejemplo, mediante el método del frasco.
³ Opcionalmente puede colocar sobre la toalla algún recipiente que ayude a conservar la humedad de la toalla



Ilustración 10. Montaje método de la toalla. Tomado de: <https://mitallerdebienestar.com/2015/07/germinados-de-semillas-de-chia/>



Ilustración 11. Método de la toalla. Tomado de: <https://sensiseeds.com/es/blog/cual-es-la-mejor-forma-de-germinar-semillas/>

Precauciones: observar cuidadosamente si hay formación de mohos o biopelículas que evidencien contaminación, debido a las condiciones de humedad del montaje.

5. Método de la tierra

Este método es menos utilizado debido a la complejidad de conseguir tierra adecuada por ejemplo en una gran ciudad, sin embargo, por este método se obtienen germinados de mejor color y apariencia.

MÉTODO DE LA TIERRA

La tierra: se debe emplear tierra ligera y aireada conocida en los viveros como mantillo, que no es compacta como la de jardín.

El recipiente: para este método se pueden emplear las bandejas del método de la bandeja, o jarros de barro e inclusive bambú.

Consiste en rellenar con tierra el recipiente seleccionado (sin agujeros como en el método de la bandeja)¹.

Humedecer la tierra con agua² de forma homogénea.

Añadir las semillas previamente tratadas³ sobre la tierra sin que esta las cubra.

Cubrir con una segunda bandeja colocando una encima de la otra.

Humedecer con agua y ayuda de un aspersor las bandejas a diario si la tierra no está muy húmeda.

Se deben dejar cubiertas y en oscuridad por 2 días.

Pasado ese tiempo se exponen a la luz para la producción de clorofila, puede ser colocándolos cerca de una ventana.

Una vez los germinados estén de aproximadamente 8 mm y con hojas verdes se puede proceder a cosecharlos.

Lavar los germinados y ponerlos a secar.

Una vez secos empacar y refrigerar.

¹El grosor de la capa de tierra va a depender de la semilla, por ejemplo: trigo: 6mm, girasol: 12 mm

²Agua potable y a temperatura ambiente (17-24°C).

³Antes de introducir las semillas en la tierra, estas se deben tratar por el método del tarro los dos primeros días hasta que brote la semilla.



Ilustración 12. Método de la tierra. Tomado de <http://www.terra.org/categorias/articulos/cultiva-germinados-en-casa>



Ilustración 13. Método de la tierra en jarros de porcelana. Tomado de <https://www.ecologiaverde.com/plantar-lentejas-cuando-y-como-hacerlo-2136.html>

ANEXO II

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL AGUA POTABLE SEGÚN RESOLUCIÓN 2115 DE 2007

Tabla 13. Características físicas del agua potable. Tomado de Resolución 2115 de 2007.

Características físicas	Expresadas como	Valor máximo aceptable
Color aparente	Unidades de platino cobalto (UPC)	15
Olor y sabor	Aceptable o no aceptable	Aceptable
Turbiedad	Unidades nefelométricas de turbiedad (UNT)	2
Conductividad	Microsiemens/cm.	1000
pH	-	6,5-9,0

Tabla 14. Características Químicas que tienen reconocido efecto adverso en la salud. Tomado de Resolución 2115 de 2007.

Elementos, compuestos químicos y mezclas de compuestos químicos diferentes a los plaguicidas y otras sustancias	Expresados como	Valor máximo aceptable (mg/L)
Antimonio	Sb	0,02
Arsénico	As	0,01
Bario	Ba	0,7
Cadmio	Cd	0,003
Cianuro libre y disociable	CN	0,05
Cobre	Cu	1,0
Cromo total	Cr	0,05

Mercurio	Hg	0,001
Níquel	Ni	0,02
Plomo	Pb	0,01
Selenio	Se	0,01
Trihalometanos totales	THMs	0,2
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP)	HAP	0,02

Tabla 15. Características Químicas que tienen implicaciones sobre la salud. Tomado de Resolución 2115 de 2007.

Elementos, compuestos químicos y mezclas de compuestos químicos que tienen implicaciones sobre la salud humana	Expresados como	Valor máximo aceptable (mg/L)
Carbono orgánico total	COT	5,0
Nitritos	NO ₂	0,1
Nitratos	NO ₃	10
Fluoruros	F	1,0

Tabla 16. Características microbiológicas del agua potable. Tomado de Resolución 2115 de 2007.

Técnicas utilizadas	Coliformes totales	Escherichia coli
Filtración por membrana	0 UFC/100 cm ³	0 UFC/100 cm ³
Enzima sustrato	< 1 microorganismo en 100 cm ³	< 1 microorganismo en 100 cm ³
Sustrato definido	0 microorganismos en 100 cm ³	0 microorganismos en 100 cm ³
Presencia-ausencia	Ausencia en 100 cm ³	Ausencia en 100 cm ³

