



# **BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA – ALIMENTOS

**“APLICACIÓN DE MÉTODOS COMBINADOS PARA LA INACTIVACIÓN DE  
SALMONELLA TYPHIMURIUM EN AGUA DE COCO (*COCOS NUCIFERA L.*)”**

**TESIS**

Presentada para obtener el título de

**Licenciatura de Químico Fármaco Biólogo**

Presenta

p.Q.F.B. Amairani Paola Ramírez González

Director de tesis

D.C. Carlos Enrique Ochoa Velasco

Asesor

D.C. Silvia del Carmen Beristain Bauza

PUEBLA, PUE. JUNIO DE 2018



**BUAP**

Puebla, Pue. a 26 de Febrero de 2018

**C. RAMIREZ GONZALEZ AMAIRANI PAOLA  
PRESENTE**

Toda vez que se cuenta con la aprobación del Coordinador del Área de Bioquímica y Alimentos,

DC. CARLOS ENRIQUE OCHOA VELASCO, Director de Tesis,

DC. SILVIA DEL CARMEN BERISTAIN BAUZA, Asesor,

se le comunica la autorización de su anteproyecto de tesis denominado:

**"Aplicación de métodos combinados para la inactivación de Salmonella  
Typhimurium en agua de coco (cocos nucifera L.)"**

Y con esta fecha se registra en los archivos de la Dirección de esta Facultad, para los fines legales a los que haya lugar

Atentamente

"Pensar bien para vivir mejor"

**DR. JORGE RAÚL CERNA CORTEZ  
DIRECTOR**



Facultad  
de Ciencias  
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9  
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel  
Puebla, Pue. C.P. 72540  
01 (222) 229 55 00 Ext. 7390 y 01 (222) 244 31 06



**BUAP** Puebla, Pue. a 8 de Mayo de 2018

DC. TERESA SOLEDAD CID PEREZ

DC. ADDI RHODE NAVARRO CRUZ

MEC. OBDULIA VERA LOPEZ

Con toda atención comunico a Uds. que se les propone como integrantes de la Comisión Revisora de Tesis que presenta el (la) Pasante de la Carrera de QUIMICO FARMACOBIOLOGO

**RAMIREZ GONZALEZ AMAIRANI PAOLA**

cuyo título es :

**"Aplicación de métodos combinados para la inactivación de Salmonella Typhimurium en agua de coco (cocos nucifera L.)"**

Realizada en el Area de Bioquímica y Alimentos;

asimismo, les ruego que a la brevedad posible emitan el dictamen correspondiente.

Atentamente

"Pensar bien para vivir mejor"

DR. JORGE RAÚL CERNA CORTEZ

DIRECTOR

C.c.p. Archivo

Facultad  
de Ciencias  
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9  
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel  
Puebla, Pue. C.P. 72540  
01 (222) 229 55 00 Ext. 7380 y 01 (222) 244 31 06



**BUAP**

**DR. JORGE RAÚL CERNA CORTEZ**  
**DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS**  
**PRESENTE**

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de la Tesis del alumno  
de la carrera de QUIMICO FARMACOBIOLOGO  
**RAMIREZ GONZALEZ AMAIRANI PAOLA**

realizada en el area de Bioquímica y Alimentos, comunican a Ud. la aprobación  
de la misma con la siguiente redacción:

**APLICACIÓN DE MÉTODOS COMBINADOS PARA LA INACTIVACIÓN DE  
SALMONELLA TYPHIMURIUM EN AGUA DE COCO (Coco nucifera L.)"**

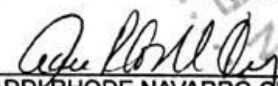
Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan, a los  
31 días del mes de Mayo de 2018

**Atentamente**

"Pensar bien para vivir mejor"



  
\_\_\_\_\_  
DC. TERESA SOLEDAD CID PEREZ

  
\_\_\_\_\_  
DC. ADDYRHODE NAVARRO CRUZ

  
\_\_\_\_\_  
MEC. ABDULIA VERA LOPEZ

C.c.p. Archivo

Vo. Bo.  


Facultad  
de Ciencias  
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9  
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel  
Puebla, Pue. C.P. 72540  
01 (222) 229 55 00 Ext. 7390 y 01 (222) 244 31 06



**MTRA. MARIA ELENA RUIZ VELAZQUEZ**  
**DIRECCION DE ADMINISTRACION ESCOLAR**  
**PRESENTE**

En relacion al oficio de fecha 4 de Junio de 2018, signado por el Coordinador del Departamento de Bioquímica y Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas, me permitió comunicar a Ud. el nombre de los Catedráticos que integran el Jurado de Examen Profesional de la Carrera de QUIMICO FARMACOBIOLOGO que sustentará:

**RAMIREZ GONZALEZ AMAIRANI PAOLA**

**JURADO**

DC. ADDI RHODE NAVARRO CRUZ  
DC. TERESA SOLEDAD CID PEREZ  
MEC. OBDULIA VERA LOPEZ


Examen que se realizará el día 29 de Junio de 2018, a las 12:00 horas en el SALON 201 del Edificio FCQ5.

Esperando una respuesta favorable al presente, le reitero mi atenta y distinguida consideracion

Atentamente

"Pensar bien para vivir mejor"

H. Puebla de Z. a 8 de Junio de dos mil dieciocho

  
**DR. JORGE RAÚL CERNA CORTÉZ**  
**DIRECTOR**



**C.c.p. Archivo**

Facultad  
de Ciencias  
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9  
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel  
Puebla, Pue. C.P. 72540  
01 (222) 229 55 00 Ext. 7390 y 01 (222) 244 31 06



## DEDICATORIA

Lleno de amor y esperanza, dedico este proyecto, a cada uno de mis seres queridos, quienes han sido mis pilares para seguir adelante.

Es para mí una gran satisfacción poder dedicarles a ellos, que, con mucho esfuerzo, esmero este trabajo.

A mis padres, **MARLENE Y JOEL** por enseñarme que lo importante de la vida se logra con esfuerzo y perseverancia, a no rendirme ante lo difícil, por educarme, comprenderme y guiarme a ser quien soy.

A mi hija **PAULINA** quien me sigue motivando día a día para terminar esta etapa de mi vida.

A mi compañero de vida **MIGUEL**, por apoyarme y sacarme una sonrisa ante todas las dificultades, quien siempre me ha dicho que si la vida fuera fácil cualquier persona lo haría.

A mi abuelita **LALI** porque sé que ella se encuentra orgullosa de mí y siempre confió en mí.

A mis suegros **YUNERY Y ENRIQUE** por su apoyo, confianza que me han brindado en cada momento.

A mis directores **Dr. Carlos Ochoa y Dra. Silvia** por el tiempo, dedicación y paciencia en la elaboración de este proyecto.

Sin dejar atrás a toda mi familia por confiar en mí, a mis abuelitos **Adelina y Gilberto**, tías **Janifer, Claudia y Cinthia**, y hermana **Karen** gracias por ser parte de mi vida y por permitirme ser parte de su orgullo

# ÍNDICE

## Índice de figuras

## Índice de tablas

<b>Resumen</b> .....	1
<b>1.Introducción</b> .....	2
<b>2.Justificación</b> .....	3
<b>3. Objetivos</b> .....	4
3.1 Objetivo general.....	4
3.2 Objetivos particulares. ....	4
<b>CAPITULO I</b> .....	5
<b>4. Marco teórico</b> .....	5
<b>4.1 Coco (<i>Cocos nucifera</i> L.)</b> .....	5
4.1.1 Aprovechamiento del coco ( <i>Cocos nucifera</i> L.).....	6
4.1.2 Características del agua de coco y sus propiedades medicinales.....	8
4.1.3 Composición del agua de coco .....	9
<b>4.2 Familia de las Enterobacterias</b> .....	10
4.2.1 Estructura de la familia <i>Enterobacteriaceae</i> .....	10
4.2.2 <i>Salmonella</i> Typhimurium .....	11
4.2.3 Estructura <i>Salmonella</i> Typhimurium .....	11
<b>4.3 Métodos Combinados</b> .....	12
<b>4.4 Luz ultravioleta de onda corta UV-C</b> .....	14
4.4.1 Luz ultravioleta de onda corta y su inactivación de microorganismos	14
4.4.2 Inactivación de bacterias con radiación UV-C.....	15
<b>4.5 Antimicrobianos Naturales</b> .....	16
4.5.1 Vainillina .....	16
4.5.2 Mecanismo antimicrobiano de vainillina .....	17
<b>5. Esquema de trabajo</b> .....	19

<b>6. Materiales y métodos</b> .....	20
<b>CAPITULO II</b> .....	22
<b>7. Metodología</b> .....	22
7.1 Obtención de la muestra.....	22
7.2 Microorganismo .....	22
7.3 Reactivación de <i>Salmonella</i> Typhimurium .....	22
7.4 Adaptación del microorganismo.....	22
7.5 Solución de Vainillina.....	23
7.6 Evaluación Sensorial .....	23
7.7 Métodos Combinados.....	24
7.8 Recuento de microorganismo .....	26
7.9 Análisis estadístico .....	26
<b>CAPITULO III</b> .....	27
<b>8. Resultados y discusión.</b> .....	27
8.1 Análisis sensorial de agua de coco con diferentes concentraciones de antimicrobiano .....	27
8.2 Efecto a diferentes concentraciones de vainillina (25, 50, 100 ppm) sobre agua de coco inoculada con <i>S. Typhimurium</i> .....	28
8.3 Efecto de la luz ultravioleta de onda corta sobre el agua de coco inoculada con <i>S. Typhimurium</i> .....	29
8.4 Efecto del almacenamiento con métodos combinados (temperatura y antimicrobiano) sobre <i>S. Typhimurium</i> inoculada en agua de coco .....	30
8.5 Efecto de métodos combinados [Luz UV-C (1 y 2 lámparas), vainillina y temperatura) sobre agua de coco inoculada con <i>S. Typhimurium</i> .....	32
<b>9. Conclusiones</b> .....	34
<b>10. Sugerencias</b> .....	35
<b>11. Bibliografía</b> .....	36

