

Comportamiento de oxidoreductasas y compuestos carotenoides en tomates (*Solanum lycopersicum*) sometidos a estrés con UV-C

[Behavior of oxidoreductases and carotenoid compounds in tomatoes (*Solanum lycopersicum*) subjected to stress with UV-C]

Andrea Guisolis¹⁻², María de los Ángeles Dublan¹, and Karina Nesprias¹⁻²

¹Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Azul, Buenos Aires, Argentina

²Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICPBA), La Plata, Buenos Aires, Argentina

Copyright © 2019 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The variation of post-harvest behavior of peroxidases (**POX**), polyphenol oxidases (**PFO**) and carotenoid compounds of tomatoes treated with UV-C was studied in order to extend its useful life and at the same time obtain a beneficial effect on the quality of it. The optimal radiation dose was $4.57 \text{ kJ} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ for 16 minutes on samples placed 10 cm from the lamps. Under these experimental conditions the carotene content increased in the treated samples compared to the controls, however, longer exposure times generated harmful effects such as loss of turgor, appearance of spots, degradation of carotenoids and burns in the epidermis. The higher irradiation dose showed the lower development of microorganisms. An effect of the treatment towards the end of the conservation period was observed in relation to the count of molds and yeasts, presenting a lower load of this type of microorganisms with respect to the controls. Significant differences are observed in the enzymatic activity of **POX**, which would indicate an inductive effect of the treatment on the activity of this enzyme. On the other hand, although the polyphenoloxidase content was slightly higher throughout the study period, there were no significant differences in relation to the controls. This would indicate a complementarity in the antioxidant activity of **PFO** and greater prominence of the **POX** in the defense system.

KEYWORDS: *Solanum lycopersicum*, ultraviolet, postharvest, technological treatment, peroxidase, polyphenol oxidase, carotenes.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 SITUACIÓN HORTÍCOLA REGIONAL

La zona de producción de la región central bonaerense de Argentina comprende los partidos de Ayacucho, Azul, Bolívar, Daireaux, Laprida, Las Flores, Olavarría, Saladillo, Gral. Alvear, Gral. Belgrano, 25 de Mayo, Gral. Lamadrid, H. Irigoyen, Tapalqué y Tandil. Los cultivos hortícolas cubren actualmente una superficie al aire libre de aproximadamente 800 has, mientras que hay 15 has cultivadas en invernaderos en los que se siembran especies tales como tomate y pimiento en verano, y lechuga en invierno. A campo hay una amplia diversidad de hortalizas como lechuga, acelga, repollo, espinaca y otras, zapallo y zapallito, batata (principalmente en el partido de Bolívar), frutilla en Olavarría, endivia en Gral. Belgrano, maíz dulce y sandía en 25 de Mayo e Hipólito Irigoyen, perejil para industria y en menor medida el resto de las hortalizas. En los últimos años, se ha incrementado la producción de brócoli, repollito de Bruselas y espárrago, este último con destino a la exportación. Las principales especies vendidas fuera de la región son zapallo, maíz dulce, sandía, frutilla y endibias.

La comercialización de las hortalizas es variable según el tipo de producción y los volúmenes cosechados de cada especie. En general, los productores chicos y medianos realizan una distribución local, en verdulerías, venta directa en el campo y supermercados, o a los mercados mayoristas de Buenos Aires y Mar del Plata, Argentina [1].

1.2 EXIGENCIAS DEL MERCADO

La calidad de los alimentos se ha identificado como un determinante clave en la prevención de enfermedades crónicas, constituyéndose en un componente fundamental de las actividades de promoción de la salud y prevención de factores de riesgo. En este contexto, las metodologías aplicadas a los mismos tanto en su producción como elaboración constituyen un componente fundamental para ofrecer un producto de calidad.

Los vegetales frescos contienen entre un 65 y 95 por ciento de agua y sus procesos vitales continúan luego de la recolección. Su vida útil durante la postcosecha depende tanto del ritmo con el que consumen sus reservas almacenadas como de la pérdida de agua. Estos cambios fisiológicos considerados normales pueden intensificarse si el producto se encuentra expuesto a condiciones como alta temperatura, baja humedad atmosférica, daño físico, entre otros, lo que resulta en una rápida pérdida de aptitud para el consumo [2]. Como consecuencia, la actividad muestra una disminución de rentabilidad y al mismo tiempo, se reduce la oferta de productos frescos y de calidad para el consumidor, características del sector que se repiten en todo el país.

Los requisitos más importantes que se exigen a los productos hortícolas que serán destinados a ser comercializados en el mercado en fresco (I Gama), son principalmente aquellos que satisfagan las exigencias del consumidor, como el color: tonalidad, brillo, mantenimiento en el tiempo, alta resistencia a los procesos oxidativos después de las operaciones de corte, la ausencia de tierra u otro material sólido, la eventual presencia de residuos fitofármacos y de nitratos dentro de los límites de tolerancia, la limitada carga microbiana, el alto contenido de sustancia seca y la duración de la *shelf life* (vida útil) [3]. Esto es importante también cuando los alimentos primarios (sin ninguna transformación) son utilizados como materia prima con destino a generar nuevos alimentos formulados (ya sea reestructurados, enriquecidos o funcionales), dado que el inicio de un proceso con materia inadecuada, se verá reflejado en la obtención de un producto final de menor calidad.

1.3 VARIACIONES DE LA CALIDAD

La comercialización de hortalizas en fresco se ve limitada por su alto deterioro, perdiendo por cosecha, transporte y almacenamiento entre un 20-35% del volumen. Hay que considerar que los productos en ocasiones deben recorrer largas distancias antes de llegar al consumidor, lo que trae consigo un deterioro que impide su venta, o disminuye su precio [4]. De esta forma, el alto carácter perecedero de ciertas frutas y hortalizas de consumo generalizado, sumado al mal manejo postcosecha y al uso de tecnologías de acondicionamiento y almacenamiento inadecuadas, se traduce en elevadas pérdidas de la calidad, de volumen comercializado, y en consecuencia de rédito económico para el productor.

Las operaciones de preparación de los productos de I gama como el corte, lavado y acondicionamiento, provocan respuestas fisiológicas por parte de los tejidos vegetales que inducen al aumento de la actividad respiratoria y del metabolismo del vegetal fresco. Estos eventos pueden generar, a su vez, modificaciones de importancia cualitativa como por ejemplo en el color, la consistencia y las características organolépticas en general.

Adicionalmente, durante el almacenamiento, las frutas y hortalizas sufren diversos cambios fisiológicos indeseables, tales como la pérdida de peso debido a la evaporación del agua, decaimiento, crecimiento de brotes internos y cambios en la composición [5]. Algunos estudios indican un aumento en la capacidad antioxidante y la concentración de los polifenoles durante el almacenamiento de hortalizas [6], [7], aunque otros reportan niveles constantes o decrecientes [7], [8]. Tudela y colaboradores [9] sostienen que el efecto del almacenamiento sobre los antioxidantes depende de muchos factores, incluyendo la luz y la temperatura. Estos pueden actuar como una señal de estrés e inducir la síntesis de flavonoides y/o modificar la cantidad de otros antioxidantes [10], [11].

Estudios realizados en los últimos años informan que en el segmento postcosecha de la cadena productiva, el vegetal puede sufrir: cambios físicos en la pared celular (aumento de la producción de malondialdehído, como producto de degradación de la misma y con la consecuente pérdida de la firmeza del vegetal) [12], acumulación de metabolitos tóxicos, degradación de la clorofila [13], variación del sistema antioxidante defensivo (compuestos fenólicos, flavonoide, etc.) [14], modificaciones en la concentración, en el contenido y composición de carbohidratos, en el contenido de proteínas [15], reducción de la actividad fotosintética [16], cambios en la intensidad o tasa respiratoria, aumento en la producción de etileno, entre otros.

Por otra parte, es necesario tener en cuenta que, en general, a lo largo del proceso continuo de acondicionamiento, puede tener lugar la contaminación con microorganismos indeseables que alteran la calidad del alimento modificando sus características nutritivas y organolépticas y/o representen un riesgo para la salud de los consumidores. Ciertos grupos de microorganismos como los aerobios mesófilos totales, las enterobacterias, los coliformes, la *Escherichia coli*, son empleados como indicadores para poner de manifiesto cuáles han sido las condiciones de obtención y/o producción del mismo [17]. Además, todos los procesos de acondicionamiento de los alimentos destinados al mercado en fresco, provocan respuestas fisiológicas por parte de los tejidos vegetales que inducen al aumento de la actividad respiratoria y del metabolismo del vegetal al mismo tiempo que pueden también favorecer la proliferación de microorganismos.

