



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

**INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO  
POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
FRUTICULTURA**

**USO DE LUZ UV-C EN LA CALIDAD DEL ARÁNDANO  
AZUL (*Vaccinium ashei* Reade)**

**ARACELI GALLARDO SANDOVAL**

**T E S I S  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MEXICO**

**2013**

---

La presente tesis titulada: “**USO DE LUZ UV-C EN LA CALIDAD DEL ARÁNDANO AZUL (*Vaccinium ashei* Reade)**” realizada por la alumna **Araceli Gallardo Sandoval**, con la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
FRUTICULTURA**

**CONSEJO PARTICULAR**

**CONSEJERA:**



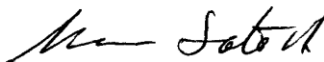
**DRA. MA. DE LOURDES C. ARÉVALO GALARZA**

**ASESORA:**



**DRA. ANA MARIA HERNÁNDEZ ANGUIANO**

**ASESOR:**



**DR. RAMÓN MARCOS SOTO HERNÁNDEZ**

**ASESOR:**



**DR. GABRIEL LEYVA RUELAS**

**Montecillo, Texcoco, Estado de México, Abril de 2013**

## **USO DE LUZ UV-C EN LA CALIDAD DEL ARÁNDANO AZUL (*Vaccinium ashei* Reade)**

**ARACELI GALLARDO SANDOVAL, M.C.  
Colegio de Posgraduados, 2013**

El arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade) es un producto altamente perecedero, por ello es necesario implementar tecnologías postcosecha que aumenten la vida de anaquel y conserven las propiedades nutrimentales. Dentro de éstas tecnologías se encuentra la luz UV-C (254 nm) que ha sido utilizada en los últimos años en productos hortofrutícolas con la finalidad de reducir la incidencia de microorganismos patógenos y aumentar contenido de fenoles totales. En este estudio, se utilizaron frutos de arándano azul frescos de huertas comerciales de Zacatlán, Puebla, México, que fueron sometidos a tratamientos con luz UV-C en dosis de 1, 3 y 5 kJ m<sup>-2</sup> y almacenados por 9 días a temperatura de 24 °C (60 % de HR) y 4 °C (80 % de HR) para evaluar la calidad organoléptica y nutricional. Así mismo se aplicaron dosis de 1, 3, 5, 7 y 9 kJ m<sup>-2</sup> para evaluar su efecto germinicida en *Salmonella typhimurium* en frutos artificialmente inoculados con la bacteria. Con la dosis de 1 kJ m<sup>-2</sup> se registró la menor pérdida de peso (10.81%); de manera significativa (P≤0.05); en contraste, las variables color (<sup>0</sup> Hue), contenido de azúcares totales y los sólidos solubles, no se vieron afectados por el tratamiento de luz UV-C. El contenido de fenoles aumentó significativamente en los primero tres días, mientras que la capacidad antioxidante y las antocianinas aumentaron en al menos uno de los días de almacenamiento. La aplicación de UV-C no mostró efecto significativo (P≤0.05) en la sobrevivencia, crecimiento y tiempo de generación de *S. typhimurium* en frutos frescos de arándano azul, aunque con las dosis de 3 y 7 kJ m<sup>-2</sup> se redujo la población (0.6 log<sub>10</sub>). Por lo que se concluye, que la irradiación con luz UV-C puede ser usada para mantener la calidad del fruto del arándano azul sin afectar su calidad nutrimental.

*Palabras clave:* arándano, luz UV-C, manejo postcosecha, antioxidantes.

## **USE UV-C LIGHT IN QUALITY BLUEBERRY (*Vaccinium ashei* Reade)**

**ARACELI GALLARDO SANDOVAL, M.C.  
Colegio de Posgraduados, 2013**

The blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) is a highly perishable product, so it's necessary to implement post-harvest technologies to increase shelf life and preserve the nutritional properties. Among these technologies is UV-C light (254 nm) which has been used in recent years in horticultural products in order to reduce the incidence of pathogenic microorganisms and increased total phenol content. In this study, we used fresh blueberries fruits of commercial orchards Zacatlán, Puebla, Mexico, who underwent treatment with UV-C at doses of 1, 3 and 5 kJ m<sup>-2</sup> and stored for 9 days at room 24 ° C (60% RH) and 4 ° C (80% RH) to evaluate the organoleptic and nutritional quality. Also applied dose of 1, 3, 5, 7 and 9 kJ m<sup>-2</sup> to evaluate their germicidal effects in *Salmonella typhimurium* in fruits artificially inoculated with the bacterium. With a dose of 1 kJ m<sup>-2</sup> was recorded less weight loss (10.81 %) significantly ( $P \leq 0.05$ ), in contrast, the variable color (Hue °), total sugar content and soluble solids, were unaffected by treatment of UV-C light. The phenol content was significantly increased in the first three days, while the antioxidant capacity and increased anthocyanins at least one day of storage. The application of UV-C showed no significant effect ( $P \leq 0.05$ ) on survival, growth and generation time of *S. typhimurium* in fresh blueberry fruit, although the doses of 3 and 7 kJ m<sup>-2</sup> decreased the population (0.6 log<sub>10</sub>). It is concluded that irradiation with UV-C light can be used to maintain fruit quality of blueberries without affecting its nutritional quality.