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> <i>Cocos nucifera</i> L .....	6
<b>Figura 2</b> Estructura general de la familia <i>Enterobacteriaceae</i> .....	10
<b>Figura 3</b> Puntos más importantes de la refrigeración.....	13
<b>Figura 4</b> Efecto de la luz ultravioleta de onda corta sobre el ADN. ....	15
<b>Figura 5</b> Vaina de vainilla. ....	16
<b>Figura 6</b> Estructura química de la vainillina .....	17
<b>Figura 7</b> Equipo de procesamiento de luz ultravioleta de onda corta.....	24
<b>Figura 8</b> Análisis sensorial de agua de coco a diferentes concentraciones del Antimicrobiano (vainillina) 25ppm, 50ppm ,100ppm y agua de coco natural. ....	27
<b>Figura 9</b> Efecto de las concentraciones de vainillina (25, 50, 100 ppm) sobre agua de coco inoculada con <i>S. Typhimurium</i> .....	28
<b>Figura 10</b> Efecto de la luz ultravioleta de onda corta sobre el agua de coco inoculada con <i>S. Typhimurium</i> . ....	30
<b>Figura 11</b> Efecto de métodos combinados (temperatura y antimicrobiano sobre agua de coco inoculada con <i>S. Typhimurium</i> .....	31
<b>Figura 12</b> Efecto de métodos combinados [luz UV-C (3.5 min) temperatura y antimicrobiano] sobre agua de coco inoculada con <i>S. Typhimurium</i> . ....	33
<b>Figura 13</b> Efecto de métodos combinados [luz UV-C (7 min) temperatura y antimicrobiano] sobre agua de coco inoculada con <i>S. Typhimurium</i> . ....	33

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1</b> Taxonomía de <i>Cocos nucifera</i> L.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>Tabla 2</b> Beneficios del consumo de agua de coco ( <i>Cocos nucifera</i> L.) .....	6
<b>Tabla 3</b> Principales países productores de coco.....	7
<b>Tabla 4</b> Valor nutricional del agua de coco ( <i>Cocos nucifera</i> L). .....	9
<b>Tabla 5</b> Equipos utilizados en esta investigación. ....	20
<b>Tabla 6</b> Métodos utilizados en esta investigación .....	21
<b>Tabla 7</b> Escala hedónica de 9 puntos para la realización de la evaluación sensorial en agua de coco ( <i>Cocos nucifera</i> L.).....	23
<b>Tabla 8</b> Métodos combinados para alargar la vida en anaquel del agua de coco	25

## Resumen

El agua de coco es un alimento rico en sales minerales ampliamente utilizado como bebida hidratante; sin embargo, el rápido crecimiento microbiano es una limitante para su comercialización. El objetivo de este trabajo fue aplicar métodos combinados (UV-C y vainillina) para la inactivación de *S. Typhimurium* en agua de coco y evaluar su estabilidad durante el almacenamiento a dos temperaturas. Se utilizó agua de coco obtenida de manera aséptica de cocos frescos. Se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de vainillina sobre las características sensoriales (prueba hedónica) y microbiológicas (*S. Typhimurium*) del agua de coco y se decidió la de mayor efecto antimicrobiano y menor efecto sensorial para su uso como antimicrobiano natural en el proceso del agua de coco por métodos combinados. Posteriormente, el agua de coco fue inoculada con *S. Typhimurium*, procesada con luz UV-C (1, 2 y 3 lámparas de UV-C), adicionada con vainillina y almacenada a temperatura ambiente (22°C) y refrigeración (5°C). El efecto de los métodos combinados en agua de coco se evaluó durante 30 días de almacenamiento. El agua de coco no presentó afectación significativa ( $p < 0.05$ ) en la aceptación sensorial por la adición de vainillina, alcanzando un valor promedio de 7 (me gusta moderadamente) en una escala hedónica; se observó que a una concentración de 100 ppm se redujo 0.7 ciclos logarítmicos de *S. Typhimurium*. El proceso con luz UV-C alcanzó una reducción de *S. Typhimurium* de 3.8 y 5.2 ciclos logarítmicos cuando se procesó con 1 y 2 lámparas de UV-C, respectivamente. Mientras que con el uso de 3 lámparas no se detectó la presencia de *S. Typhimurium*. Durante el almacenamiento, se observó efecto significativo por la adición de vainillina en el desarrollo de *S. Typhimurium* en agua de coco almacenada a 22°C, mientras que a 5°C la adición de vainillina no tuvo efecto significativo en el desarrollo del microorganismo. El agua de coco procesada durante 7 minutos y almacenada a 5°C presentó una vida en anaquel adecuada durante 30 días de almacenamiento, por lo que la utilización de métodos combinados puede ser una alternativa al procesamiento y comercialización de agua de coco.

## 1. Introducción

El coco (*Cocos nucifera* L.) se distribuye principalmente en áreas tropicales y subtropicales, donde es cultivado para la obtención de aceite y agua. Una parte de su fruto es el agua de coco, a la cual se le atribuyen numerosas propiedades, tales como antibacteriano, antifúngico, antiviral, antiparasitario, antidermico, antioxidante, hipoglucemiante, hepatoprotector, entre otras. El agua de coco es rica en nutrientes y minerales esenciales para la salud humana. Sin embargo, para que se aprovechen todos sus nutrientes, es necesario su consumo en fresco o utilizando tecnologías no convencionales para que durante el almacenamiento y distribución mantenga las características deseables para su consumo. No obstante, el agua de coco es susceptible al ataque de microorganismos deteriorativos y/o patógenos, dentro de los cuales se pueden encontrar a *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus cereus*, entre otros.

La industria de alimentos trata constantemente de satisfacer las exigencias de los consumidores, los cuales demandan alimentos más frescos y nutritivos, pero que sean microbiológicamente seguros para su consumo. Dado lo anterior, se han impulsado el diseño, desarrollo y aplicación de nuevas tecnologías y metodologías que permitan obtener productos con características semejantes al alimento fresco. En este sentido, el uso de luz ultravioleta de onda corta (UV-C), es muy prometedor ya que no produce residuos químicos en el alimento y ha sido aprobada por la FDA (2001) como un método de pasteurización en frío. Por otra parte, el uso de antimicrobianos naturales se ha incrementado recientemente, ya que se busca reducir el uso de productos químicos que son cada vez más prohibidos debido a los problemas que causa su consumo aún a dosis bajas.

Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de métodos combinados (UV-C y vainillina) sobre la inactivación microbiana de *Salmonella* Typhimurium en agua de coco, así como su estabilidad durante el almacenamiento a diferentes temperaturas.

## **2. Justificación**

El agua de coco es una bebida refrescante que se consume principalmente por su sabor dulce y fresco. Sin embargo, posee una adecuada cantidad de nutrientes lo que genera que sea fácilmente contaminable por microorganismos deteriorativos y patógenos causantes de enfermedades transmitidas por los alimentos; por ejemplo, la salmonelosis. Por otra parte, actualmente se ha incrementado el interés en la aplicación de métodos combinados con la finalidad de incrementar la vida en anaquel de productos alimentarios y evitar el daño generado por los procesos térmicos; al respecto, se han evaluado diferentes antimicrobianos naturales para evitar el uso de antimicrobianos sintéticos que cada vez son más prohibidos en el área de alimentos. Debido a lo anterior, es importante buscar diferentes métodos combinados que garanticen la estabilidad microbiana del agua de coco sin afectar las características deseadas por el consumidor.

### 3. Objetivos.

#### 3.1 Objetivo general.

- Aplicar métodos combinados (UV-C y vainillina) para la inactivación de *Salmonella* Typhimurium en agua de coco y evaluar su estabilidad durante el almacenamiento a diferentes temperaturas.

#### 3.2 Objetivos particulares.

- Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de vainillina en la aceptación sensorial de agua de coco.
- Evaluar la actividad antimicrobiana de diferentes concentraciones de vainillina sobre *Salmonella* Typhimurium inoculada en agua de coco.
- Aplicar luz UV-C y vainillina sobre agua de coco inoculado con *Salmonella* Typhimurium durante el almacenamiento a diferentes temperaturas.

## CAPITULO I

### 4. Marco teórico

#### 4.1 Coco (*Cocos nucifera* L.)

El cocotero también llamado “el árbol de la vida”, es una planta de gran porte y belleza apreciada por muchas culturas alrededor del mundo, por su alto valor económico, social y cultural. Su cultivo constituye una de las explotaciones agrícolas más antiguas que el hombre ha establecido en la extensa zona intertropical. Es una palmera de la familia *Arecacea* (Walter *et al.*, 2009). La fruta está compuesta de endospermo (carne blanca), agua (contenido acuoso dentro del fruto) y una cáscara muy dura (Ochoa-Velasco *et al.*, 2014). Su taxonomía se presenta en la Tabla 1.

**Tabla 1** Taxonomía de *Cocos nucifera* L.

REINO	Plantae
SUB REINO	Tracheophyta
FILIO	Magnoliophyta
CLASE	Liliopsida
ORDEN	Arecales
FAMILIA	Arecacea
SUB-FAMILIA	Arecoideae
TRIBU	Cocoseae
GENERO	Cocos
ESPECIE	<i>Cocos nucifera</i> L

Tomado de Naturalista, 2018

#### 4.1.1 Aprovechamiento del coco (*Cocos nucifera* L.)

El coco (Figura 1) científicamente conocido como *Cocos nucifera* L es una fruta fibrosa que por lo general es de forma ovoide, con variedad de tamaños y con un peso promedio de 1.2-2 kg (Tetra pak, 2016).



**Figura 1.** *Cocos nucifera* L. (Tetra pak, 2016).

En la Tabla 2 muestra algunos de los múltiples beneficios atribuidos al coco.