1.4 APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS

Una de las actividades más frecuentes en el sector hortícola, es el empleo de fungicidas para el control del ataque de microorganismos durante la postcosecha, sin embargo esta práctica se ha visto restringida debido a que estas sustancias, a veces, dejan residuos en el producto que pueden afectar la salud del consumidor. Por ello actualmente existe un mayor interés en implementar las denominadas “tecnologías limpias” (luz UV-C, microondas, ultrasonido, películas comestibles, encapsulamiento de sustancias antioxidantes) basadas en el uso de tratamientos para el saneamiento postcosecha alternativos, con el propósito de sustituir la aplicación de agroquímicos en los alimentos.

En este contexto, se ha informado la utilización de tratamientos térmicos que favorecen el control de microorganismos, pero sin embargo pueden causar cambios en la calidad visual y sensorial del producto tales como pérdidas de color, firmeza y alteración de algunos compuestos bioactivos (fenoles, flavonoides, fitoalexinas), [18] entre otros efectos no deseados.

Investigadores sostienen que la radiación UV-C puede ser considerada como una nueva alternativa tecnológica para prolongar la vida postcosecha de frutas y hortalizas enteras y cortadas, y ha sido aplicada en distintos vegetales [19]. En función de la intensidad y longitud de onda, la radiación UV-C puede inducir un estrés biológico en las plantas y activar algunos mecanismos de defensa naturales de los tejidos vegetales e inducir la producción de compuestos fungicidas como son las fitoalexinas, además de retrasar los procesos de maduración y senescencia [20].

El efecto germicida de la radiación UV-C se ha empleado en España en diferentes alimentos como un método de desinfección superficial a temperatura ambiente que no deja residuos en el producto, por lo que se considera una buena alternativa para la conservación de alimentos. Sin embargo, la sensibilidad de los tejidos al tratamiento con UV-C difiere en función del genotipo, y en ocasiones las dosis altas pueden favorecer la alteración de compuestos bioactivos del fruto, como vitamina C, carotenos y fenoles, así como el oscurecimiento superficial del tejido [21], [22].

D’Hallewin y colaboradores [23] demostraron que la aplicación de dosis bajas de UV-C en toronja causa menor tasa de senescencia y deterioro, pero dosis superiores a $1,5 \times 10^3 \text{ kgf s}^{-2}$ originan pardeamiento y necrosis del tejido irradiado. Estudios realizados sobre mandarina con una intensidad de radiación de $1,3 \times 10^3 \text{ kgf} \cdot \text{s}^{-2}$ muestran inactivación de microorganismos [24] y sobre tomate ocurre un retraso de la senescencia por 7 días [25].

Muchos autores han publicado acerca de la influencia del tiempo de exposición a la luz durante el almacenamiento en la calidad de diferentes vegetales. Lester y colaboradores [26] encontraron que en espinacas, las hojas expuestas a la luz continua ($26,9 \text{ mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) durante el almacenamiento presentaron mayor calidad nutricional que las hojas expuestas a la oscuridad continua. Con luz fluorescente ($21,8 \text{ mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) se ha encontrado pérdida de peso, pero no influyó en el contenido de vitamina C [27].

La solución idónea para preservar la calidad global (organoléptica, microbiológica y nutritiva) de estos productos hortofrutícolas y satisfacer las crecientes exigencias de los mercados internacionales, consiste en mejorar los tratamientos postcosecha [28]. Ante estos hechos, resulta relevante y necesaria la evaluación de este tipo de tecnologías en cada producto en particular, a fin de definir las condiciones óptimas de aplicación experimental y los posibles cambios que ella genera sobre el vegetal.

En este trabajo, se estudió la variación del comportamiento postcosecha de las enzimas del grupo de las oxidoreductasas (peroxidasas- **POX** y polifenoloxidasas- **PFO**) y de compuestos carotenoides en tomates (*Solanum lycopersicum*) tratados con radiación ultravioleta con la finalidad de alargar su vida útil y al mismo tiempo obtener un efecto benéfico en la calidad del mismo tendientes a agregar valor.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 RADIACIÓN UV-C. FOTORREACTOR

El dispositivo tecnológico (**Figura 1**) empleado para la realización de las pruebas a escala de laboratorio consiste en un reactor de color negro que permite disminuir la pérdida de radiación, con un estante metálico regulable en altura y que en su interior contiene un arreglo de 5 lámparas germicidas de UV (longitud de onda λ : 254 nm) de 6 W de potencia cada una, como fuente de energía (hu), conectadas en serie de tal forma que pueden funcionar en forma individual o grupal.



Fig. 1. Disposición de las lámparas en el fotorreactor

2.2 MEDICIÓN DE LA RADIACIÓN UV POR ACTINOMETRÍA

La medición de la intensidad de la radiación UV emitida por las lámparas germicidas se llevó a cabo empleando una técnica actinométrica con el sistema yoduro/yodato en el que se siguió por espectrofotometría la reacción de formación de triyoduro de potasio de color amarillo (Espectrofotómetro UV-visible Biochrom Libra S22).

Un actinómetro es un compuesto químico sensible a la luz UV, el cual es expuesto a la longitud de onda de interés y los cambios fotoquímicos son determinados analíticamente. El proceso de actinometría permite estimar la cantidad de radiación UV incidente sobre una superficie a través de una reacción fotoquímica, para la cual está bien establecida la cantidad de moles de moléculas de producto formado por fotones absorbidos [29]. Se empleó la metodología de Rhan modificada [30].

Se prepararon soluciones de concentración conocida de yoduro de potasio (6×10^{-1} M) y yodato de potasio (1×10^{-1} M) en buffer borato (1×10^{-2} M), pH 9,25. En primer lugar, se dejaron las lámparas encendidas en el interior del fotorreactor durante media hora hasta que el habitáculo alcanzó las condiciones de estado estacionario (ca. $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$).

Se tomaron alícuotas de 20 mL de las soluciones las que fueron colocadas en un reactor tipo Batch con las caras laterales recubiertas para evitar la incidencia de la luz UV-C por los costados. Se ubicaron dentro de la cabina y se dejaron expuestas a la radiación UV-C a diferentes tiempos (1, 4, 7, 15, 20 y 30 min). La reacción iniciada por exposición a la luz UV-C es la siguiente:



La concentración inicial de yoduro de potasio se determinó midiendo la absorbancia de la solución sin irradiar a 300 nm ($\epsilon^{300\text{nm}} = 1,061 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), empleando la Ec. 1:

$$C = A / (\epsilon \cdot b) \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde C es la concentración molar del analito, b es el camino óptico y ϵ es la absorptividad molar.

La cantidad de triyoduro formado se determinó a una longitud de onda de 352 nm para un coeficiente de extinción molar de $\epsilon^{352} = 26400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, utilizando una cubeta de cuarzo de camino óptico de 1 cm.

Conocidos los moles de triyoduros formados, se calculó el Número de Einsteins de Fotones Absorbidos o Número de Fotones Incidentes (NFI) por la muestra dividiendo el número de moles de producto por la eficiencia cuántica, según la siguiente ecuación:

$$NFI = [I_3] / \Phi \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde Φ es la eficiencia cuántica y $[I_3]$ es la concentración molar del triyoduro formado.

La Eficiencia Cuántica es a su vez es función de la temperatura y de la concentración inicial de yoduro de potasio según la siguiente ecuación (3):

$$\Phi = 0,75 [1 + 0,02 (T - 20,7)][1 + 0,23 (C - 0,577)] \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde: Φ es la eficiencia cuántica, C es la concentración molar inicial de yoduro de potasio, y T es la temperatura (°C) a la cual se llevó a cabo la reacción.

Para convertir el Número de Fotones Incidentes (NFI) en Energía Incidente (EI, joule), se multiplicó el número de fotones por la energía de cada fotón. Asumiendo que todos los fotones absorbidos tenían una longitud de onda de 254 nm, este factor es $4,72 \times 10^5$ J/Einstein de fotones.

$$EI = NFI [\text{Einstein de fotones}] \times 4,72 \times 10^5 [\text{J/Einstein de fotones}]. \quad (\text{Ec. 4})$$

Si se grafica la energía incidente vs. el tiempo de exposición, se obtiene una expresión lineal de cuya pendiente se obtiene la potencia. De esta forma la intensidad de la radiación, se calcula dividiendo la potencia expresada en watt por el área expuesta a la fuente de radiación (m^2) según la siguiente ecuación:

$$I = P/A \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde I es la intensidad de la radiación, P es la pendiente de la recta y A es el área expuesta.

Finalmente la dosis de UV-C se expresó en $\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2}$, multiplicando la intensidad de la radiación y el tiempo de exposición real seleccionado para tratar la muestra en particular.

$$D = I \times t \quad (\text{Ec. 6})$$

Donde D es la dosis de luz UV-C absorbida, I es la intensidad de la radiación y t es el tiempo expuesto a la radiación.

Para cada tiempo de exposición las mediciones se realizaron por triplicado. La formación de triyoduro se incrementó linealmente con el tiempo de exposición a la radiación UV-C. A tiempos mayores, la misma se vió limitada por el consumo de los sustratos de la reacción; por lo tanto, en ese caso las dosis se calcularon utilizando como factor de proporcionalidad la pendiente de la curva dosis vs. tiempo de exposición obtenida a partir de los tiempos medidos. Las actinometrías fueron obtenidas para 2, 3 y 5 lámparas encendidas en simultáneo.