*Key words:* blueberry, UV-C light, postharvest handling, antioxidants.

# **Dedicatoria**

*A Dios:*

*Por darme fortaleza y paciencia en esta etapa de mi vida*

*Con cariño a mis padres:*

*Paula Sandoval Vilchis*

*José Gallardo Jiménez*

*Con cariño a mis hermanos:*

*Came, Paty y Toño*

*Con cariño a mis sobrinos:*

*Adrian y Juanito*

*Especialmente, con amor a:*

*Armando (hijo) y Alfredo; por su comprensión y cariño siempre*

## **Agradecimientos**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo otorgado para la realización de los estudios de Maestría en Ciencias en el Colegio de Postgraduados.

Al Colegio de Postgraduados en especial al Programa de Fruticultura por la oportunidad brindada.

A la Dra. Ma. de Lourdes Arévalo Galarza su amplia experiencia en la dirección del presente trabajo de investigación.

Al Sr. Juan Luna productor y proveedor del fruto de arándano azul (*V. ashei* Reade) en Zacatlán, Pue., por compartir su conocimiento y experiencia en manejo del cultivo.

Al Consejo particular: Dra. Ma. de Lourdes Arévalo Galarza por su apoyo desde antes del inicio de este trabajo, Dra. Ana María Hernández Anguiano por su apoyo, comprensión y elantadoras recomendaciones; Dr. Marcos Soto Hernández y Dr. Gabriel Leyva Ruelas por su amplia experiencia en la presente investigación.

A Paty Landa por el gran apoyo y consejos en trabajo de laboratorio.

A mis compañeros y amigos: Adriana Pérez, Mario, Ivan, Cesar, René, Lolis, Alma, Enrique, Lucero, Liz y mis amigos de Xicotepec de Juárez: Sofi, Adriana Bautista y Daniel; a todos ellos por el apoyo, experiencias inolvidables y amistad, los llevaré conmigo siempre, soy afortunada por haberlos conocido.

Al Sr. Jorge Ponce por el apoyo en momentos difíciles.

Al Dr. Daniel Nieto y Verito, por la confianza y momentos agradables.

A M.C. David Jaen y Dr. Becerril; por sus consejos, amenas pláticas y convivencia.

Al Sr. Arturo Gallegos, M.C. Cecilia, Sr. Domingo y M.C. Rubén, por su apoyo en el trabajo de laboratorio.

A Rocio, secretaria de Fruticultura por su apoyo y confianza incondicional.

A Emma, Isis y Celeste, por la convivencia tan agradable.

A todos aquellos que contribuyeron de alguna forma con este trabajo de investigación.

**Gracias**

# CONTENIDO

Página

RESUMEN.....	i
SUMMARY .....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS .....	iv
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
LITERATURA CITADA .....	4
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>6</b>
1.1. Importancia económica del arándano azul ( <i>Vaccinium ashei</i> Reade) .....	6
1.2.1. Índices de calidad y manejo postcosecha.....	8
1.2. Inocuidad en productos hortofrutícolas .....	10
1.3. Técnicas para la reducción de riesgos microbiológicos en productos hortofrutícolas ..	12
1.3.1. Baja temperatura .....	13
1.3.2. Atmósferas controladas (AC) y modificadas (AM).....	14
1.3.3. Irradiación.....	15
1.3.4. Compuestos químicos y soluciones sanitizantes .....	16
1.3.5. Tratamiento térmico.....	19
LITERATURA CITADA .....	20
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>USO DE LUZ UV-C EN LA CALIDAD DEL ARÁNDANO AZUL (<i>Vaccinium ashei</i> Reade).....</b>	<b>26</b>
RESUMEN.....	26
2.1. Introducción .....	27
2.2. Materiales y métodos.....	30
2.2.1. Material vegetal .....	30
2.2.2. Tratamientos .....	30
2.2.3. Variables .....	30
2.2.4. Análisis estadístico .....	36
2.3. Resultados y discusión .....	37