**Tabla 2** Beneficios del consumo de agua de coco (*Cocos nucifera* L.)

FUNCIÓN	EFECTO
Hidratante	Tiene un alto porcentaje de agua y minerales que evitan la deshidratación.
Remineralizante	Ayuda a regular la tonicidad de los músculos y mejorar las funciones del corazón.
Antioxidante	Algunos de los minerales con los que está compuesto ofrecen función de antioxidante.
Regulación de presión sanguínea	Esto se debe a que sus grasas saturadas aportan una reserva de energía de calidad para el cuerpo.

Tomado de Uzcanga, 2015.

El coco crece a lo largo de las costas arenosas a través de los Trópicos y en la mayoría de las regiones subtropicales, una palma alta que usualmente mide de 10 a 20 m de altura posee un tronco delgado (Parrotta, 1993).

Es cultivado en los países tropicales principalmente por el alto contenido de aceite del endospermo, que se utiliza ampliamente en las industrias alimentarias, tomando en cuenta que la palma de coco tiene 12 diferentes cultivos de frutos secos, desde la apertura de la flor hasta el fruto maduro. India es el tercer país productor de coco (Tabla 3), después de Indonesia y Filipinas, teniendo un área de aproximadamente 1,78 millones de frutos con un promedio de 5 295/ hectárea (Granados-Sánchez y López-Ríos, 2002).

Cabe mencionar que los principales productos obtenidos de la fruta de coco son aceite, leche, copra, harina de copra, agua, entre otros (Ochoa-Velasco *et al.*, 2018).

**Tabla 3** Principales países productores de coco.

País	Porcentaje
1. Indonesia	30%
2. Filipinas	26%
3. India	18%
4. Brasil	5%
5. Sri Lanka	3%
6. Tailandia	3%
7. México	2%
8. Vietnam	2%
9. Malasia	1%
10. Papua Nueva Guinea	1%

Tomado de Granados-Sánchez y López-Ríos, 2002.

El coco provee alimento, bebida, materiales de construcción, fibra, aceites, etc. contribuye con un alto valor de nutrientes destacando el agua de coco, con cualidades hidratantes naturales, propiedades de salud funcionales y beneficios nutricionales. Por otra parte, el agua de coco es un sustrato no lácteo que se puede introducir como un nuevo vehículo para el consumo de bebidas funcionales cultivadas especialmente por veganos (vegetarianos) y consumidores intolerantes a la lactosa (DebMandal y Mandal, 2011).

#### 4.1.2 Características del agua de coco y sus propiedades medicinales

Para la obtención de agua de coco depende de varios factores tales como la edad de maduración, las estaciones de crecimiento, ubicación geográfica y condiciones ambientales, incluida también la temperatura (Yong *et al.*, 2009).

El agua de coco es el endospermo líquido que se encuentra en la cavidad de la nuez. Para el tercer mes de desarrollo de la fruta hay pequeñas cantidades de agua de coco, esta cantidad aumenta y alcanza el máximo cuando la nuez tiene 7-9 meses de desarrollo, al mismo tiempo es cuando el agua de coco sabe más dulce y se clasifica como agua de coco joven. Posteriormente entre los 10- 13 meses de desarrollo se clasifica como agua de coco madura tomando en cuenta un factor importante cuando el fruto alcanza su maduración la cantidad de agua de coco disminuye; esto se debe a que, durante la maduración, el agua de coco se utiliza para formar carne de coco dentro de la fruta, un fenómeno en todas las variedades de coco (Tetra pak, 2016).

#### 4.1.3 Composición del agua de coco

El agua de coco contiene un sin número de componentes, entre ellos encontramos: carbohidratos, proteínas, vitaminas y sales como el sodio, potasio, cloro, entre otras. Sin embargo, la composición real del agua de coco cambia según la variedad del coco y el medio ambiente en que ha crecido (Gagnani, 2016).

Además de su papel nutricional, (Tabla 4) el agua de coco tiene fitohormonas u hormonas vegetales, las cuales son sustancias producidas por células vegetales en sitios estratégicos de la planta y que son capaces de regular los fenómenos fisiológicos de las plantas y ayudan a regular el crecimiento. Cabe mencionar que, al tener altas propiedades nutricionales, los microorganismos aprovechan los azúcares del agua de coco y producen ácido y gas, causando su fermentación así mismo un deterioro del agua (Dalie *et al.*, 2010).

**Tabla 4** Valor nutricional del agua de coco (*Cocos nucifera* L).

Compuesto	Masa
Grasas	0,5 g
Grasas saturadas	0,4 g
Grasas Monoinsaturadas	< 0,1 g
Grasas Poliinsaturadas	< 0,1 g
Carbohidratos	8,9 g
Azúcares	6,3 g
Proteínas	1,7 g
Fibra alimentaria	2,6 g
Colesterol	0,0 mg
Sodio	0,3 g
Agua	228,0 g

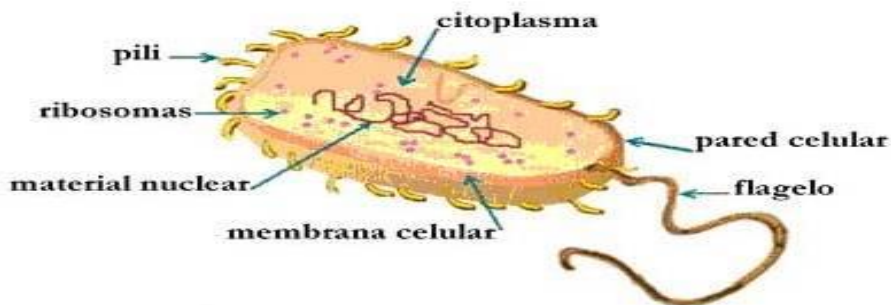
Tomado de Dalie *et al.*, 2010.

## 4.2 Familia de las Enterobacterias

La familia *Enterobacteriaceae* constituye un gran grupo heterogéneo de bacterias gramnegativas. Su nombre ha sido descrito por su localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, encontrándose de una forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la flora intestinal normal de animales además del hombre (García-Puerta y Rodríguez-Mateos, 2010).

### 4.2.1 Estructura de la familia *Enterobacteriaceae*

Los componentes estructurales de la pared celular de las enterobacterias está constituida por la membrana citoplásmica interna, formada por una bicapa de fosfolípidos con proteínas intercaladas, una capa fina de peptidoglicano que la envuelve y forma entre ambas el espacio periplásmico y una compleja membrana externa constituida por otra bicapa de fosfolípidos con una amplia intercalación de elementos, incluyendo el lipopolisacárido (LPS), la lipoproteína, las porinas y otras proteínas, así mismo flagelos, las fimbrias o “pili” y las adhesinas (Figura 2) (Almirante, 2002).



**Figura 2** Estructura general de la familia *Enterobacteriaceae* (Almirante, 2002).

La antigénica de la superficie bacteriana de las enterobacterias está formada por tres clases de antígenos: los somáticos o antígenos O, los flagelares o antígenos H, y los capsulares o antígenos K (Almirante, 2002).

#### 4.2.2 *Salmonella* Typhimurium

*Salmonella* es un género de bacilos gramnegativos que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Es una bacteria omnipresente y resistente que puede sobrevivir durante varias semanas en un ambiente seco y varios meses en agua (OMS, 2017). Es importante saber que la salmonelosis es una de las enfermedades más comunes y se considera un problema de salud pública principalmente en países en vías de desarrollo generalmente contraída por el consumo de alimentos de origen animal (carne, pollo, huevos, leche) y por vegetales contaminados con materia fecal; siendo los factores de virulencia y el estado inmunológico del paciente cruciales, ya que puede ocasionar desde una infección gastrointestinal leve y autolimitada hasta una enfermedad sistémica que llega a poner en peligro la vida del ser humano (Parra *et al.*, 2002).

#### 4.2.3 Estructura *Salmonella* Typhimurium

Varios brotes transmitidos por alimentos se han asociado con la presencia de *Salmonella* Typhimurium en productos alimenticios incluyendo carne de res, pollo, frutas, verduras, etc. La gran variedad de productos alimenticios muestra que *Salmonella* es capaz de crecer y sobrevivir en una amplia gama de condiciones (Bermúdez-Aguirre y Corradini, 2011). Por otra parte, *Salmonella* Typhimurium no causa una enfermedad tan severa como la *Salmonella Typhi* (otra variación de *Salmonella* que causa la fiebre tifoidea). La enfermedad se caracteriza por causar diarreas, dolores abdominales, vómitos y náuseas y suele durar unos 7 días en humanos.

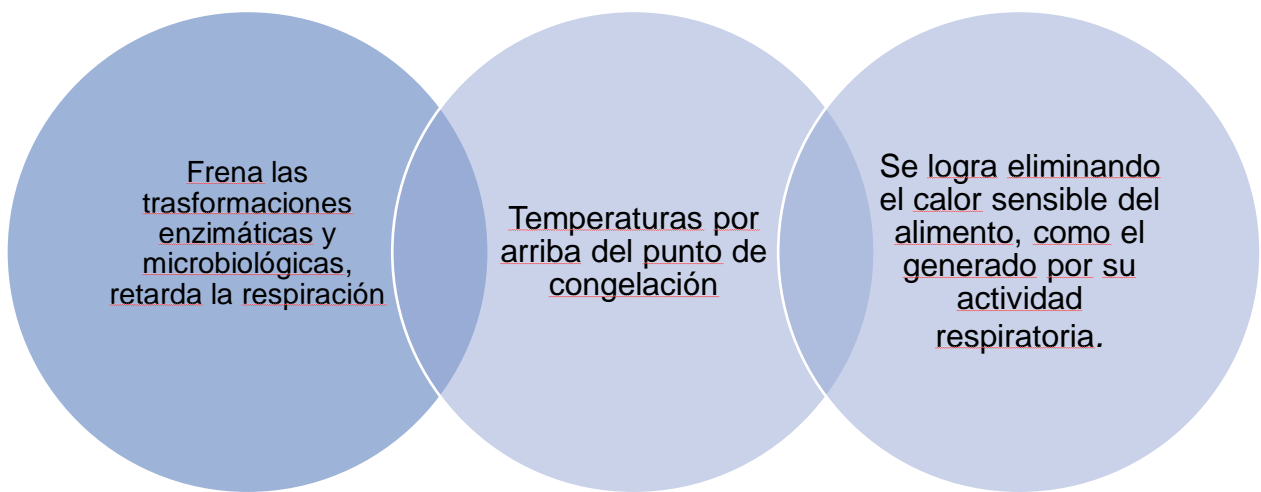
### 4.3 Métodos Combinados

Las técnicas de conservación se aplican para controlar el deterioro de la calidad de los alimentos. Sin embargo, la prioridad de cualquier proceso de conservación es minimizar la probabilidad de ocurrencia y crecimiento de microorganismos deteriorativos y patógenos. Desde el punto de vista microbiológico, la conservación de alimentos consiste en exponer a los microorganismos a un medio hostil para prevenir o retardar su crecimiento, disminuir su supervivencia o causar su muerte. Leistner y Gould (2002) mencionan que factores como la acidez, la limitación del agua disponible para el crecimiento, la presencia de conservadores, las temperaturas bajas, la limitación de nutrientes, entre otros, contribuyen a la creación de un medio adverso para el crecimiento microbiano.