2.3 MATERIAL VEGETAL

Las muestras de tomate (*Solanum lycopersicum*) seleccionadas completamente al azar provistas por un productor hortícola del partido de Azul (Buenos Aires, Argentina), al momento de la cosecha y en su punto óptimo de maduración (verde maduro) fueron inmediatamente llevadas al laboratorio de la Facultad de Agronomía, UNCPBA. Allí, se acondicionaron retirando las partes no comestibles, se lavaron con agua y se dividieron en cuatro grupos de características homogéneas. Las muestras control (T_0) integraron el primer cuarto. El resto se colocaron por tandas en bandejas de poliestireno dentro del fotorreactor y se irradiaron con 5 lámparas UV-C de 6w de potencia a distintos tiempos de exposición, siendo: T_1 : 4, T_2 : 8, T_3 :16 y T_4 :30 minutos, respectivamente y a una distancia de exposición de 10 cm. Los tomates fueron almacenados durante 21 días a temperatura ambiente y los análisis de los distintos parámetros control se realizaron a 0, 7, 14 y 21 días de conservación. Todas las determinaciones se efectuaron por triplicado.

2.4 CUANTIFICACIÓN DE OXIDOREDUCTASAS

2.4.1 PEROXIDASAS

Las enzimas peroxidasas (POX) se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza en microorganismos, plantas y animales. Son enzimas que catalizan reacciones bisustrato de carácter redox: utilizan un peróxido como oxidante y un segundo sustrato de características reductoras. La naturaleza y estructura química de este último puede ser muy distinta, por ejemplo fenoles, aminas aromáticas y derivados, entre otros. En las plantas, las peroxidasas controlan el crecimiento fisiológico, su diferenciación y desarrollo, además participan en muchas funciones (biosíntesis de lignina, defensa frente agresiones de patógenos, en distintos tipos de estrés abiótico, protección contra el deterioro de tejidos y en procesos de oxidación de las

cadena insaturada de ácidos grasos que forman las paredes celulares). Estas enzimas actúan transformando el H₂O₂ perjudicial para la planta, en agua. Se ha encontrado que la actividad de las peroxidasas se incrementa cuando las plantas se ven sometidas a diversos factores de estrés (sequía, bajas o altas temperaturas, contaminantes fotooxidantes como el ozono, entre otros) que afectan su fisiología [31]-[33].

2.4.1.1 EXTRACTO CRUDO ENZIMÁTICO

Se aplicó un método sencillo, rápido y eficiente adaptado y modificado por una de las autoras en el que 1,5 g de muestra de vegetal fresco se muelen finamente en un molinillo comercial durante 30 s a temperatura ambiente. Luego se adicionó 4,7 mL de solución tampón fosfato (pH 7,0). El sistema se sometió durante 10 minutos a baño ultrasónico (marca TesLab, a 160 W y 40 kHz). Posteriormente, el extracto se centrifugó a 5000 rpm durante 30 min a 4 °C ± 1°C, finalmente se retiró el sobrenadante y se almacenó a la misma temperatura para utilizarlo como fuente enzimática natural. Se comprobó experimentalmente que el extracto enzimático crudo mantiene su actividad durante largos períodos de tiempo.

2.4.1.2 CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LAS POX

Se forma *in situ* un diperoxido cíclico coloreado denominado tetraguayacol (TG, **Figura 2**), cuando se emplea peróxido de hidrógeno como oxidante verde, o-metoxifenol o guayacol como segundo sustrato y **POX** extraídas de muestras de interés agronómico (*Solanum lycopersicum*) como fuente enzimática. La cuantificación de la actividad se realizó por espectrofotometría a través de la lectura del producto coloreado a 470 nm.

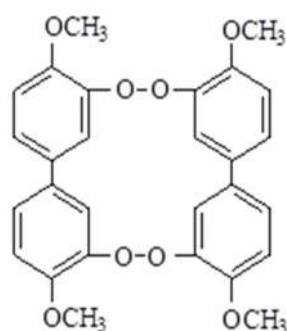


Fig. 2. TG: Estructura química del tetraguayacol

El TG se obtuvo a temperatura ambiente al agregar 100 µL de peróxido de hidrógeno 5 x 10⁻¹ % v/v sobre una mezcla que contenía 2,7 mL de guayacol al 1 % v/v (etanol:agua 80:20) y 100 µL de extracto enzimático crudo. Se midió la absorbancia (A) cada 5 s (t) y se graficó ln A vs t. La reacción de formación de TG cumple una ley cinética de pseudo primer orden. De la pendiente de la recta es posible calcular la velocidad de formación de producto lo que permite determinar la actividad enzimática de las **POX** extraídas. Se define a la unidad enzimática como la cantidad de enzima necesaria para lograr una variación en 0,001 unidades de absorbancia.

2.4.2 POLIFENOLOXIDASA

Las polifenoloxidasas (**PFO**) son enzimas que catalizan la reacción que transforma o-difenoles en o-quinonas. Estas quinonas son reactivas y capaces de modificar covalentemente una amplia cantidad de especies celulares, que culmina con la formación de compuestos poliméricos de color marrón, fenómeno conocido como pardeamiento enzimático. Esto puede ocurrir en diferentes etapas tanto en el crecimiento, recogida, almacenamiento como procesamiento de productos hortofrutícolas, transformándose en un problema de primera magnitud en la industria agroalimentaria y se reconoce como una de las principales causas de pérdidas de calidad y valor comercial ya que se generan cambios importantes ya sea en la apariencia como en las propiedades organolépticas de los vegetales comestibles, además suele ir asociado al desprendimiento de olores y efectos negativos sobre el valor nutricional [34].

2.4.2.1 EXTRACTO ENZIMÁTICO CRUDO

Se tomó 1 g de la muestra triturada, se mezcló con 4 mL de tampón de extracción (5×10^{-2} M Tris-HCl Buffer, pH = 7,5, 3 mM $MgCl_2$ y EDTA 1 mM). Se colocó en ultrasonido (marca TesLab, a 160 W y 40 kHz) durante 30 min a $0 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ en oscuridad. Los homogenatos se centrifugaron durante 30 min a 5000 rpm a $4 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

2.4.2.2 CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE POLIFENOLOXIDASA

La actividad de **PFO** se determinó a $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ midiendo la variación de absorbancia a 420 nm. Para esto, se colocaron 2,7 mL de la mezcla de reacción que contenía 1×10^{-1} mol . L^{-1} de catecol en tampón de fosfato de sodio 2×10^{-2} mol . L^{-1} , pH = 6,5 y 300 μL del extracto crudo enzimático obtenido en la etapa previa. La actividad de **PFO** se definió como el cambio de absorbancia por unidad de tiempo (min^{-1}) y cantidad de proteína extraída en mg^{-1} [35].

2.5 CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO DE CAROTENOIDES

El contenido de carotenos totales se tomó como parámetro de referencia para la elección de tiempo de irradiación óptimo empleado sobre muestras de tomate que genere las mejores respuestas deseables relacionadas con la calidad fisicoquímica de las mismas.

Para ello, se realizó el ensayo en el que se irradiaron lotes de tomate durante 4, 8, 16 y 30 minutos respectivamente. Además, se reservaron muestras controles sin irradiar. En todos los casos se almacenaron durante 21 días a temperatura ambiente. Los análisis se realizaron el día de cosecha (T_0), a los 7 (T_7), 14 (T_{14}) y 21 (T_{21}) días, respectivamente.

Las muestras de tomate fueron trituradas con un molinillo (Liliana AM 680) durante 30 segundos, se pesaron alícuotas de 0,125 g y se agregaron 15 mL de acetona. Todos los sistemas se dejaron en reposo durante cuarenta y ocho horas en oscuridad y luego se homogeneizó en baño Ultrasónico (Marca Teslab a 40 watt de potencia) durante 15 minutos. Se centrifugó durante 10 minutos a 4000 rpm en centrífuga refrigerada a 4°C (Marca Presvac), el líquido sobrenadante se colocó en matraces de 25 mL y se llevó a volumen final con acetona. Estas soluciones fueron leídas a 470, 645 y 662 en espectrofotómetro. El contenido de caroteno total [36] se determinó de acuerdo a las siguientes ecuaciones (7, 8, 9):

$$C_a = 11,75 A_{662} - 2,35 A_{645} \quad (\text{Ec. 7})$$

$$C_b = 18,61 A_{645} - 3,96 A_{662} \quad (\text{Ec. 8})$$

$$C_{(x+c)} = (1000 A_{470} - 2,27 C_a - 81,4 C_b) / 227 \quad (\text{Ec. 9})$$

Donde C_a indica el contenido de clorofila a, C_b muestra el contenido de clorofila b y $C_{(x+c)}$ corresponde al contenido de carotenoides totales expresado en $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Luego se expresó el resultado en mg de carotenoides . 100 g^{-1} de muestra. En todos los casos las determinaciones se hicieron por triplicado.