2.3.1. Pérdida de peso .....	37
2.3.2. Color (° Hue).....	39
2.3.3. Capacidad antioxidante .....	41
2.3.4. Fenoles totales .....	44
2.5.5. Antocianinas totales .....	47
2.5.6. Azúcares totales.....	50
2.4. Conclusiones .....	54
LITERATURA CITADA .....	55
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>EFFECTO DE LUZ UV-C EN LA SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO DE <i>Salmonella typhimurium</i> EN FRUTOS DE ARÁNDANO AZUL (<i>Vaccinium ashei</i> Reade) FRESCO...</b>	
RESUMEN.....	61
3.1. Introducción .....	62
3.2. Características del género <i>Salmonella</i> .....	63
3.2.1. Fuentes de contaminación y brotes asociados .....	64
3.2.2. Efecto germicida de la irradiación UV-C .....	65
3.3. Materiales y métodos.....	66
3.3.1. Preparación del inóculo .....	66
3.3.2. Inoculación de frutos de arándano.....	66
3.3.3. Tratamientos con luz UV-C.....	67
3.3.4. Análisis microbiológico .....	67
3.3.5. Crecimiento y tiempo de generación de <i>S. typhimurium</i> .....	67
3.3.6. Análisis estadístico .....	68
3.4. Resultados y discusión .....	69
3.4.1. Efecto de luz UV-C en la sobrevivencia.....	69
3.4.2. Efecto de luz UV-C en el crecimiento .....	71
3.4.3. Tiempo de generación de <i>Salmonella typhimurium</i> .....	76
3.5. Conclusiones .....	79
LITERATURA CITADA .....	80
<b>CONCLUSIONES GENERALES</b> .....	<b>84</b>



## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
2-1 Pérdida de peso (%) en frutos de arándano azul ( <i>Vaccinium ashei</i> Reade) fresco, irradiado con diferentes dosis de luz UV-C.....	38
2-2 Color (°Hue) de epidermis en frutos de arándano azul ( <i>Vaccinium ashei</i> Reade) fresco.....	40
2-3 Capacidad antioxidante (% RSC) en frutos de arándano azul ( <i>Vaccinium ashei</i> Reade) fresco irradiado con diferentes dosis de luz UV-C.....	42
2-4 Contenido de fenoles totales (mg EAG/100 g de fruto fresco) en frutos de arándano azul fresco irradiado con diferentes dosis de luz UV-C.....	45
2-5 Contenido de antocianinas totales en frutos de arándano azul sometido a diferentes dosis de luz UV-C.....	48
2-6 Contenido de sólidos solubles totales (°Brix) en frutos de arándano azul sometido a diferentes dosis de luz UV-C.....	51
2-7 Contenido de azúcares totales (glucosa y fructosa) (%) en frutos de arándano azul sometido a diferentes dosis de luz UV-C.....	52
3-1 Datos promedio de absorbancia para curva de crecimiento de de <i>Salmonella typhimurium</i> (St4-Km50) recuperadas de frutos de arándano azul ( <i>Vaccinium ashei</i> ) con diferentes tratamientos de luz UV-C.....	72
3-2 Crecimiento (unidades formadoras de colonias) de <i>Salmonella typhimurium</i> (St4-Km <sup>50</sup> ) crecida en caldo soya tripticaseina (CST) a 37 + 1 °C sin agitación, después de recibir diferentes dosis de luz UV-C en frutos de arándano azul.....	75
3-3 Significancia de sobrevivencia, crecimiento y tiempo de generación de <i>S. typhimurium</i> (St4-Km50) después de su recuperación de frutos de arándano azul previamente inoculados e irradiados con luz UV-C.....	76

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
2-1	Pesado de frutos de arándano azul para pérdida de peso.....	31
2-2	Frutos de arándano azul seleccionados para determinar color de epidermis .....	32
2-3	Determinación de capacidad antioxidante de arándano azul.....	33
2-4	Procesado de muestras de arándano azul para determinar fenoles totales.....	34
2-5	Procesado de muestras de arándano azul para determinar antocianinas totales.....	35
2-6	Pérdida de peso (%) en frutos de arándano azul ( <i>Vaccinium ashei</i> Reade) fresco.....	39
2-7	Capacidad de captación de radicales libres (% RSC) en frutos de arándano azul ( <i>Vaccinium ashei</i> Reade) fresco .....	43
2-8	Comparación del contenido de fenoles totales en frutos de arándano azul fresco.....	46
2-9	Contenido de antocianinas totales en frutos de arándano azul.....	49
2-10	Contenido de azúcares totales en frutos de arándano azul.....	53
3-1	Efecto de la irradiación de luz UV-C en la sobrevivencia de <i>S. typhimurium</i> en frutos de arándano azul.....	70
3-2	Crecimiento de <i>S. typhimurium</i> crecida en caldo soya tripticaseína (CST) a $37 \pm 1$ °C, obtenida de frutos inoculados e irradiados con luz UV-C.....	73
3-3	Curva de crecimiento de <i>Salmonella typhimurium</i> (St4-Km <sup>50</sup> ) crecida en caldo soya tripticaseína a $37 + 1$ °C y recuperada de frutos de arándano azul ( <i>Vaccinium ashei</i> Reade) con diferentes tratamientos de luz UV-C.....	74
3-4	Tiempo de generación de <i>Salmonella typhimurium</i> (St4-Km <sup>50</sup> ) inoculada en frutos de arándano azul previamente sometidos a tratamientos de luz UV-C.....	77