En la actualidad, se busca la combinación de dos o más factores que interaccionen aditiva o sinérgicamente controlando a la población microbiana, evitando la aplicación de un solo factor de conservación en forma severa, lo que mejora la calidad sensorial y nutricional del alimento; permitiendo el procesamiento de productos semejantes al producto fresco, más sanos, con menos aditivos y listos para preparar y servir (Alzamora y López, 1998). A esta combinación de factores se le ha denominado tecnología de obstáculos o factores combinados (Leistner y Rodel, 1976).

Por otra parte, la tecnología de los métodos combinados permite reducir la intensidad del tratamiento térmico y mantener las propiedades organolépticas en el producto final, mediante una combinación de obstáculos que aseguran la estabilidad y seguridad microbiana. Desde hace muchos años la conservación de los alimentos se ha convertido en una práctica frecuente, la conservación de los alimentos apunta hacia tecnologías más limpias, que ayuden a mantener en la medida de lo posible los atributos de calidad y las características naturales de los alimentos (Umaña, 2016).

La temperatura es el factor ambiental que se puede regular más fácilmente para controlar la carga microbiana por un tiempo determinado; por tanto, las temperaturas altas son perjudiciales y letales para la mayoría de los microorganismos. Por otro lado, las bajas temperaturas retardan considerablemente el metabolismo, disminuyendo el riesgo de desarrollar microorganismos, siendo un punto importante el que el alimento se mantenga entre 0 y 4°C, sin llegar a la congelación (Figura 3) (Aguilar, 2012).



**Figura 3** Puntos más importantes de la refrigeración (Aguilar, 2012).

#### 4.4 Luz ultravioleta de onda corta UV-C

La luz ultravioleta de onda corta (UV-C) es una tecnología no térmica que se utiliza para procesar productos alimenticios que pueden entregarse con características similares a los productos frescos que están de acuerdo con las demandas actuales de los consumidores. Para algunos alimentos, el tratamiento térmico es el principal método utilizado para la pasteurización con el fin de obtener productos alimenticios seguros, libres de patógenos y enzimas no deseadas (Ochoa-Velasco *et al.*, 2014).

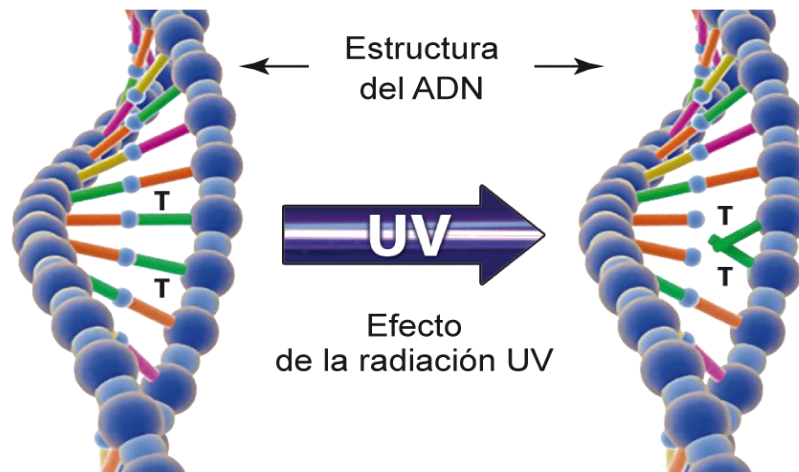
##### 4.4.1 Luz ultravioleta de onda corta y su inactivación de microorganismos

La radiación ultravioleta de onda corta (UV-C) es una tecnología alternativa a la esterilización química o térmica utilizada para reducir el crecimiento de microorganismos en alimentos. La luz UV-C está situada en el rango de 200 a 400 nm de longitud de onda, entre los rayos X y la luz visible (López-Díaz *et al.*, 2001). Ha sido utilizada exitosamente para inactivar microorganismos que contaminan principalmente el agua y superficies de diversos materiales. Es aplicada principalmente para la inactivación microbiana obteniendo productos con menos cambio en sus propiedades sensoriales y nutrimentales (Wright y Cairns, 2004).

El tratamiento de inactivación consiste en alcanzar un pico máximo de emisión aproximado de 254 nm, ya que ha comprobado que a esta longitud de onda presenta su mayor acción germicida. El mecanismo directo de la irradiación UV-C en la inactivación microbiana reside en el daño que causa el ADN generando mutaciones que bloquean la replicación celular, también actúa de manera indirecta al inducir mecanismos de resistencia por acumulación de compuestos fungicidas como fenoles, flavonoides, etc. Cabe mencionar que la UV-C es un método efectivo para prolongar la vida útil de los alimentos (Haro-Maza y Guerrero-Beltrán, 2013).

#### 4.4.2 Inactivación de bacterias con radiación UV-C

Las bacterias suelen ser más resistentes durante la fase lag inmediatamente antes de la división celular activa, se vuelven más sensibles a la radiación conforme entran en la fase logarítmica y según transcurre ésta, alcanzan la mínima formación de microorganismos al final de la radiación UV-C (Suárez, 2001). Por otra parte, el efecto germicida se basa en la absorción de fotones de las moléculas de ADN y ARN. La reacción fotoquímica provoca la dimerización de los enlaces del ADN y el ARN, que inhibe la capacidad de los microorganismos de replicarse (Figura 4).



**Figura 4** Efecto de la luz ultravioleta de onda corta sobre el ADN (Suárez, 2001).

No obstante, es posible que ocurra una reactivación dado que el ADN puede ser reparado por factores proteínicos, sin embargo, cabe aclarar que un ambiente oscuro puede evitar la foto reactivación de productos tratados con radiación UV o restaurar las células expuestas, estas células foto reactivadas pueden ser más resistentes a la radiación UV-C cuando se aplica un segundo tratamiento de UV-C (Sastry *et al.*, 2000).

## 4.5 Antimicrobianos Naturales

Los antimicrobianos son sustancias que prolongan la vida útil de los alimentos protegiéndolos del deterioro ocasionado por microorganismos. Pueden clasificarse en químicos y naturales, siendo las sustancias químicas aquellas incluidas dentro de normas vigentes, mientras que los antimicrobianos naturales son sustancias que se obtienen de materiales o procesos biológicos, cuya inocuidad se atribuye a la degradación por el organismo, tras la ingesta de estos (Rodríguez, 2011).

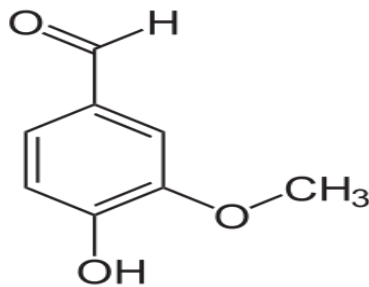
### 4.5.1 Vainillina

La vainilla (Figura 5) es una planta nativa de México utilizada como esencia en las bebidas de los dioses que después de la conquista fue conocida alrededor del mundo. El sabor a vainillina es muy popular y se puede utilizar de manera individual o como complemento de otros sabores. La vainillina es el principal componente de las vainas de vainilla obteniéndose durante el proceso de curado (Cid-Pérez y López-Malo, 2011).



**Figura 5** Vaina de vainilla (Rodríguez, 2011).

La vainillina actúa como un antioxidante y recientemente se han demostrado que puede ser efectiva inhibiendo bacterias, levaduras y hongos. La actividad antimicrobiana de la vainillina depende del tiempo de exposición, concentración y el microorganismo que se desea inactivar. Es un compuesto molecular orgánico con la fórmula molecular 4-Hidroxi-3-metoxibenzaldehído (Figura 6).



**Figura 6** Estructura química de la vainillina (Walton *et al.*, 2003).

La vainillina es un compuesto natural presente en las vainas de vainilla capaz de inhibir el crecimiento de microorganismo. Su acción antimicrobiana sobre las células de los microorganismos, durante la conservación de los alimentos, está basada en una gran variedad de efectos individuales dentro de los que incluyen mecanismos físicos, fisicoquímicos y reacciones bioquímicas (Beuchat y Golden, 1989).