2.6 EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD GERMICIDA DEL TRATAMIENTO CON UV-C

Se evaluó el efecto germicida del tratamiento UV-C sobre los tomates irradiados durante 4, 8 y 16 minutos con respecto a los frutos sin tratar. Para ello se preparó un homogenato de cada muestra en solución estéril de NaCl $8,5 \times 10^{-1} \%$ m/v manteniendo una relación 1:9. La muestra se trituró utilizando un homogeneizador tipo émbolo (Potter) para tejidos blandos [37]. Se utilizaron 3 muestras por tratamiento para cada día de seguimiento. A continuación, se llevaron a cabo diluciones decimales y luego se sembró cada dilución por duplicado en placas de agar para recuento en placa (PCA, Britania) y agar papa glucosado (APG, Britania), para el recuento de aerobios mesófilos totales y hongos y levaduras, respectivamente. Las placas de PCA se incubaron durante 24 ± 2 h a $32 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ mientras que las de APG se llevaron a estufa a $22 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ durante 5 días. Los valores de recuento se estandarizaron a UFC . g^{-1} de tomate fresco.

2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis comparación de medias mediante el Test de Bonferroni ($\alpha=0,05$), a través del empleo del paquete de análisis estadístico InfoStat 2018.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 DETERMINACIÓN DE LA INTENSIDAD DE RADIACIÓN UV-C

Para el cálculo de la intensidad de radiación emitida por las 5 lámparas encendidas en simultáneo se consideró el procedimiento descrito ampliamente con anterioridad (Ec.1-3) y se obtuvieron los siguientes resultados que se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Concentraciones iniciales de yoduro de potasio, triyoduro de potasio formado luego de la incidencia de UV-C y valor de la Eficiencia Cuántica (Φ)

Tiempo de Exposición a UV-C [min]	Concentración I^- [mol.L ⁻¹]	Concentración I_3^- [mol.L ⁻¹]	Φ
4	$5,35 \cdot 10^{-1}$	$1,17 \cdot 10^{-3}$	$7,77 \cdot 10^{-1}$
8	$5,35 \cdot 10^{-1}$	$1,8 \cdot 10^{-3}$	$7,84 \cdot 10^{-1}$
16	$5,35 \cdot 10^{-1}$	$3,08 \cdot 10^{-3}$	$7,84 \cdot 10^{-1}$
20	$5,35 \cdot 10^{-1}$	$3,67 \cdot 10^{-3}$	$7,92 \cdot 10^{-1}$
30	$5,35 \cdot 10^{-1}$	$4,8 \cdot 10^{-3}$	$7,99 \cdot 10^{-1}$

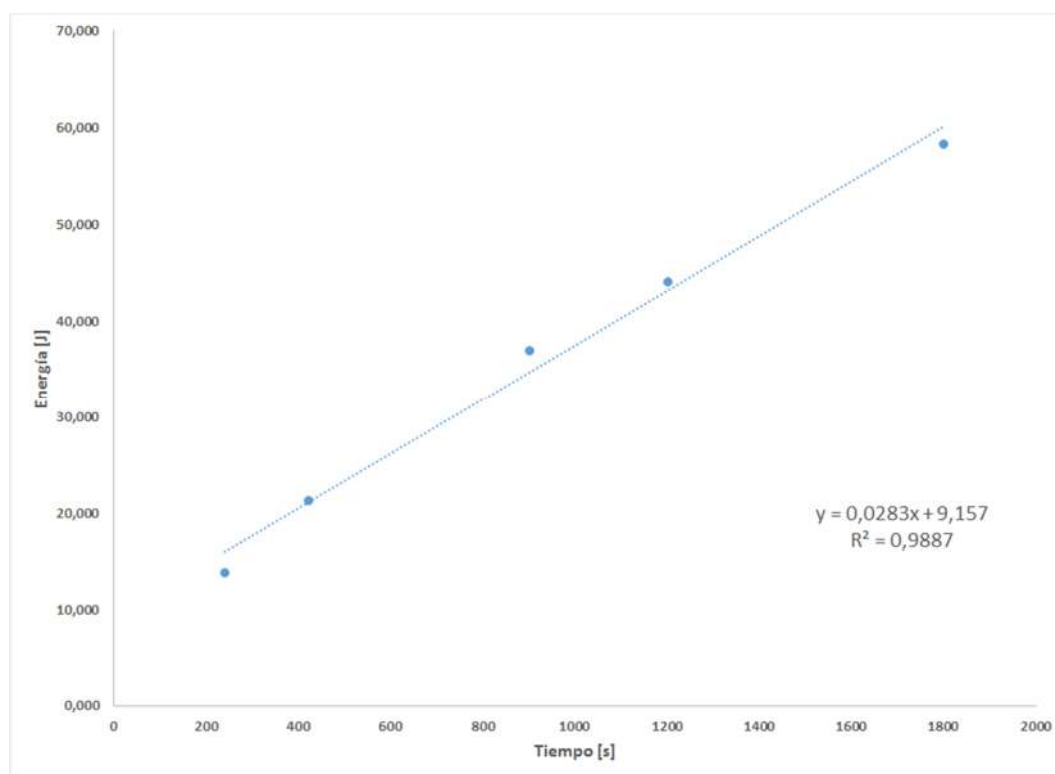


Fig. 3. Gráfico de la Energía Incidente en función del tiempo expresado en segundos

Se emplearon las Ec. 2 y Ec. 4 para determinar la Energía Incidente [J], al graficar estos valores en función del tiempo expresado en segundos (**Figura 3**) se obtiene una representación lineal, con un coeficiente de correlación cercano a la unidad, y cuya pendiente es la potencia expresada en watt.

Al emplear la **Ec. 5** y considerando que el reactor de Bach donde se realizaron los ensayos tiene una superficie de $5,9 \times 10^{-3} \text{ m}^2$, se obtuvo el valor de la Intensidad de radiación emitida por las 5 lámparas encendidas en simultáneo. Este mismo procedimiento de cálculo se repitió para 2 y 3 lámparas funcionando. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 2**.

La medición de la intensidad de radiación emitida por las lámparas de UV en el fotorreactor, es un factor importante que es necesario controlar y definir, para determinar la dosis adecuada para cada muestra en particular. El ensayo se realizó por triplicado y se encontró que existen diferencias significativas (Test de Bonferroni, $\alpha=0,05$, $p> 0,0001$) de radiación emitida con el número de lámparas encendidas (**Tabla 2**). Por lo tanto se decidió mantener las cinco lámparas en funcionamiento simultáneo para asegurar la uniformidad de la radiación absorbida por el vegetal.

Tabla 2. Determinación de la intensidad de radiación emitida por las lámparas UV-C

Número de lámparas encendidas	Intensidad ($\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$)
2	3,4 ^c
3	4,2 ^b
5	4,8 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas

La variación de la intensidad de radiación [$\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$] tiene una tendencia lineal con el número de lámparas encendidas (**Figura 4**) con un coeficiente de correlación (R) cercano a los 0,963.

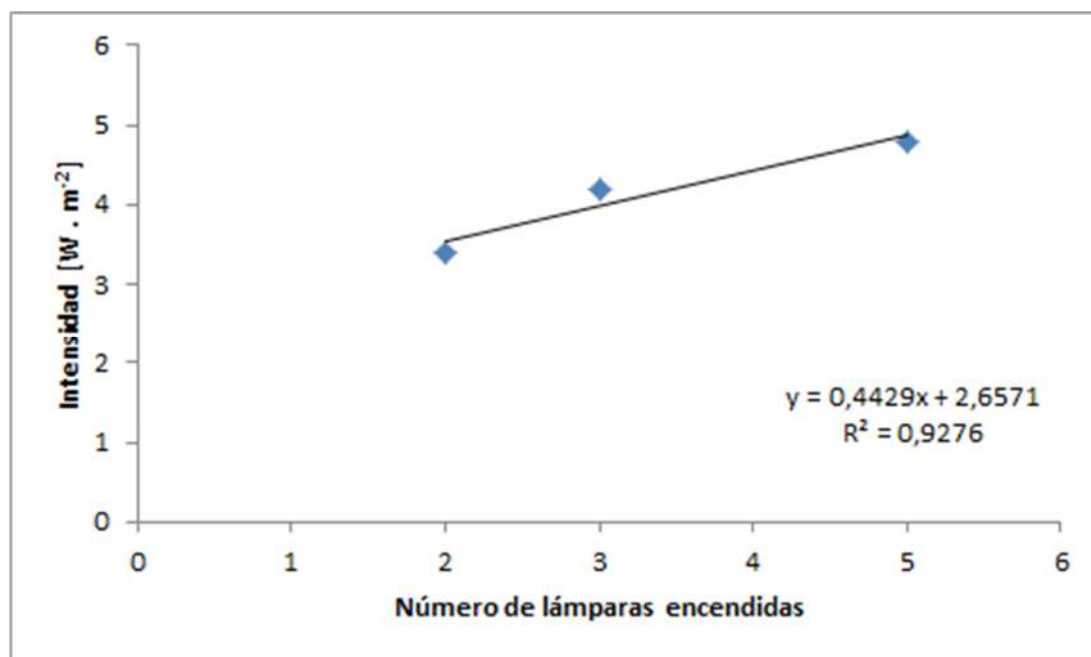


Fig. 4. Gráfico de la Energía Intensidad de radiación [$\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$] en función del número de lámparas encendidas.