## INTRODUCCIÓN GENERAL

El arándano es una planta del género *Vaccinium*, que incluye muchos arbustos silvestres que producen bayas pequeñas, de color azul redondas y con vértices brillantes. De ahí la denominación en inglés del término "blueberry"; aunque tanto para el arándano azul como para el rojo la denominación genérica en ese idioma es huckleberry. El arándano es originario de Norteamérica, donde se tienen registros del cultivo desde 1900 con la clasificación botánica e incluyéndolo en diversos programas de selección y propagación (Figueroa, 2005; Galleta *et al.*, 1990).

Las primeras plantaciones comerciales de la especie *V. ashei* Reade, en Estados Unidos se presentaron en 1893 en Florida, aunque sin gran éxito dadas las características de fruto: tamaño pequeño, pulpa arenosa y falta de sabor. Hasta 1940 que el Departamento de Agricultura de Estados Unidos, realizó estudios con variedades desarrolladas para mejorar la calidad de fruto (Galleta *et al.*, 1990)

La producción del arándano azul ocurre principalmente en las regiones subtropicales de México, con época de cosecha entre los meses de octubre a mayo, cuando el mercado norteamericano carece de fruta fresca. Las variedades más importantes en México son aquellas de bajo requerimiento de frío, de tipo arbusto del sur (*Vaccinium sp.*), aunque también prospera la especie "ojo de conejo" ó "rabbiteye" (*V. ashei* Reade) considerada como tolerante a sequía, frío y pH ácido (López, 2010; Galleta *et al.*, 1990).

La importancia comercial que ha cobrado el fruto de arándano radica en el contenido de polifenoles y antioxidantes (Sinelli *et al.*, 2008; Faria *et al.*, 2005), de ahí que sea un fruto con gran demanda; principalmente en países desarrollados como Estados Unidos, Canadá, Alemania, Reino Unido y Francia (FAOSTAT, 2012). En México la producción es baja (0.03% del total) en comparación con la de Estados Unidos (60.29% del total) como principal productor mundial en 2010 (FAOSTAT, 2012), sin embargo, debido a la creciente demanda, se ha incrementado la

producción en los últimos cinco años, hasta en 180% anual pasando de 123.5 a 1 059 toneladas (SIAP, SAGARPA, 2012).

La escasa información sobre el manejo postcosecha y las técnicas de conservación de frutos de arándano azul en México son las principales causas de la pérdida de fruto y los altos costos de producción. Adicionalmente se cuenta con poca información sobre tratamientos preventivos que mantengan la inocuidad del producto. Hasta ahora las investigaciones se han enfocado principalmente a la búsqueda de variedades comercialmente productivas, resistentes a plagas y enfermedades, manejo de huerto y nutrición de la planta.

El manejo postcosecha de productos hortofrutícolas, tiene el objetivo de prolongar la vida de anaquel y evitar daños por incidencia de patógenos. Diversas técnicas se aplican para este manejo como: atmósferas controladas y modificadas, el uso de sustancias o agentes químicos y soluciones sanitizantes, tratamiento térmico e irradiación. Específicamente el efecto germicida de la irradiación con luz UV-C ha sido probado en distintos alimentos como un método superficial de sanitización no térmico, que tiene la ventaja de no dejar residuos por lo que se considera como una buena alternativa en manejo postcosecha de diversos productos hortofrutícolas (Rivera *et al.*, 2007; Guerrero y Barbosa, 2004).