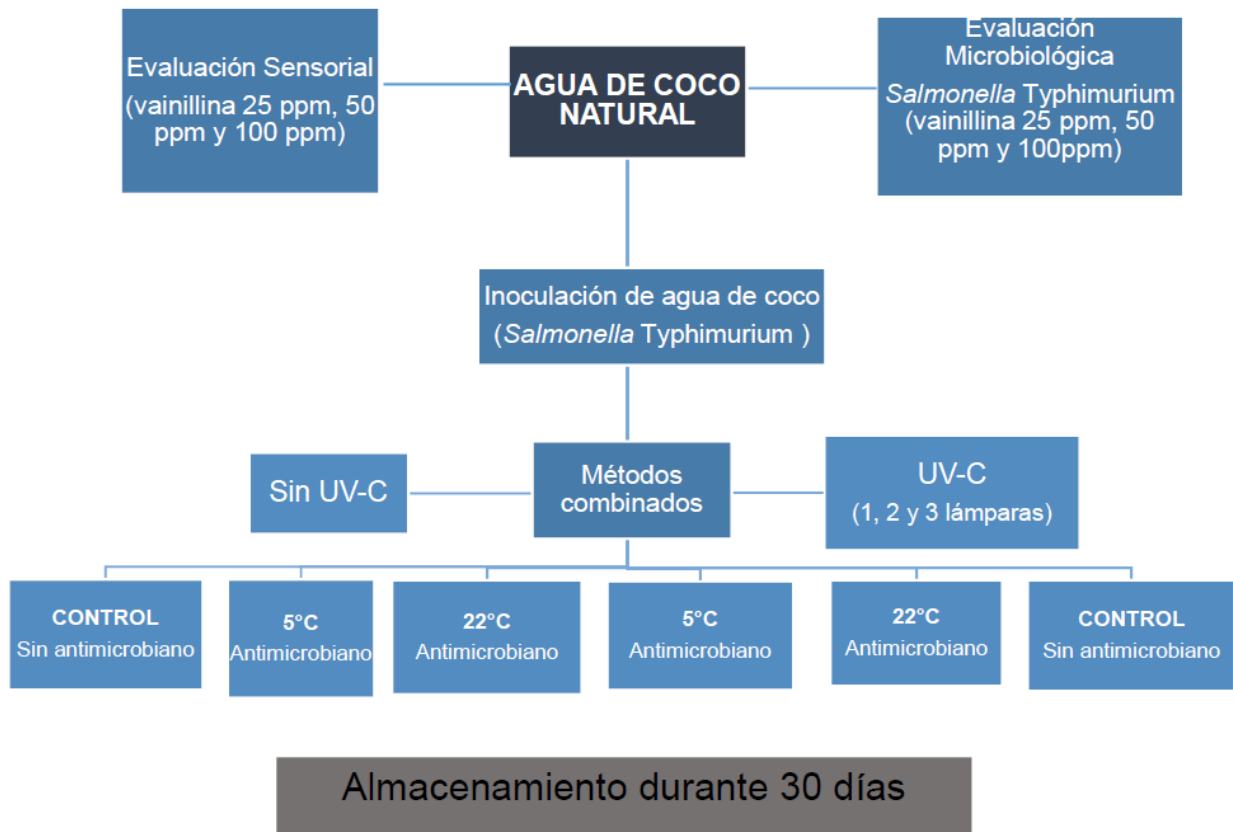
#### 4.5.2 Mecanismo antimicrobiano de vainillina

Es importante decir que la actividad antimicrobiana de compuestos químicos presentes en aceites esenciales tal como la vainillina, tiene una actividad antimicrobiana que no se atribuye a un mecanismo específico; sin embargo, existen algunos sitios de acción en la célula donde puede ocurrir algún efecto (Beuchat y Golden, 1989):

- Daño a la membrana citoplasmática.
- Degradación de la pared celular.
- Daño a las proteínas.
- Daño en la filtración del contenido celular.
- Interferencia en la membrana celular, al destruir su carácter semipermeable, lo que inhibe el intercambio metabólico del microorganismo con el medio.
- Inhibición de la biosíntesis de los ácidos nucleicos o pared celular.
- Daño del material genético; genera que la célula pierda su capacidad para reproducirse o causa mutaciones, impidiendo el crecimiento de estas (Beuchat y Golden, 1989).

Algunos antimicrobianos pueden afectar a muchos tipos de microorganismos, mientras que otros muestran un espectro de acción inhibitoria más reducida. De igual forma, algunos antimicrobianos pueden ser bactericidas y otros bacteriostáticos. La actividad antimicrobiana, se mide determinando la cantidad más pequeña del agente antimicrobiano que se necesita para inhibir el crecimiento de un organismo control y esto se conoce como concentración mínima inhibitoria (Walton *et al.*, 2003).

## 5. Esquema de trabajo



## 6. Materiales y métodos

- **Material:** material de vidrio, reactivos de grado analítico y los necesarios para cada determinación.
- **Material biológico:** Se utilizó una cepa de *Salmonella entérica* serovar Typhimurium (ATCC 14028). La cepa se obtuvo del Laboratorio de Bromatología en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- **Materia Prima:**
  - Se trabajó con agua de coco obtenida de cocos frescos (*Cocos nucifera* L.) adquiridos en el centro comercial del estado de Puebla, México (WAL-MART).
  - **Medios de cultivo:** Caldo nutritivo, peptona de caseína, Agar Salmonella-Shigella.
  - **Antimicrobiano:** Vainillina.

**Tabla 5** Equipos utilizados en esta investigación.

NOMBRE	MODELO	MARCA
Autoclave	As-25.	Cisa.
Campana de flujo laminar	Cfl-102v.	Eseve.
Estufa	E.41.	B.G.
Balanza analítica	Pa313.	Ohaus Pioneer.
Lámpara de UV-C	Tld 15w/03.	Philips.
Micropipeta movible	Labmate pro.	Liquid Handling.
Parrilla de calentamiento	HP46825	Cimarec 2

**Tabla 6** Métodos utilizados en esta investigación.

Determinación	Método	Referencia
Confirmación de la cepa de <i>Salmonella</i> Typhimurium	Siembra en medio Salmonella-Shigella	Rodríguez-Cavallini <i>et al.</i> , 2003
Cuantificación de <i>Salmonella</i> Typhimurium	Vertido en placa	NOM-210-SSA1-2014.

## CAPITULO II

### 7. Metodología

#### 7.1 Obtención de la muestra

Se trabajó con agua de coco obtenida de cocos frescos mediante punción con un cuchillo estéril adquiridos en el centro comercial del estado de Puebla, México seleccionando y cuidando que dicho coco se encuentre libre de daños físicos.

#### 7.2 Microorganismo

Para el desarrollo de la investigación se empleó una cepa de *Salmonella entérica* serovar Typhimurium (ATCC 14028). obtenida del Laboratorio de Bromatología en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

#### 7.3 Reactivación de *Salmonella* Typhimurium

La reactivación se llevó a cabo en condiciones de esterilidad. *S. Typhimurium* se recuperó en caldo nutritivo inoculado de 24 a 48h a 37°C. Manteniendo en congelación con 1 mL de microorganismo y 1 mL de glicerol al 20%.

#### 7.4 Adaptación del microorganismo

Con el fin de que el microorganismo se adapte al agua de coco, se tomó 1 mL de *S. Typhimurium*, previamente reactivado inoculando 100 mL de agua de coco; posteriormente se realizó una resiembra en donde se adicionó 1 mL de agua de coco inoculada con cada microorganismo por cada 100mL de agua de coco.

### 7.5 Solución de Vainillina

Para dicha investigación se realizó la prueba sensorial adicionando el antimicrobiano (vainillina). Preparando la solución 0.1 gramos de vainillina con una solución de etanol (10 %).

### 7.6 Evaluación Sensorial

Se realizó una prueba sensorial mediante una escala hedónica de 9 puntos (tabla 7) a una población de 100 estudiantes de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, utilizando diferentes concentraciones de vainillina (25 ppm, 50 ppm, 100 ppm) y como control el agua de coco natural.

**Tabla 7** Escala hedónica de 9 puntos para la realización de la evaluación sensorial en agua de coco (*Cocos nucifera* L.).

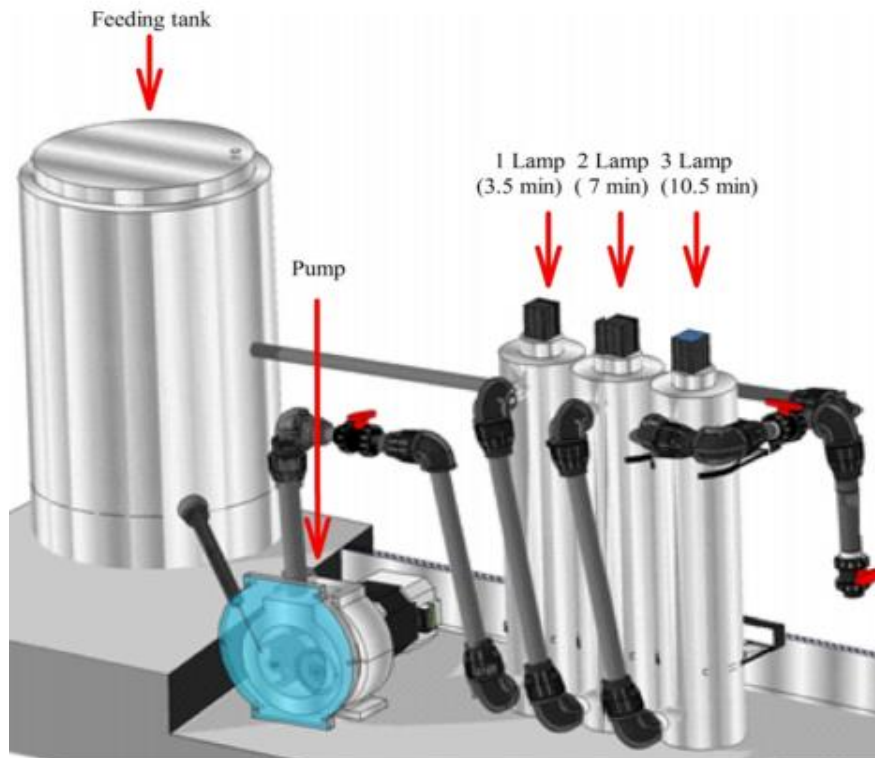
Puntaje	Criterio
9	Me encanta
8	Me gusta mucho
7	Me gusta moderadamente
6	Me gusta levemente
5	Ni me gusta, ni me disgusta
4	Me disgusta levemente
3	Me disgusta moderadamente
2	Me disgusta mucho
1	No me gusta

## 7.7 Métodos Combinados

Se trabajó con el agua de coco natural con mayor aceptación por los estudiantes inoculando 1 mL *S. Typhimurium* por cada 100 mL de agua de coco con una temperatura de almacenamiento de 5°C y 22°C adicionando la concentración de antimicrobiano, evaluando el efecto de antimicrobiano, esto se realizará por 30 días (0,1, 2, 4, 6, 8, 16 y 30 días). Finalmente se realizó el conteo de las UFC/mL creando curvas para verificar que el antimicrobiano es eficaz para reducir la carga microbiana.