3.2 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO ÓPTIMO DE IRRADIACIÓN: CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CAROTENOIDES Y ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

Se realizaron determinaciones cuantitativas para establecer el tiempo óptimo de irradiación que genere las mejores respuestas deseables en la hortaliza en cuanto a su calidad fisicoquímica y organoléptica. Se realizaron ensayos con 4, 8, 16 y 30 min de exposición de los tomates a UV-C y se determinó la dosis correspondiente empleando la **Ec. 6** (**Tabla 3**).

Tabla 3. Dosis de radiación de las muestras de estudio

Tiempo de irradiación [s]	Dosis [kJ. s ⁻¹ . m ⁻²]
4	1,14
8	2,28
16	4,57
30	8,57

Se consideró el contenido de carotenos totales como parámetro de control y el recuento de aerobios mesófilos totales y de hongos y levaduras, y además se determinaron las características organolépticas de los vegetales tratados a diferentes tiempos en comparación con las muestras control (sin irradiar) al inicio del tratamiento y los posteriores seguimientos a los 7, 14 y 21 días de almacenamiento a temperatura ambiente.

Los resultados se muestran en la **Tabla 4**. En todos los casos los datos se corresponden al promedio obtenido para los ensayos realizados por triplicado.

Tabla 4: Variación del contenido de carotenoides en muestras de tomate irradiadas diferentes tiempos con UV-C

Tiempo de irradiación de UV-C [min]	Contenido de carotenos [µg de caroteno/g de tomate fresco]			
	Día 0	Día 7	Día 14	Día 21
T ₀ : 0	1,9 ^a	5,54 ^c	8,83 ^b	9,49 ^b
T ₁ : 4	1,9 ^a	7,4 ^a ^b	9,44 ^b	9,66 ^b
T ₂ : 8	1,9 ^a	8,24 ^a	7,50 ^c	8,39 ^c
T ₃ : 16	1,9 ^a	6,64 ^b	10,93 ^a	11,55 ^a

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas.

Al analizar estadísticamente los datos de la **Tabla 4** (infoStat 2018, Test de Bonferroni, $\alpha=0,05$, $p>0,0001$) se observó que a los siete días de almacenamiento en todos los casos existen diferencias significativas entre los distintos tratamientos (tiempos de irradiación con UV-C) aplicados sobre los tomates en relación al control. Sin embargo, hacia el día 14 y 21 los resultados arrojaron que en las muestras tratadas durante 4 minutos con UV-C y los controles, no existieron diferencias significativas, por lo que T₁ no sería el tiempo óptimo. En general menores tiempos de irradiación sobre la hortaliza no provocaron variaciones considerables en el contenido de carotenoides, entre la muestra tratada respecto a la sin tratar transcurridos los 21 días de evaluación, por lo que los tiempos de 4 y 8 minutos fueron descartados. Por otro lado, se observó mayor contenido de carotenoides en los tomates irradiados durante 16 minutos con UV-C tanto en el día 14 como hacia el período final de almacenamiento, por lo que éste sería el tiempo ideal de exposición, ya que el estrés provocado sobre la muestra por exposición a la luz generaría un aumento de la formación del compuesto bioactivo estudiado. Sin embargo, un exceso de exposición a la acción intensa de la luz UV-C (T₄: 30 minutos) induce la ruptura de los compuestos carotenoides con la consiguiente formación de metabolitos de baja masa molar, situación que genera una disminución del contenido de los mismos. Además, provoca otros efectos nocivos en el vegetal tales como pérdida de turgencia, aparición de manchas y quemaduras en la epidermis, entre otras, al compararlos con la muestra control (**Figura 5**), por lo que el tiempo de exposición de 30 minutos también se descartó.



Fig. 5. Tomate expuesto a 30 minutos de radiación UV-C

Los pigmentos carotenoides son compuestos responsables de la coloración de muchos vegetales. Investigaciones realizadas en los últimos años han demostrado el efecto beneficioso de esta familia sobre la salud de las personas, por lo que, nutricionalmente hablando, resulta de gran importancia determinar si el uso de UV-C contribuye a la formación de carotenoides, ya que su pérdida, además de producir cambios de color en el alimento, conlleva a una disminución de su valor nutritivo. La inestabilidad de los carotenoides se debe al hecho de que son compuestos altamente insaturados, degradándose fundamentalmente debido a procesos oxidativos. Otros factores como la luz, la temperatura o el pH también pueden producir importantes cambios cualitativos en estos compuestos [38], [39].

En el presente trabajo, se encontró que la velocidad de formación de carotenoides ($7,47 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$) en los tomates tratados durante 16 minutos sigue una ley cinética de pseudo primer orden, con un coeficiente de correlación de 0,995, siendo este parámetro 1,3 veces mayor en relación a los controles ($5,7 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$, R: 0,995). Esta situación indica que existe un efecto positivo del tratamiento sobre la velocidad de formación de estos compuestos.

Okon Johnson y colaboradores [40] observaron una tendencia comparable y encontraron que una irradiación de UV-C de $2,15 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ sobre tomates, provoca un aumento considerable en el contenido de compuestos bioactivos entre ellos los carotenos, proporcional al tiempo de tratamiento. Por otro lado, Liu y colaboradores [41] demostraron que 21 días después del tratamiento de tomates con $13,7 \text{ kJ/m}^2$ de UV-C el contenido de licopeno se incrementó hasta 6 veces en la epidermis. Mientras que, no observaron efectos sobre el contenido de β -caroteno ni sobre el contenido de sólidos solubles totales.

Al respecto, Pataro y colaboradores [42] expusieron a diferentes dosis de irradiación UV-C ($1-8 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$) a tomates verdes inmaduros almacenados a $20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por hasta 21 días. Evaluaron los efectos de los tratamientos de luz sobre las propiedades físico-químicas y los compuestos antioxidantes de los frutos de tomate durante el almacenamiento y compararon con los no tratados. Los resultados mostraron que tanto los °Brix como el pH de todas las muestras no se vieron afectados por los tratamientos de luz durante el periodo de estudio. Por otro lado, el color de la piel de los tomates no tratados y tratados cambió de verde a rojo durante el almacenamiento y no se detectó influencia apreciable de los tratamientos de luz. Sin embargo, el contenido de carotenoides totales, licopeno, compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de las muestras tratadas con luz aumentaron durante el almacenamiento hasta 2,5; 6,2; 1,3 y 1.5 veces, respectivamente en comparación con los controles, estos resultados manifiestan un comportamiento similar a los encontrados en este trabajo de investigación.

Por otra parte, en el presente estudio, se llevaron a cabo los recuentos microbiológicos sobre las muestras tratadas y controles para determinar el poder germicida de la exposición a UV-C. En concordancia con otros autores, se observó que cuanto mayor es la dosis de irradiación, menor es el desarrollo de microorganismos [43]. En particular, se observó un efecto bactericida significativo (infoStat 2018, Test de Bonferroni, $\alpha = 0,05$, $p > 0,0001$) sobre las muestras expuestas durante 16 minutos desde el día 14 post-tratamiento y hasta el final del tratamiento, lo que se corresponde con la dosis óptima de radiación UV-C preseleccionada (**Figura 6a**), resultados que refuerzan lo concluido anteriormente.

En lo que respecta al recuento de hongos y levaduras, el efecto de la exposición a UV-C se observó principalmente hacia el final del período de conservación para los tratamientos de 8 y 16 minutos, los cuales presentaron una reducción estadísticamente significativa de este tipo de microorganismos con respecto a los controles (infoStat 2018, Test de Bonferroni, $\alpha = 0,05$, $p > 0,0001$) e incluso, a los tomates expuestos durante 4 minutos (**Figura 6b**). Esta tendencia ha sido observada por otros autores en frutos como uvas, arándanos, aguaymanto y frutilla, entre otros [44]-[47]. Andrade Cuvi y colaboradores [48], han propuesto que la irradiación con UV-C retrasa la germinación de las esporas fúngicas, lo que permitiría explicar los menores recuentos en las muestras tratadas durante 8 y 16 minutos hacia el final del período de almacenamiento con respecto a los controles.