Las enfermedades de transmisión alimentaria son uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, que puede generar pérdidas millonarias a los productores de frutas y hortalizas. Por citar un ejemplo, la bacteria enteropatógena *Salmonella* se ha asociado con importantes brotes epidemiológicos por el consumo de frutas y hortalizas frescas contaminadas. En México, en el año 2010 se detectaron 120,414 casos de paratifoidea y otras salmonelosis y 44,757 por fiebre tifoidea. También se han registrado 11,378 por shigelosis, 20,678 por giardiasis y 18,398 por hepatitis tipo A (CENAVECE, 2011). De esta manera, en México los rechazos por contaminación biológica de productos hortofrutícolas como: nopales frescos, tamarindo, fresas, cebollín, melón cantalupe, tomate, entre otros; se

han presentado por estar involucrandos en brotes como como Hepatitis A y salmonelosis los cuales han tenido consecuencias económicas de hasta 350 millones de dólares en tomate y 60 millones de dólares en melón cantalupe (SENASICA-SAGARPA, 2005). Por esta razón, es necesario implementar medidas preventivas para mantener la inocuidad de frutos como el arándano azul. México es un importante exportador de arándano azul fresco a Estados Unidos y Europa; por lo que es conveniente contar con productos inocuos, cuidar el comercio y la imagen del país.

La presente investigación tiene la finalidad de evaluar la calidad postcosecha de frutos de arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade) irradiados con luz UV-C bajo condiciones de almacenamiento de 24 y 4 °C, así como el efecto germinicida de la luz UV-C en *Salmonella typhimurium* en frutos artificialmente inoculados con la bacteria. Con ello determinar las características organolépticas, nutricionales y microbiológicas; evitar pérdidas postcosecha y prolongar la vida de anaquel sin alterar dichas propiedades.

## LITERATURA CITADA

- CENAVECE (Centro Nacional de Vigilancia epidemiológica y control de enfermedades). 2011. Anuarios de Morbilidad 1984-2010.  
Disponibile en: <http://www.dgepi.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html>.  
Accesado: 08 de agosto de 2012
- FAOSTAT. 2012. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Base de datos.  
Disponibile en: <http://www.fao.org/corp/statistics/es/>  
Accesado: 20 de junio del 2012
- Faria, A., Oliveira, J., Neves, P., Gameiro, P., Santos-Buelga, C., De Freitas, V., Mateus N. 2005. Antioxidant properties of prepared blueberry (*Vaccinium myrtillus*) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 6896 -6902
- Figueroa, G. 2005. Estudio de factibilidad de la producción de arándano en Catamarca. Dirección Provincial de Programación del Desarrollo. Catamarca, Argentina. 44 p.
- Galleta, G.J., Himelrick, D.G. and Chandler, L. 1990. *Small Fruit Crop Management*. Prentice Hall. New Jersey, United State of America. 602 p.
- Guerrero, B.J.A y Barbosa, C.G.V. 2004. Advantages and limitations on processing foods by UV Light. *Food Science and Technology International*. 10: 137-147
- López, M.J. 2010. Manejo del arándano y posibilidades de este cultivo en México. II Simposium Nacional de producción forzada en frutales. Colegio de Postgraduados. Estado de México, México. 110 p.
- Rivera, P.D.M., Gardea, B.A.A., Martínez, T.M.A., Rivera, D.M. y González, A.G.A. 2007. Postharvest biochemical effects of UV-C irradiation on fruit and vegetables. *Fitotecnia Mexicana*. 30 (4): 361-372
- SENASICA-SAGARPA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2005. Informe de evaluación nacional de alianza para el campo 2004, subprograma de inocuidad de alimentos. México. 46 p.

SIAP-SAGARPA (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2012. Base de datos de producción agrícola por cultivo.

Disponible en: <http://www.siap.gob.mx>

Accesado: 20 de marzo del 2011

Sinelli N., Spinardi A., Di Egidio V., Mignani I. y Casiraghi E. 2008. Evaluation of quality and nutraceutical content of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) by near and mid-infrared spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*. 50: 31-36

## CAPÍTULO I REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.1. Importancia económica del arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade)

El arándano es un fruto que pertenece a la Familia Ericaceae y al género *Vaccinium*. Esta familia, incluye a las frambuesas, grosellas y arándano rojo, mejor conocidos como berries (bayas) (Sinelli *et al.*, 2008) así como al arándano azul denominado mirtilo, blueberry (inglés), mirtillo (italiano) y ojo de conejo (*V. ashei* Reade), entre otros.