### 7.7.1 Aplicación del tratamiento con luz UV-C en agua de coco inoculada con *Salmonella Typhimurium*

Se aplicó un método combinado UV-C, antimicrobiano y temperatura siguiendo la Tabla 8



**Figura 7** Equipo de procesamiento de luz ultravioleta de onda corta.

**Tabla 8** Métodos combinados para alargar la vida en anaquel del agua de coco

	<b>UV-C</b>	<b>ANTIMICROBIANO</b>	<b>TEMPERATURA</b>
<b>1</b>	Sin lámpara	X	5°C
<b>2</b>	Sin lámpara	✓	5°C
<b>3</b>	Sin lámpara	X	22°C
<b>4</b>	Sin lámpara	✓	22°C
<b>5</b>	1 lámpara	X	5°C
<b>6</b>	1 lámpara	✓	5°C
<b>7</b>	1 lámpara	X	22°C
<b>8</b>	1 lámpara	✓	22°C
<b>9</b>	2 lámparas	X	5°C
<b>10</b>	2 lámparas	✓	5°C
<b>11</b>	2 lámparas	X	22°C
<b>12</b>	2 lámparas	✓	22°C
<b>13</b>	3 lámparas	X	5°C
<b>14</b>	3 lámparas	✓	5°C
<b>15</b>	3 lámparas	X	22°C
<b>16</b>	3 lámparas	✓	22°C

## 7.8 Recuento de microorganismo

El recuento de *S. Typhimurium* se realizó en agar Salmonella-Shigella para esta bacteria se utilizó el método vertido en placa dejándose incubar de 24-48 h a 37°C antes de hacer el recuento de colonias. Los resultados se expresan como unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL).

## 7.9 Análisis estadístico

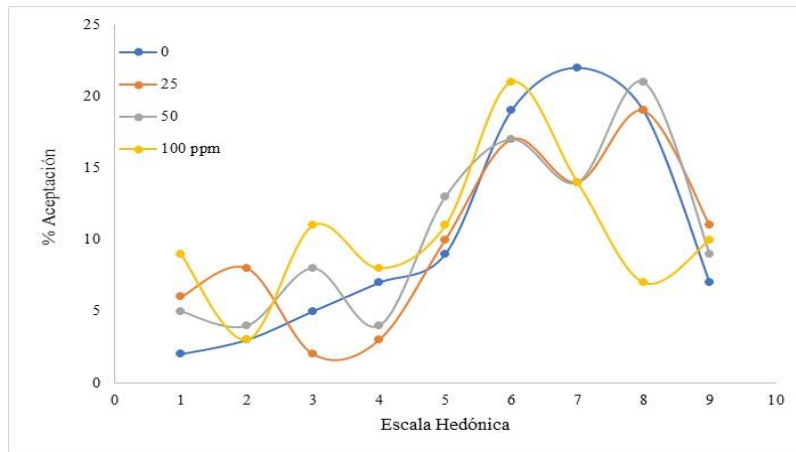
Se realizó un análisis estadístico (ANOVA) a los resultados obtenidos con el programa Minitab Inc. PA, USA, 2008. La diferencia entre las medias de los tratamientos se analizó mediante la prueba de Tukey con un 95% de confiabilidad.

### CAPITULO III

#### 8. Resultados y discusión.

##### 8.1 Análisis sensorial de agua de coco con diferentes concentraciones de antimicrobiano

La Figura 8 muestra la evaluación sensorial del agua de coco adicionada con diferentes concentraciones (0, 25, 50 y 100 ppm) de vainillina. La población muestreada fue de 100 estudiantes de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los resultados indican que el agua de coco control (sin antimicrobiano) presentó una buena aceptación sensorial, cayendo la mayor aceptación en un valor de 7 “me gusta moderadamente”. Por otra parte, no existió efecto significativo sobre la aceptación sensorial por la adición de vainillina. Al respecto, el promedio de los resultados de agua de coco adicionado con vainillina se encontró entre “Me gusta levemente” (6) y “Me gusta mucho” (8). Esto puede deberse al sabor agradable que le provee la vainillina. En este sentido, Cerruti y Alzamora (1996) indicaron que la vainillina tiene la ventaja de ser compatible con muchas preparaciones a base de frutas.



**Figura 8** Análisis sensorial de agua de coco a diferentes concentraciones del Antimicrobiano (vainillina) 25ppm, 50ppm ,100ppm y agua de coco natural.

## 8.2 Efecto a diferentes concentraciones de vainillina (25, 50, 100 ppm) sobre agua de coco inoculada con *S. Typhimurium*

La Figura 9 muestra el efecto antimicrobiano de la vainillina contra *S. Typhimurium* inoculado en agua de coco. Como se puede observar al aumentar la concentración de vainillina mayor reducción en la población microbiana se alcanza. A la concentración de 100 ppm de vainillina se alcanzó una reducción de 0.7 ciclos logarítmicos después de 24 horas. Tomando en cuenta que el mecanismo natural de los antimicrobianos aún no está descrito de una forma concreta, según Conner (1993) la vainillina es un compuesto fenólico cuya actividad antimicrobiana se basa en el deterioro de varios sistemas enzimáticos una vez que el compuesto fenólico cruza la membrana celular bacteriana, puede interactuar con las enzimas y con las proteínas afectando así la actividad celular provocando la muerte; por lo tanto, Davidson y Parish,(1989) mencionan que es necesario conocer la concentración de antimicrobiano que debe agregarse y permanecer en el producto, ya que la evaluación de antimicrobianos debe tener un balance entre riesgos y beneficios.

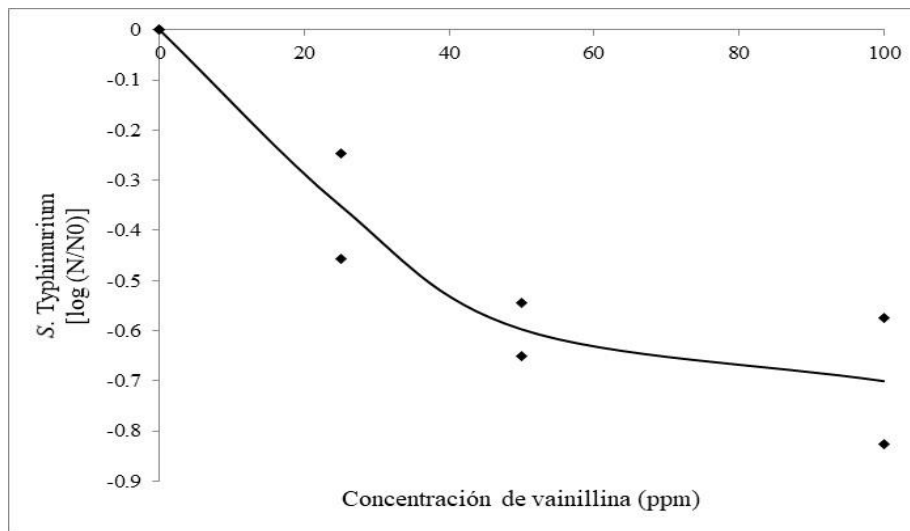


Figura 9 Efecto de las concentraciones de vainillina (25, 50, 100 ppm) sobre agua de coco inoculada con *S. Typhimurium*.

### 8.3 Efecto de la luz ultravioleta de onda corta sobre el agua de coco inoculada con *S. Typhimurium*

Una de las nuevas tecnologías para la inactivación de microorganismos en alimentos es la aplicación de luz UV-C. Al respecto, Millán Villarroel *et al.* (2015) menciona que la efectividad de la luz UV-C contra microorganismos en alimentos depende de muchos factores, como características del alimento, dosis y temperatura de tratamiento con UV-C, especie, serotipo y estado del microorganismo, así como el tiempo transcurrido desde la inoculación al tratamiento con UV-C, entre otras.

La Figura 10 presenta el efecto de la luz ultravioleta de onda corta sobre *S. Typhimurium* inoculado en agua de coco. Se observa que al aumentar el tiempo de tratamiento con luz UV-C (número de lámparas de luz) aumenta la reducción bacteriana, alcanzando una reducción de alrededor de 4 ciclos logarítmicos después de 3.5 minutos, de 6 ciclos logarítmicos después de 7 minutos de tratamiento y una completa inhibición de *S. Typhimurium* después de 10.5 minutos de tratamiento con luz UV-C. Resultados similares fueron reportados por Ochoa-Velasco *et al.* (2014) en leche de coco. Ellos observaron que el aumento de la velocidad de flujo y tiempo de tratamiento con luz UV-C aumenta la reducción logarítmica de *S. Typhimurium*. En ese mismo sentido, la reducción logarítmica fue similar a la reportada por Gabriel y Colambo (2016) para bacterias patógenas en agua de coco, mostrando reducciones entre 5 - 7 ciclos logarítmicos. Por ende, el uso de luz UV-C para el procesamiento de alimentos es seguro y ha sido aprobado por la FDA (2001) como un tratamiento de pasteurización en frío, siempre y cuando se logren alcanzar la reducción de 5 ciclos logarítmicos del microorganismo patógeno capaz de desarrollarse en el alimento. El mecanismo bactericida de la luz UV-C se basa en la absorción de los fotones de luz por el ADN y ARN de los microorganismos, formando dímeros de pirimidina, lo que impide la replicación y transcripción celular, conduciendo a la muerte celular.