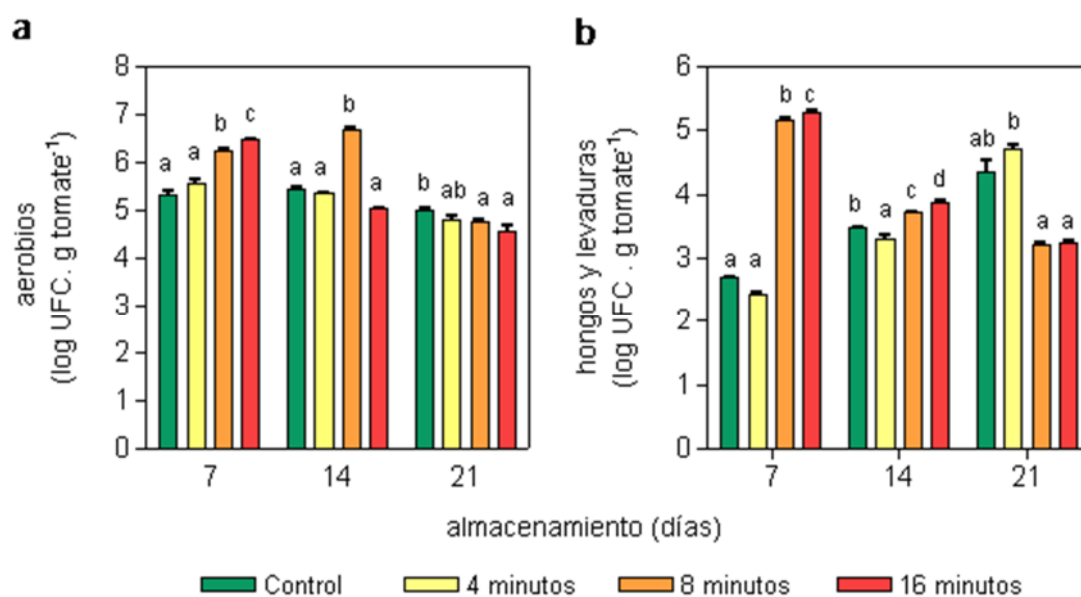


Fig. 6. Determinaciones microbiológicas en tomates irradiados con UV-C y controles. a: Recuento de aerobios mesófilos totales y b: Recuento de hongos y levaduras. Letras distintas indican diferencias significativas

Erkan y colaboradores [49] encontraron una reducción significativa en la población microbiana de rebanadas de calabaza después de ser tratadas con UV-C en dosis de $4,93$ y $9,86 \times 10^3 \text{ kgf s}^{-2}$. Allende y Artés [50],[51] también encontraron que dosis de $0,4$ a $8,14 \times 10^3 \text{ kgf s}^{-2}$ redujeron la carga de bacterias psicrotróficas, coliformes y levaduras en lechuga (*Lactuca sativa L.*) mínimamente procesada. Marquenie y colaboradores [52] reportaron un retraso en el crecimiento fúngico (*Botrytis cinerea* y *Monilinia fructigena*) en fresa a la que se aplicó una dosis de 5 kgf s^{-2} de UV-C.

En términos generales, la irradiación de frutos con UV-C durante la postcosecha presenta un doble efecto en la protección de los mismos frente al desarrollo de microorganismos. Por un lado, se ejerce un efecto directo al dañar el DNA de los microorganismos presentes lo que impide la correcta replicación de los mismos y finalmente, conduce a la muerte celular. Mientras que, por otro lado, se modifica el metabolismo del fruto irradiado lo que le otorga una mayor resistencia frente al ataque de microorganismos [53], [54].

Es importante aclarar que durante el estudio se realizaron mediciones de otros parámetros tales como acidez, sólidos solubles, resistencia a la compresión, cantidad de electrolitos liberados, contenido de fenoles totales cuyos resultados no se presentan en este trabajo pero que ayudan a confirmar que 16 minutos de exposición del vegetal a UV-C, contribuyen de manera eficiente a mejorar la calidad nutricional del tomate.

3.3 CUANTIFICACIÓN DE OXIDOREDUCTASAS

Una vez determinada la dosis y tiempo de irradiación óptimos se realizaron ensayos para estudiar el comportamiento de las enzimas peroxidasas (POX) y polifenoloxidasas (PFO) sobre muestras de tomate irradiadas durante 16 minutos con una dosis de $4,57 \text{ kJ} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, encontrándose los resultados que se presentan en las figuras 7 y 8. Los datos se corresponden con promedios realizados sobre nueve mediciones de cada uno de los parámetros estudiados.

En todos los casos se observan diferencias significativas en la actividad enzimática de las peroxidasas durante el periodo de almacenamiento a temperatura ambiente en relación a los controles, lo que indicaría un efecto inductivo del tratamiento que incrementa la actividad de esta enzima. El aumento de la actividad de POX se asocia con un menor grado de senescencia de las muestras tratadas y una mayor resistencia de esta enzima a las radiaciones UV, con lo cual se lograría un efecto benéfico agregando valor al alimento. La POX elimina el exceso de H_2O_2 producido durante el metabolismo celular evitando su acumulación y consiguiente daño celular, es una enzima que tiene diferentes funciones en las plantas superiores incrementando su actividad en respuesta al estrés.

Durante el almacenamiento, las muestras controles presentaron pérdida de la actividad de POX, en tanto que en las muestras tratadas este valor aumentó significativamente (infoStat 2018, Test de Bonferroni, $\alpha = 0,05$, $p > 0,0001$) a lo largo de

todo el período de estudio (**Figura 7**), esto indicaría que la irradiación con UV-C mantendría activo el sistema antioxidante durante el período de almacenamiento.

Barka y colaboradores [55] demostraron que el incremento rápido de especies reactivas de oxígeno después de la irradiación puede activar uno o más mecanismos antioxidantes y desintoxicantes, lo cual incrementa la actividad de enzimas peroxidadas, resultados que concuerdan con los encontrados en este estudio.

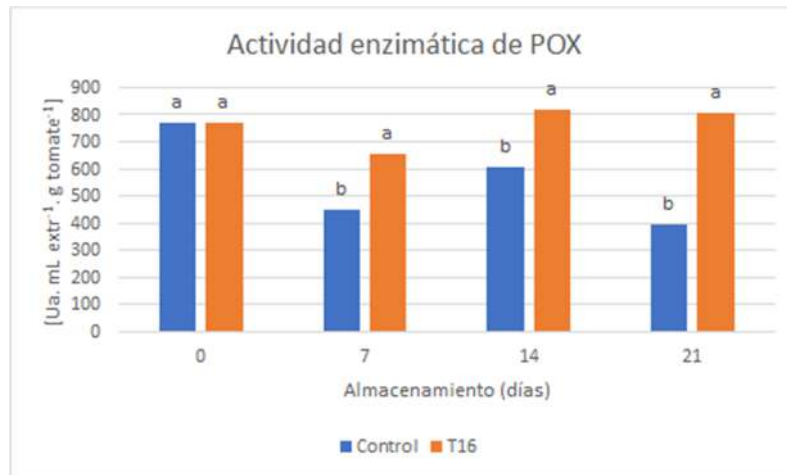


Fig. 7. Contenido de peroxidadas en tomates irradiados durante 16 minutos con UV-C y controles. Letras distintas indican diferencias significativas.

Por otro lado, si bien el contenido de **PFO** fue levemente mayor en todo el periodo de estudio, no existen diferencias significativas en relación a los controles a los 14 y 21 días post-tratamiento según se puede observar claramente en la **Figura 8**. Esto indicaría una complementariedad en la actividad antioxidante de **PFO** y mayor protagonismo de las **POX** en el sistema de defensa. Se ha estudiado que esta enzima actúa como primera respuesta al ataque fúngico y ruptura de los tejidos vegetales, siendo su acumulación de importancia en la actividad antimicrobiana [56]. En general, la aplicación de UV-C permitió conservar la calidad organoléptica al ralentizar la actividad enzimática ligada con el ablandamiento de tejidos y el pardeamiento enzimático.

En este sentido, estudios anteriores muestran que el melón troceado en cubos, conservó su firmeza tras el tratamiento fotoquímico con UV-C y se corroboró disminución de la actividad de las enzimas PG, PME (endonucleasas y pectinmetilesterasas, respectivamente) y se documentó una reducción de 18.5 % en la actividad de la polifenoloxidasas (**PFO**) [57]. En carambola troceada (0,5 cm de espesor) [48] y hojas de lechuga [50] también se ha observado disminución en la actividad de la **PFO**.