El arándano “ojo de conejo” es originario del sur de Estados Unidos, las plantas alcanzan alturas de hasta 4 m. A diferencia de otras especies relacionadas, el arándano es tolerante a altas temperaturas, sequía y variaciones en pH (menos sensible a la acidez), así como a tipos de suelo. Tiene bajos requerimientos de frío, mayor firmeza y vida de anaquel de fruto. Sin embargo, esta especie es susceptible al frío y al rompimiento del fruto en condiciones de alta humedad. Presenta también problemas de autofertilidad de las flores, lo que implica intercalar especies para lograr la polinización cruzada. En cuanto a los requerimientos de frío, existen variedades capaces de romper la dormancia con solo 25 horas frío. Esta especie de arándano azul es rústica y puede adaptarse a regiones con menor acumulación de frío, pero la calidad de fruta es menor. Algunas de las variedades comerciales son: Bonita, Gardenblue, Climax, Premier, NC, Beckyblue, entre otras (López, 2010; Childers, 1982).

El arándano azul (*Vaccinium sp.*), es la cuarta frutilla de interés económico en el mundo, debido al contenido de antioxidantes y a la resistencia del cultivo a diversas condiciones ambientales adversas. Sus propiedades antioxidantes se atribuyen al contenido de flavonoides, antocianinas, polifenoles y ácido ascórbico (Sinelli *et al.*, 2008; Faria *et al.*, 2005). En el mundo, los principales países productores son Estados Unidos y Canadá, donde la producción para el año 2010 ascendió a 312,047



toneladas, abarcando el 60.30 % y 26.76 %, respectivamente, mostrando en el periodo de 2005 a 2010, un crecimiento anual promedio de 4.9 % (FAOSTAT, 2012).

En México, *Vaccinium ashei* Reade es la especie de arándano azul producido en el Estado de Puebla, ocupando la mayor superficie, dados los costos que posee la plántula de algunas variedades a consecuencia de la patentes generadas en Estados Unidos. México ocupa el décimo octavo lugar en la producción con 0.03 % del total (FAOSTAT, 2012); sin embargo, pese a la poca producción, es uno de los principales países proveedores a Estados Unidos en la temporada de invierno. El consumo per cápita en ese país ha crecido notablemente en los últimos quince años. A inicios de 1990 se ubicó en torno a los 90 g y en el período 2000 a 2002, en 150 g anuales. Este incremento (70 %) se asocia tanto a un giro en las preferencias de los consumidores como a la mejora de los procesos de conservación de la fruta (Figueroa, 2005).

El arándano es un cultivo introducido en México, donde la mayor investigación de variedades y nuevos genotipos, la poseen las empresas privadas. Los estados productores son: Jalisco, Puebla y Estado de México, con participación en producción de 88, 11 y 0.3 %, respectivamente, excepto Michoacán que no aparece en las estadísticas oficiales de SIAP-SAGARPA. En 2010 la producción en México mostró un crecimiento promedio anual de 180 % durante el periodo 2005-2010, teniendo un máximo crecimiento en 2009, por mayor superficie cosechada con rendimiento de 8.4 toneladas/ha (SIAP-SAGARPA, 2011).

Como frutilla, el arándano azul ocupa el cuarto lugar en producción, sin embargo la utilidad que llega a tener es mayor que cualquier cultivo básico; comparado con frijol, la rentabilidad del arándano llega a ser de hasta siete veces más, por superficie cultivada (López, 2010; SIAP-SAGARPA, 2011).

Dentro de las exportaciones, el valor que llega a alcanzar el arándano es de casi 13,000 dólares por tonelada, es decir, más de 160 mil pesos por tonelada en el

continente europeo (FAOSTAT, 2012). En México el precio medio rural por tonelada alcanza los 18,000 pesos (SIAP-SAGARPA, 2011), sin embargo se conoce por la cadena productiva que los intermediarios pueden alcanzar precios mayores en la venta del fruto con presentar el producto empacado y etiquetado, incluso llegando hasta 5 veces o más el precio en huerta, aun cuando el manejo postcosecha no sea el adecuado sobre todo manteniendo la cadena de frío.

### **1.2.1. Índices de calidad y manejo postcosecha**

Los frutos, por su alto contenido de agua y comúnmente piel delgada, son altamente susceptibles a daños mecánicos en postcosecha, aunado a los cambios fisiológicos por la maduración. Lo anterior afecta la vida postcosecha directamente a través de las pérdidas de agua y entrada de microorganismos patógenos que influyen en la calidad del producto fresco (Mitra, 1997; Shewfelt y Prussia, 1993).

El índice de cosecha del arándano azul se basa en el color de la superficie de la fruta que durante el proceso de maduración se torna rojizo-purpúreo para convertirse en azul cuando está completamente maduro, debido a la formación de antocianinas y fenoles. El índice de calidad refiere a la apariencia (color, tamaño, forma y ausencia de defectos), firmeza, sabor (sólidos solubles totales, acidez titulable, contenido de almidón y compuestos volátiles aromáticos) y valor nutritivo (vitaminas A y C), además de el número de días después de la floración (Figueroa, 2005; Figueroa *et al.*, 2010b; Coletto, 1995).