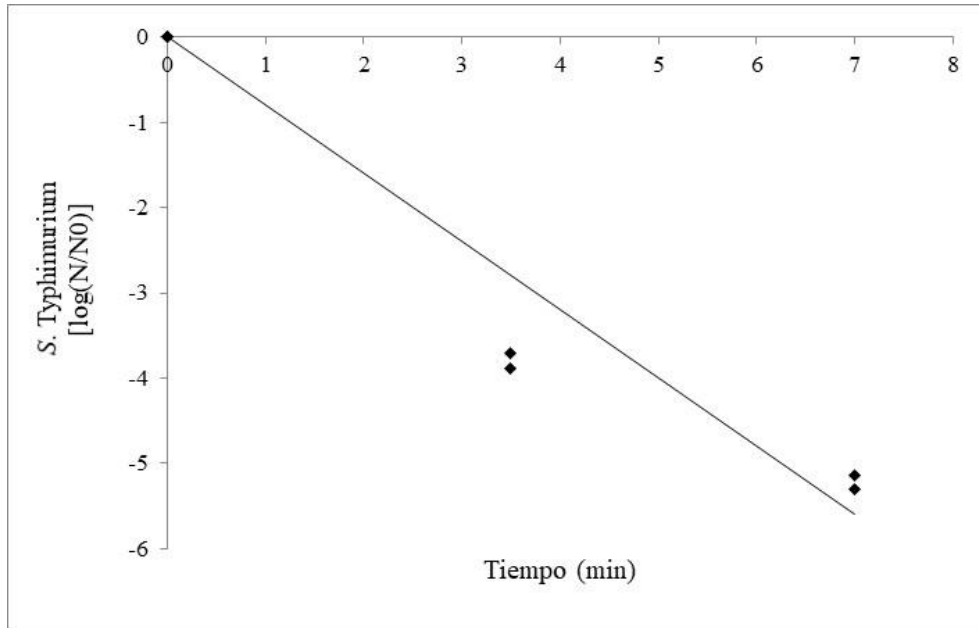


Figura 10 Efecto de la luz ultravioleta de onda corta sobre el agua de coco inoculada con *S. Typhimurium*.

#### 8.4 Efecto del almacenamiento con métodos combinados (temperatura y antimicrobiano) sobre *S. Typhimurium* inoculada en agua de coco

El mantener un alimento en un adecuado estado fisicoquímico, nutrimental y sensorial adecuado es de suma importancia en la conservación de alimentos. En este sentido, el utilizar tecnologías no térmicas y/o métodos combinados de procesamiento es de gran interés ya que se podrían mantener las características deseadas por el consumidor (Raybaudi-Massilia *et al.*, 2006).

En la Figura 11 se presenta el efecto durante el almacenamiento de la vainillina (100 ppm) sobre *S. Typhimurium* inoculada en agua de coco. Se puede observar que al inicio del almacenamiento a 5°C, la carga microbiana de *S. Typhimurium* partió de 6.0 ciclos logarítmicos (UFC/mL) y disminuyó 1 ciclo logarítmico en agua de coco con y sin vainillina. Mientras que en agua de coco almacenada a temperatura ambiente (22°C) existe un incremento a partir del primer día de almacenamiento alcanzando 8 ciclos logarítmicos (UFC/mL) sin antimicrobiano, y con vainillina el aumento fue de un ciclo logarítmico aproximadamente (UFC/mL).

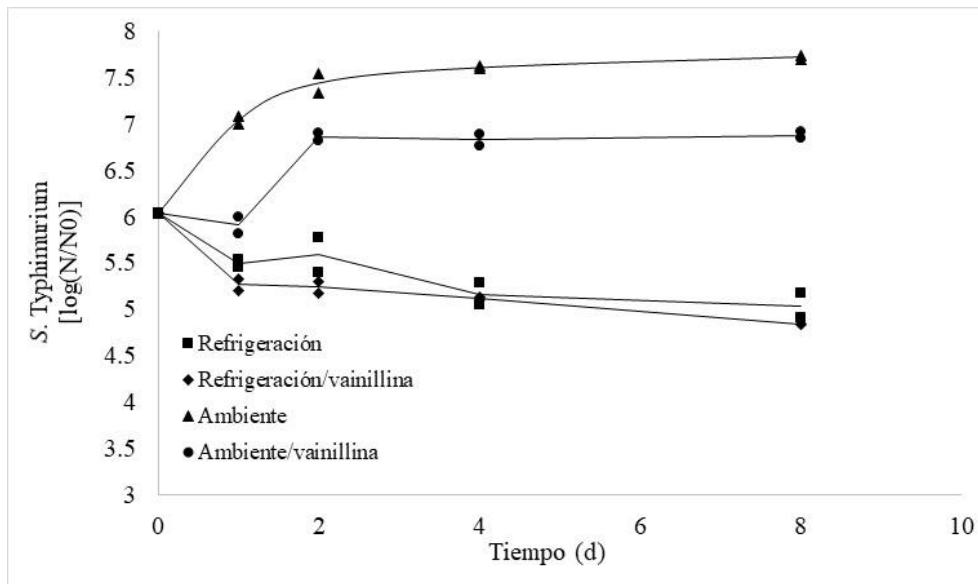


Figura 11 Efecto de métodos combinados (temperatura y antimicrobiano sobre agua de coco inoculada con *S. Typhimurium*.

### 8.5 Efecto de métodos combinados [Luz UV-C (1 y 2 lámparas), vainillina y temperatura) sobre agua de coco inoculada con *S. Typhimurium*

La Figura 12 y 13 muestra el efecto durante el almacenamiento de métodos combinados (luz UV-C, vainillina y temperatura) aplicados a agua de coco adicionada con *S. Typhimurium*. Se observa que el tratamiento con luz UV-C es efectivo para reducir la carga inicial de *S. Typhimurium* inoculada en agua de coco, ya que el tratamiento con 1 lámpara (3.5 min) inicia de 2 ciclos logarítmicos (UFC/mL) y con 2 lámparas (7 min) se muestra una carga inicial menor a 1 ciclo logarítmico (UFC/ mL). Sin embargo, durante el almacenamiento a 22°C, se observó que la carga microbiana de *S. Typhimurium* aumentó en ambos casos, lo que puede deberse a que a temperatura ambiente el microorganismo puede desarrollarse adecuadamente, además que existe el fenómeno de fotoreactivación el cual rompe los dímeros de pirimidina y une el ADN microbiano lo que provoca una reactivación de los microorganismos (Ochoa-Velasco *et al.*, 2018). Sin embargo, la adición de vainillina ralentiza y disminuye el crecimiento microbiano. Por otra parte, en el agua de coco tratada con luz UV-C (2 lámparas) y almacenada a 5°C (Figura 13), con o sin vainillina presentó una carga microbiana estable durante el almacenamiento (< 10 UFC/mL). Bajo estas condiciones, se logró reducir y mantener los 5 ciclos logarítmicos establecidos por la FDA (2001), para que una tecnología pueda ser presentada como método de pasteurización. Aunque a temperatura de refrigeración no se observó efecto significativo de la vainillina en el crecimiento microbiano de *S. Typhimurium*, esta puede ser una barrera para evitar el desarrollo microbiano durante el almacenamiento, lo que se puede corroborar en el almacenamiento a 22°C.

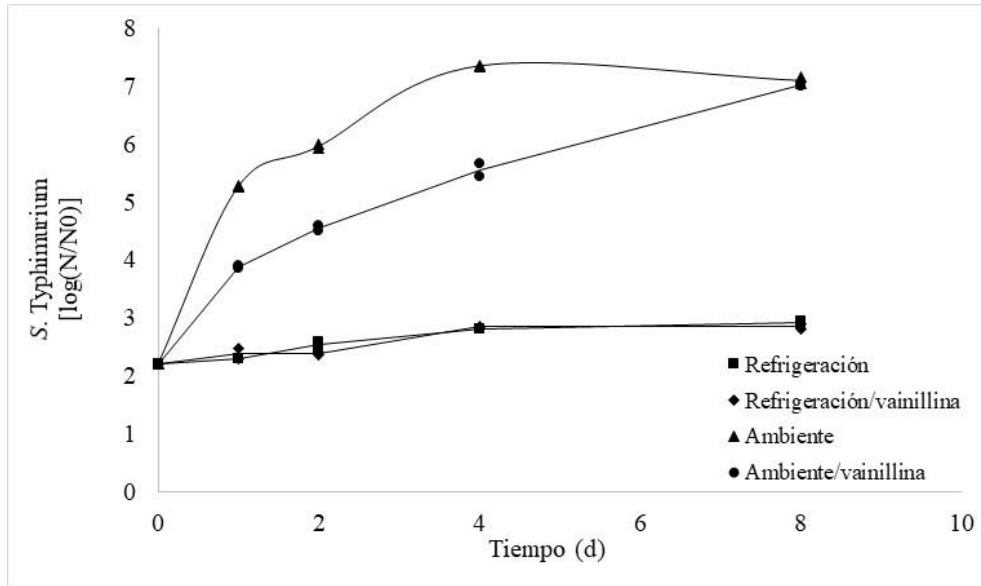


Figura 12 Efecto de métodos combinados [luz UV-C (3.5 min) temperatura y antimicrobiano] sobre agua de coco inoculada con *S. Typhimurium*.