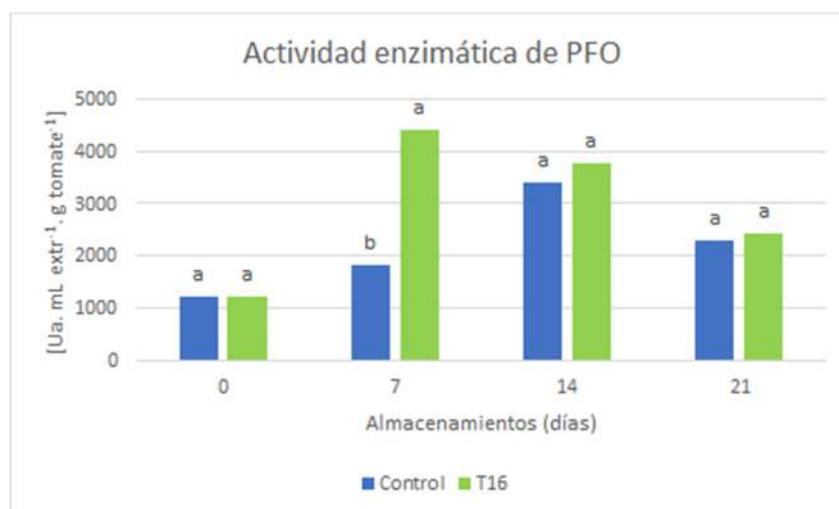


Fig. 8. Contenido de PFO en tomates irradiados durante 16 minutos con UV-C y controles. Letras distintas indican diferencias significativas.

4 CONCLUSIÓN

Es posible determinar la intensidad de la radiación UV-C emitida por el fotorreactor y absorbida por la muestra empleando un método actinométrico sencillo y eficiente. La dosis óptima de radiación que genera efectos deseables sobre las muestras de tomates colocadas a 10 cm de distancia de las lámparas, fue de $4,57 \text{ kJ. s}^{-1}. \text{ m}^{-2}$ aplicada durante 16 minutos. En estas condiciones experimentales de trabajo, se logró un incremento del contenido de carotenos en las muestras tratadas respecto a los controles, sin embargo mayores tiempos de exposición generan efectos nocivos sobre el tomate tales como pérdida de turgencia, aparición de manchas, degradación de carotenoides y quemaduras en la epidermis, entre otras.

Se observó que cuanto mayor es la dosis de radiación, menor es el desarrollo de microorganismos. En lo que respecta al recuento de hongos y levaduras, el efecto germicida de la exposición a UV-C se observó principalmente hacia el final del período de conservación para todos los tratamientos ensayados, observándose una menor carga de este tipo de microorganismos con respecto a los controles.

En todos los casos existen diferencias significativas en la actividad enzimática de las peroxidasas durante el periodo de almacenamiento a temperatura ambiente en relación a los controles, lo que indicaría un efecto inductivo del tratamiento que incrementa la actividad de esta enzima. Por otro lado, si bien el contenido de **PFO** fue levemente mayor en todo el periodo de estudio, no existen diferencias significativas en relación a los controles. Esto indicaría una complementariedad en la actividad antioxidante de **PFO** y mayor protagonismo de las **POX** en el sistema de defensa.

Muchas investigaciones han determinado los beneficios del uso de la radiación ultravioleta y la diversidad de aplicaciones en la industria alimentaria principalmente sobre productos hortícolas frescos y mínimamente procesados. Su uso no se encuentra asociado solo a la reducción microorganismos contaminantes; por el contrario considerando que cada muestra tratada experimentará diversas respuestas ante este mecanismo de estrés tales como activación del sistema enzimático antisenescencia, aumento del contenido de fenoles, carotenoides, incremento de la actividad enzimática de **POX** y estabilidad de la actividad de **PFO**, entre otros efectos deseables, es aconsejable ampliar los estudios sobre diferentes matrices vegetales.

Para la agroindustria, el uso de UV-C representa una posibilidad para minimizar pérdidas post-cosecha, incrementar el contenido bioactivo de las materias primas, aumentar la actividad antioxidante y ofrecer al mercado productos estables microbiológicamente y con alto valor agregado. Por lo antes expuesto, se observan oportunidades interesantes de aplicación de UV-C en productos mínimamente procesados como tratamiento combinado para retardar o evitar pardeamiento enzimático y alargar la vida útil de los productos hortícolas en general.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido financiado por la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina (FAA-UNCPBA) y por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina (CICPBA).

La Dra. Nesprias es Investigadora Asociada a la CICPBA y la Lic. Guisolis es becaria doctoral de la CICPBA.

REFERENCIAS

- [1] J Fernández Lozano. "La producción de hortalizas en argentina (Caracterización del sector y zonas de producción)" Corporación del Mercado Central de Buenos Aires. Secretaria de Comercio Interior, pp. 1-29, 2012.
- [2] FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Prevención de pérdidas de alimentos postcosecha: frutas, hortalizas, raíces y tubérculos; Manual de capacitación, Roma, 1993.
- [3] K. Díaz. "Estudio de las Influencias de las técnicas Culturales sobre las Características merciológicas de las Hortalizas de hojas destinadas al mercado de la IV Gama" ISBN:88-548-0820-2, Aracne Editrice, Sector Agricultura; Género Ciencia, Tecnología y Ambiente, Roma, Italia, pp. 1-176, 2006.
- [4] G. López-Gálvez y M. Cantwell, "Los productos de cuarta gama en Estados Unidos", *Horticultura*, vol. 117, pp. 33-38, 1996.
- [5] K.S. Yoo, E.J. Lee y B.S. Patil, "Changes in flavor precursors, pungency, and sugar content in short-day onion bulbs during 5-month storage at various temperatures or in controlled atmosphere", *J. Food Sci.*, vol. 77, pp. 216–221, 2012.
- [6] M. Leja, A. Mareczek, A. Starzynska y S. Rozek, "Antioxidant ability of broccoli flower buds during short-term storage", *Food Chem.*, vol. 72, pp. 219–222, 2001.
- [7] C. Kevers, M. Falkowski, J. Tabart, J.O. Defraigne, J. Dommes y J. Pincemail, "Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 55, pp. 8596–8603, 2007.
- [8] L. Gennaro, C. Leonardi, F. Esposito, M. Salucci, G. Maiani, G. Quaglia y V. Fogliano, "Flavonoid and carbohydrate contents in Tropea red onions: effects of homelike peeling and storage", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, pp. 1904–1910, 2002.
- [9] J.A. Tudela, E. Cantos, J.C. Espin, F.A. Tomas-Barberan y M.I. Gil, "Induction of antioxidant flavonol biosynthesis in fresh-cut potatoes. Effect of domestic cooking", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, pp. 5925–5931, 2002.
- [10] J.F. Ayala-Zavala, S.Y. Wang, C.Y. Wang, G.A. y Gonzalez-Aguilar, "Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit", *Food Sci. Technol.*, vol. 37, pp. 687–695, 2004.
- [11] M. Ichikawa, N. Ide y K. Ono, "Changes in organ sulfur compounds in garlic cloves during storage", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, pp. 4849–4854, 2006.
- [12] E.A. Barka, S. Kalantari y J. Makhlof, "Effects of UV-C irradiation on lipid peroxidation markers during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit", *Aust. J. Plant Physiol.*, vol. 27, pp. 667-671, 2000.
- [13] L. Costa, A.R. Vicente, P.M. Civello, A.R. Chaves y G.A. Martinez, "UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets", *Postharv. Biol. Technol.*, vol. 39, pp. 204-210, 2006.
- [14] R. Rivero, M. Ruiz, P. García, L. Lopez-Lefefre, E. Sanchez y L. Romero, "Resistente to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants", *Plant Science*, vol. 160, pp. 315-321, 2001.
- [15] M. Chang, S. Chen, C. Lee y Y. M. Chen, "Cold acclimation and root temperature protection from chilling injury in chilling-sensitive mungbean (*Vigna radiate* L.) seed lings", *Bot. Bull. Acad. Sin.*, vol. 42, pp. 53-60, 2001.
- [16] R.F. Sage y D. Kubien, "The temperature response of C3 and C4 photosynthesis Plant", *Cell and Environment*, vol. 30, pp. 1086-1106, 2007.
- [17] M.T. Brandl, "Plant lesions promote the rapid multiplication of *Escherichia coli* O157:H7 on postharvest lettuce", *Appl Environ Microbiol*, vol. 74, pp. 5285-2589, 2008.
- [18] G. Shama, "Process challenges in applying low doses of ultraviolet light to fresh produce for eliciting", *Postharv. Biol. Technol.*, vol. 44, pp. 1-8, 2007.
- [19] F. Artes y A. Allende. "Processing lines and alternative preservation techniques to prolong the self-life of minimally fresh processed leafy vegetables", *Eur. J. Hort. Sci.*, vol. 70, pp. 231-245, 2005.
- [20] L. Cisneros-Zeballos, "The use of controlled postharvest abiotic stresses as a tool for enhancing the nutraceutical content and adding-value of fresh fruits and vegetables", *J. Food Sci.*, vol. 68, pp. 1560-1565, 2003.
- [21] G.A González-Aguilar, M.A. Villegas-Ochoa, F. Cuamea-Navarro y J.F. Ayala-Zabala, "Efecto de la irradiación UV-C sobre la calidad de mango fresco cortado" En: Simposio Ibero-Americano de Vegetales Frescos Cortados. pp. 59-64, 2006.
- [22] G.A. González-Aguilar, R. Zabaleta-Gatica y M.E Tiznado-Hernández, "UV-C Irradiation activates the defense response in mango "Haden" fruit", *Postharv. Biol. Technol.*, vol. 45, pp. 108-116, 2007.