Para cosechar frutos de arándano, éstos deben presentar niveles de sólidos solubles totales en intervalo de 12 a 14 °Brix (Figueroa *et al.*, 2010b; Lobos, 1988), pero otros autores consideran que los frutos maduros alcanzan 15 °Brix para reunir las cualidades organolépticas adecuadas (Galleta *et al.*, 1990).

La velocidad de deterioro (percecibilidad) de productos hortofrutícolas, generalmente es proporcional a su velocidad de respiración. En los frutos el

climaterio respiratorio es el momento que corresponde al estado óptimo de madurez de consumo y la caída postclimatérica de la respiración indica el inicio de un metabolismo degradativo y la entrada en senescencia. En los frutos no climatéricos el estado óptimo de consumo se alcanza en la planta (Díaz, 2002; Coletto, 1995), por lo que no presentan modificaciones fisiológicas importantes después de la cosecha, sino entran en senescencia. En este sentido el arándano se ubica dentro de los frutos no climatéricos, con tasa de respiración baja de 3, 9 y 34 mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> a 0, 10 y 20 °C, respectivamente. Los arándanos azules aun siendo no climatéricos, responden al etileno, pero se deben cosechar casi o totalmente maduros ya que el sabor no mejora tras la cosecha. La remoción de etileno del almacenamiento puede reducir el desarrollo de enfermedades. En este fruto, el balance hormonal es importante para que el proceso de maduración inicie; el etileno solo interviene en cambio de color, y el ácido abscísico, en el control del proceso (Figuerola *et al.*, 2010b).

El fruto de arándano azul es una baya casi esférica, con tamaño variable de 0.7 a 1.5 cm de diámetro, de color azul claro a negro. La epidermis del fruto está cubierta por secreciones cerosas que le dan una terminación muy atractiva, como en el caso de las ciruelas. El color de un arándano maduro depende de: la intensidad de la pigmentación por antocianinas en la piel del fruto y de la cantidad y la durabilidad de la cera natural en la superficie del fruto (Godoy, 2002).

La cosecha del arándano azul se realiza en las primeras horas del día, puede realizarse en forma manual o mecánica. El fruto se colecta haciendo uso de las buenas prácticas de campo y de manejo, donde se incluye utilizar guantes para la cosecha y uniforme especial para evitar cualquier tipo de contaminación. El uso de bandejas de PET es conveniente pues evita que el fruto tenga agua adherida en la epidermis y proliferen hongos y bacterias que afectan la calidad. Para la cosecha de arándano azul, es conveniente que se realice cuando no llueva o el fruto presente rocío, ya que esto contribuye a las enfermedades postcosecha y a su ruptura. Una vez cosechado el fruto, se lleva a un centro de acopio para selección y empaque. Las

cajas se etiquetan y guardan en cámaras frigoríficas (máximo 7 días) a temperatura de 2 a 4 °C.

Los arándanos se comercializan en bandejas PET o clamshells de 125 g para el mercado europeo y de 170 g para el de Estados Unidos, (Figueroa, 2005). Aun cuando sea alta la perecibilidad del arándano, se transporta hacia Estados Unidos vía terrestre con transporte refrigerado desde México, siendo esto una oportunidad de reducir los costos de transporte; sin embargo cuando se exporta el fruto a Europa, se realiza vía aérea o marítima (Almaguer, 1991). De esta manera el transporte y manejo de los frutos debe ser con entrega rápida y oportuna, empaque y condiciones óptimas de almacenamiento para conservar la calidad (Pantástico, 1984).

## **1.2. Inocuidad en productos hortofrutícolas**

El consumo de frutas como el arándano se recomienda ampliamente para una dieta sana y equilibrada. Pero las frutas pueden contaminarse durante el proceso de cosecha, manejo postcosecha, empaque y almacenamiento con microorganismos patógenos de humanos. Cabe destacar que cualquier tipo de contaminante en los alimentos representa un serio riesgo para la salud de los consumidores. Estos riesgos a la salud pueden ir desde el desarrollo de enfermedades leves hasta serios problemas infecciosos o tóxicos que pueden causar la muerte de las personas (Díaz y Vernon, 1999; Berger *et al.*, 2010). A las enfermedades ocasionadas por el consumo de alimentos, frescos o procesados, contaminados se les conoce como “enfermedades transmitidas por alimentos” (ETA). Los alimentos pueden ser contaminados con agentes químicos, físicos o biológicos que afectan la salud de los consumidores.