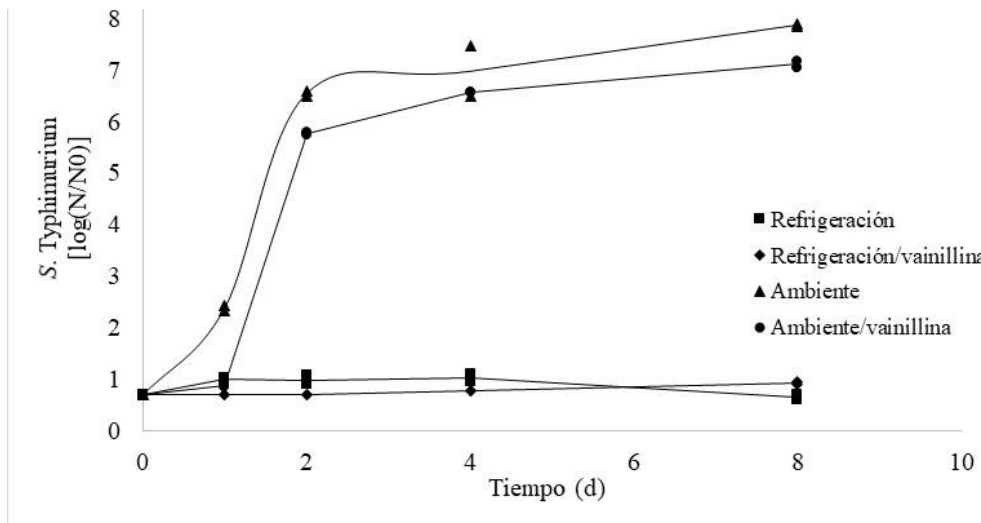


Figura 13 Efecto de métodos combinados [luz UV-C (7 min) temperatura y antimicrobiano] sobre agua de coco inoculada con *S. Typhimurium*.

## 9. Conclusiones

- El agua de coco presentó una buena aceptación de los estudiantes mostrándose un promedio de “me gusta moderadamente” ya que no existió un cambio significativo en las calificaciones por la adición de vainillina.
- La vainillina presentó actividad antimicrobiana contra *S. Typhimurium*, lográndose alcanzar 0.7 ciclos logarítmicos con una concentración de 100 ppm de vainillina.
- Se observó que al incrementar el tiempo con luz UV-C se aumentó la inactivación microbiana de *S. Typhimurium*, alcanzándose reducciones de 3.8 y 5.2 ciclos logarítmicos. En agua de coco procesada con 3 lámparas (10.5 min) no se detectó presencia de *S. Typhimurium*.
- Con el tratamiento de 7 y 10.5 minutos se alcanzaron los 5 ciclos logarítmicos recomendados por la FDA para *S. Typhimurium*.
- El agua de coco almacenada a 22°C, se observó crecimiento de *S. Typhimurium*, sin importar el uso de luz UV-C o vainillina.

## 10. Sugerencias

- Hacer una evaluación del agua de coco con concentraciones de vainillina más elevadas.
- Utilizar otros antimicrobianos naturales con el fin de conocer su efecto ante la carga microbiana y/o crecimiento microbiano en agua de coco.
- Realizar una evaluación sensorial después de procesar el agua con luz UV-C.

## 11. Bibliografía

1. Aguilar, M.J. (2012). Métodos de conservación de alimentos. *Red tercer milenio*.1:48-61.
2. Almirante, G.B. (2002). Infecciones por enterobacterias. *Medicine*,8:1-8.
3. Alzamora, S.M. y López, M.A. (1998). Microbial Behavior Modeling as a Tool in the Desing and Control of Minimally Processed Foods. *Engineering and Food*.21:631-650.
4. Beuchat, L.R. y Golden, D.A. (1989). Antimicrobials Occurring Naturally in Foods. *Food Technology*. 6:1-7.
5. Bermúdez-Aguirre, D. y Corradini, G. M. (2011). Inactivation kinetics of *Salmonella* spp. under thermal and emerging treatment. *Food Research International*. 45: 700-706.
6. Conner, D. E. (1993). Naturally occurring compounds. *Antimicrobials in foods* 441–468.
7. Cid-Pérez, T.S. y López- Malo, A. (2011). Extractos de vainilla; Una mezcla de componentes químicos aroma y sabor. *Temas selectos de Ingeniería en alimentos*. 5:51-53.
8. Cerruti, P. y Alzamora, S.M. (1996). Inhibitory effects of vanillin on some food spoilage yeasts in laboratory media and fruit purées. *Food microbiology*. 2:86-91.
9. Dalie, D.K.D., Deschamps, A.M. y Richard, F. (2010). Lactic acid bacteria - Potential for control of mould growth. *Food control*. 21:370-380.
10. Davidson, P. M. y Parish, M. E. (1989). Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food technology*.43(1):148-155.
11. DebMandal, M. y Mandal, S. (2011). Coconut (*Cocos nucifera* L.: Arecaceae): In health promotion and disease prevention. *Journal of Tropical Medicine*. 8:241-247.

12. FDA (2001). Hazard analysis and critical point (HACCP). Procedures for the safe and sanitary processing and importing of juice. Final rule. *Federal register*. 66:6137–6202.
13. Gabriel, A.A., Colambo, J.C.R. (2016). Comparative resistances of selected spoilage and pathogenic bacteria in ultraviolet-C-treated, turbulent-flowing young coconut liquid endosperm. *Food Control*, 69, 134-140
14. García-Puerta, A. y Rodríguez-Mateos, F. (2010). Enterobacterias. *Unidad de Enfermedades Infecciosas Medicina*. 2:3-6.
15. Gragnani, E.B. (2016). Coconut Water processing by high isostatic pressure technology. Tesis de Licenciatura, Brazil. *Universidad Estatal de Campinas*. 113p.
16. Granados-Sánchez, D. y López-Ríos, G.F. (2002). MANEJO DE LA PALMA DE COCO (*Cocos nucifera* L.) EN MÉXICO. *Chapingo serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 8: 39-48.
17. Haro-Maza J.F y Guerrero-Beltrán J.A. (2013). Efecto de la radiación UV-C en frutas y verduras. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*. 7-1:67-72.
18. Leistner, L. y Rodel, W. (1976). The stability of intermediate moisture foods with respect to microorganisms. *Intermediate Moisture Foods* 3:120-137.
19. Leistner, L. y Gould, G. W. (2002). Hurdle Technologies: Combination Treatments for Food Stability, Safety and Quality. *Kluwer Academic/Plenum* 194-201.
20. López-Díaz, A.S., Palou, E. y Lopez-Malo, A. (2001). Radiación ultravioleta en jugos de frutas: fundamentos y aplicaciones. *Temas selectos de ingeniería en alimentos*. 6-2:79-93.
21. Millán, V.D., Romero, G.L., Brito, M. y Yndira, A. (2015). LUZ ULTRAVIOLETA: INACTIVACIÓN MICROBIANA EN FRUTAS. *SciELO*. 3:1-16.
22. Naturalista. (2018) Cocotero (*Cocos nucifera*), <http://www.naturalista.mx/taxa/48865-Cocos-nucifera> . Consultado febrero 2018.

23. Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.
24. Ochoa-Velasco, C.E., Cruz-González, M., Guerrero-Beltrán, J.A. (2014). Ultraviolet-C light inactivation of *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium in coconut (*Cocos nucifera* L.) milk. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 26:199-204.
25. Ochoa-Velasco, C.E., Díaz-Lima, M.C., Ávila-Sosa, R., Ruiz-López, I.I., Corona-Jiménez, E., Hernández-Carranza, P., López-Malo, A. y Guerrero-Beltrán, J.A. (2018). Effect of UV-C light on *Lactobacillus Rhamnosus*, *Salmonella* Typhimurium, and *Saccharomyces cerevisiae* kinetics in inoculated coconut water: Survival and residual effect. *Journal of Food Engineering*. 255-261.
26. OMS. (2017) *Salmonella* no tifoidea, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/>. Consultado: febrero 2018.
27. Parra, M., Durango, J., y Máttar, S. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstica de las infecciones producidas por *Salmonella*. *MVZ Córdoba*. 7: 2-5.
28. Parrotta, J.A. (1993). *Cocos nucifera* L, Coconut palm. *Forest Service, International Institute of Tropical Forestry* .1:1-7.
29. Raybaudi-Massilia, R.M., Soliva R., Martín O., Aguilar, G.A. Y Cuamea, N.F. (2006). Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas frescas y frescas cortadas. Aseguramiento de la calidad microbiológica. *CIAD*, 2:15-21.
30. Rodríguez-Cavallin, E., Camboa-Coronado, M., Hernández -Chavarría F. y García-Hidalgo, J. (2003). Cultivo de bacterias. *Bacteriología general: Principios y prácticas de laboratorio*. 1-477.
31. Rodríguez, S.E.N. (2011). Uso De Agentes Antimicrobianos Naturales en la conservación de frutas Y hortalizas. *Ra Ximhai*.7:153-170.
32. Sastry, S. K., Datta, A. K., & Worobo, R. W. (2000). Ultraviolet light. *Journal of Food Science*, 65: 90-92.

33. Suárez, R. (2001). Conservación de alimentos por irradiación. *Universidad del centro educativo latinoamericano*. Disponible en: <file:///C:/Users/Samsung/Downloads/Dialnet-> Consultado: Abril, 2018.
34. Tetra pak. (2016). *Technology, Engineering, Agriculture*. 1-15. <http://coconuthandbook.tetrapak.com/chapter/composition#toc-composition-of-coconut-water> Consultado: Abril, 2018.
35. Umaña, C.E. (2016). Conservación de alimentos por frío. *Fiagro Y Fusades Proinnova*. 13-25.
36. Uzcanga, P.NG., Camarena, G.J.DM., Cortázar, R.M. Y Góngora, P.R. (2015). Preferencias de consumo por productos derivados del cocotero en la Península de Yucatán, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 6:45-56.
37. Wright, H.B. y Cairns, W.L. (2004). Luz Ultravioleta. *Trojan technologies Incorporation*. <http://www.bvsde.paho.org/bvsacg/e/fulltext/simposio/ponen10.pdf>. Consultado: enero, 2018.
38. Walter, E.H.M., Kabuki, D.Y., Esper, L.M.R., Sant´Ana, A.S. y Kuaye, A. Y. (2009). Modelling the growth of *Listeria monocytogenes* in fresh green coconut (*Cocos nucifera* L.) water. *Food Microbiology*. 26:653-657.
39. Walton, N.J., Mayer, M.J. Y Narbad, A. (2003). Vanillin. *PHYTOCHEMISTRY*. 63:505-515.
40. Yong, J.W.H., Ge, L., Ng, F.Y. y Tan., S.N. (2009). The Chemical Composition and Biological Properties of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Water. *Molecules*. 12:5145-5147.