- [23] G. D'hallewin, M. Schirra, E. Manueddu, M. Pala y S. Ben-Yehoshua, "Ultraviolet C irradiation at 0.5 kJ m⁻² reduces decay without causing damage or affecting postharvest quality of Star Ruby grapefruit (*C. paradise* Macf.)", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 48, pp. 4571-4575, 2000.
- [24] P. Kinay, F. Yildiz, F. Sen, M. Yildiz y I. Karacali, "Integration of pre and postharvest treatment to minimize *Penicillium* decay of "Satsuma" mandarins", *Postharv. Biol. Technol.*, vol. 37, pp. 31-36, 2005.
- [25] R. Maharaj, J. Aru y P. Nadeu, "Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. "Capello") by delaying senescence", *Postharv. Biol. Technol.*, vol. 15, pp. 13-23, 1999.
- [26] G.E. Lester, D.J. Makus y D.M. Hodges, "Relationship between fresh-packaged spinach leaves exposed to continuous light or dark and bioactive contents: effects of cultivar, leaf size, and storage duration", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 58, pp. 2980-2987, 2010.
- [27] S. Noichinda, K. Bodhipadma, C. Mahamontri, T. Narongruk y S. Ketsa, "Light during storage prevents loss of ascorbic acid, and increases glucose and fructose levels in Chinese kale (*Brassica oleracea* var. *alboglabra*)". *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 44, pp. 312-315, 2007.
- [28] F. Artes y M. Lamúa (Eds.), *Conservación de los productos vegetales en atmósferas modificadas, Aplicación de frío en los alimentos*, Madrid, España, Mundi Prensa, pp. 105-125, 2000.
- [29] J.R. Bolton, *Ultraviolet applications handbook*, 2^o ed., Ayr, Ontario, Canada, Bolton Photosciences Inc., 2001.
- [30] R.O. Rahn, "Potassium Iodide as a Chemical Actinometer for 254 nm Radiation: Use of Iodate as an Electron Scavenger", *Photochemistry and Photobiology*, vol. 66, no. 4, pp. 450-455, 1997.
- [31] T. Kawano, "Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction", *Plant Cell Reports*, vol. 21, pp. 829-837, 2003.
- [32] T. Gaspar, C. Penel, T. Thorpe y H. Greppin, "Plant Peroxidases", University of Geneva, Switzerland, pp. 90-91, 1982.
- [33] R. Reuvini, M. Shimoni, Z. Karachi y J. Kuc, "Peroxidase Activity as a Biochemical Marker for Resistance of Muskmelon (*Cucumis melo*) to *Pseudoperonospora cubensis*", *Phytopathology*, vol. 82, pp. 749-753, 1992.
- [34] M.K. Lee, "Inhibitory effect of banana polyphenol oxidase during ripening of banana by onion extract and Maillard reaction products", *Food Chemistry*, vol. 102, pp. 146-149, 2007.
- [35] E. González, B. de Ancos y M. Cano, "Partial characterization of peroxidase and polyphenol oxidase activities in blackberry fruits", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 48, pp. 5459-5464, 2000.
- [36] G. Pataro, M. Sinik, M. Capitoli, D. Giorgio y G. Ferrari, "The influence of post-harvest UV-C and pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of tomato fruits during storage", *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, vol. 30, pp. 103-111, 2015.
- [37] M.A. Dublan, J.C.F. Ortiz-Marquez, L. Lett y L. Curatti, "Plant-adapted *Escherichia coli* show increased lettuce colonizing ability, resistance to oxidative stress and chemotactic response", *PLoS ONE*, vol. 9, no. 10, pp. 1-7, 2014.
- [38] A. Abushita, H.G. Daood y P. A. Biacs, "Change in Carotenoids and Antioxidant Vitamins in Tomato as a Function of Varietal and Technological Factors", *J. Agric. Food*, vol. 48, pp. 2075-2081, 2000.
- [39] A.J. Melendez-Martinez, I. M. Vicario, y F.J. Heredia, "Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos", *ALAN [online]*. vol. 54, no. 2, pp. 209-215, 2004.
- [40] J.E. Okon, L.C. Nyuk, A.Y. Yus y S. Rashidah, "Effects of simultaneous UV-C radiation and ultrasonic energy postharvest treatment on bioactive compounds and antioxidant activity of tomatoes during storage", *Food Chemistry*, vol. 270, pp. 113-122, 2019.
- [41] L.H. Liu, D. Zabarar, L.E. Bennett, P. Aguas y B.W. Woonton, "Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage", *Food Chemistry*, vol. 115, pp. 495-500, 2009.
- [42] G. Pataro, M. Sinik, M. M. Capitoli, G. Donsib y G. Ferrari, "The influence of post-harvest UV-C and pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of tomato fruits during storage", *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 30, pp. 103-111, 2015.
- [43] D. Bermúdez-Aguirre y G.V. Barbosa-Cánovas, "Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: Chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone", *Food Control*, vol. 29, pp. 82-90, 2013.
- [44] L. Castillo y M. Natali. "Efecto de la dosis de irradiación UV-C y tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, recuento de mohos y levaduras y aceptabilidad general en uva (*Vitis vinifera* L.) variedad Red Globe", Tesis de grado de la Escuela Profesional de Ingeniería en industrias alimentarias, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, Perú, 2016.
- [45] C.G. Alván-Mendoza, "Efecto de la dosis de irradiación UV-C y tiempo de almacenamiento a 1 °C sobre las características fisicoquímicas, recuento de mohos y levaduras y aceptabilidad general de arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi", Tesis de grado de la Escuela Profesional de Ingeniería en industrias alimentarias, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, Perú, 2014.

- [46] E.I. Guijarro-Jaramillo, "Influencia de la radiación UV-C sobre el tiempo de vida útil en uvilla (*Physalis peruviana* L.) sin capuchón", Tesis para obtención de Título de Ingeniera de Alimentos, Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito, Ecuador, 2012.
- [47] A. Beltrán, M. Ramos y M. Álvarez, "Estudio de la vida útil de fresas (*Fragaria vesca*) mediante tratamiento con radiación ultravioleta de onda corta (UV-C)", *Revista Tecnológica ESPOL – RTE*, vol. 23, no. 2, pp. 17-24, 2010.
- [48] M.J. Andrade-Cuvi, C. Moreno-Guerrero, A. Henríquez-Bucheli, A. Gómez Gordillo y A. Concellón, "Influencia de la radiación UV-C como tratamiento postcosecha sobre carambola (*Averrhoa carambola* L.) mínimamente procesada almacenada en refrigeración", *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 11, pp. 18 -27, 2010.
- [49] M.C. Erkan, Y. Wang y D.T. Krizek, "UV-C irradiation reduces microbial populations and deterioration in *Cucurbita pepo* fruit tissue", *Env. Exp. Bot.*, vol. 45, pp. 1-9, 2001.
- [50] A. Allende y F. Artes, "UV Radiation as a novel technique to preserve quality of fresh processed "Lollo Rosso" lettuce", *Food Res. International*, vol. 36, pp: 739-746, 2003a.
- [51] A. Allende y F. Artes, "Combined ultraviolet-C and modified atmosphere packaging treatments for reducing microbial growth of fresh processed lettuce", *Food Sci. Technol*, vol. 36, pp. 739-746, 2003 b.
- [52] D. Marquenie, C.W. Michiels, A.H. Geeraerd, A. Schenk, C. Soontjens, J.F. Van Impe y B.M. Nikolai, "Using survival analysis to investigate the effect of UV-C and heat treatment on storage rot of strawberry and sweet cherry", *Internat. J. Food Microbiol*, vol. 73, pp. 187-196, 2002.
- [53] C.B. Armas Aguayo, "Variación de índices de calidad de mortiño (*Vaccinium floribundum*) y uvilla orgánica (*Physalis peruviana*) tratados con radiación UV-C", Tesis para obtener título de Ingeniero de Alimentos, Universidad Tecnológica Equinoccial, Ecuador, 2013.
- [54] D. Millán Villarroel, L. Romero González, M. Brito y A.Y. Ramos-Villarroel, "Luz ultravioleta: Inactivación microbiana en frutas", *Saber*, Cumaná, vol. 27, no. 3, pp. 454-469, 2015.
- [55] M. Baka, J. Mercier, F. Corcuff, F. Castaigne y J. Arul, "Photochemical treatment to improve storability of fresh strawberries", *J. Food Sci.*, vol. 68, pp. 1068-1072, 1999.
- [56] R. Yoruk y M.R. Marshall, "Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: A review" *Journal of Food Biochemistry*, vol. 27, no. 5, pp. 36 –422, 2013.
- [57] M. Chisari, R.N. Barbagallo, G. Spagna y F. Artes, "Improving the quality of fresh-cut melon through inactivation of degradative oxidase and pectinase enzymatic activities by UV-C treatment", *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 46, pp. 463-468, 2011.