Dos conceptos fundamentales relacionados con las ETA. Uno es “caso” el cual se define como dos o más individuos que muestra una o más de las características clínicas de una enfermedad. El otro es “brote epidemiológico” el cual se define como un evento masivo de enfermedad, que se confirma al observar un número inusual de

casos con relación a una misma sintomatología y una fuente común (Fernández, 2000). Las ETA son uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, debido a que ocasionan alta morbilidad y mortalidad, además de generar pérdidas económicas y altos costos a los servicios de salud (Matínez *et al.*, 2013).

Según la FAO un alimento inocuo se define como aquel que no afectará la salud del consumidor cuando sea preparado o ingerido de acuerdo con su uso previsto. Por lo que la inocuidad de un producto es una garantía de calidad de un producto, que reduce los riesgos de enfermedad por el consumo de alimentos contaminados. Cabe señalar que la contaminación puedan darse durante las fases de producción y manejo postcosecha de las frutas y hortalizas (Ávila *et al.*, 2005).

El comercio internacional de frutas y hortalizas es un sector que involucra millones de dólares, que ha tenido un crecimiento constante en las últimas dos décadas (Ávila *et al.*, 2005) y que representa uno de los principales rubros de generación de divisas para muchos países en desarrollo como México. Es por esto que la pérdida de valor del producto, como consecuencia de la disminución de la calidad durante la producción, el manejo postcosecha, el almacenamiento y la distribución, es un factor de gran importancia en la economía de países productores. En los últimos años se han registrado numerosos casos de rechazo de frutas y hortalizas en los mercados internacionales por la pérdida de calidad del producto. Entre estos se destacan por la detección de residuos de plaguicidas no permitidos o de concentraciones por arriba del límite de los que están permitidos, el incumplimiento de los requisitos de etiquetado y empaquetado, la presencia de contaminantes químicos, físicos y biológicos, la falta de la información nutricional necesaria y el deterioro de la calidad del producto por factores fisiológicos y fitopatológicos (Piñeiro, 2004)

El surgimiento de medidas relacionadas con la inocuidad de los alimentos se percibe como una nueva barrera que tienen que enfrentar los productores de frutas y hortalizas para colocar sus productos en mercados altamente competitivos. Entre estas medidas se encuentra la implementación de medidas de Buenas Prácticas

Agrícolas (BPA), Buenas Prácticas de Manejo (BPM) y Buenas Prácticas de Higiene (BPH) que aseguren la inocuidad de los productos hortofrutícolas, para mantener la competitividad y así, su participación y permanencia en el mercado (Ávila *et al.*, 2005).

Respecto a los contaminantes biológicos, las bacterias patógenas de humanos son el grupo que con mayor frecuencia se encuentra contaminando a los productos hortofrutícolas. Entre estas se encuentran especies de *Aeromonas*, *Campylobacter*, *Salmonella* y *Shigella* así como *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae* (Beuchat, 1998; Wu y Kim, 2007).

Los hongos también se reportan contaminando a este tipo de productos entre ellos tenemos a *Botrytis cinerea*, varias especies de *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Phomopsis*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma*, *Phytophthora* y *Pythium* (Tournas, 2005). De acuerdo con Figueroa *et al.* (2010a) y Choquer *et al.* (2007), los hongos de mayor incidencia durante la postcosecha de arándano azul (*V. corymbosum* L) son *Cladosporium herbarum* (1,6%), seguido por *Botrytis cinerea* (1,4%), *Penicillium* (0,5%), *Alternaria alternata* (0,4%), *Colletotrichum gloeosporioides* (0,1%) y *Pestalotia guepini* (0,05%). Aunque Galleta *et al.* (1990) mencionan que *B. cinerea* agente causal del moho gris causa daños importantes en fruto a bajas temperaturas.

### **1.3. Técnicas para la reducción de riesgos microbiológicos en productos hortofrutícolas**

La implementación de las BPA, BPM y BPH durante la producción y el manejo de productos hortofrutícolas son la mejor estrategia para asegurar la calidad y por ende la inocuidad de los productos hortofrutícolas frescos. Estas prácticas se basan en la reducción o eliminación de los riesgos físicos, químicos y microbiológicos mediante la identificación de las fuentes potenciales de contaminación entre las que se

encuentran el uso agrícola de agua, el acceso de animales silvestres y domésticos a las instalaciones de producción y el manejo de los productos (Fernández *et al.*, 2002; Angulo *et al.*, 1997; Koplan *et al.*, 1978). Sin embargo, el uso de técnicas que mantengan la calidad de las frutas y hortalizas y eliminen o prevengan la contaminación de estos productos por microorganismos patógenos son recomendables. A continuación se describen algunas de estas técnicas utilizadas en la actualidad.

### **1.3.1. Baja temperatura**

En el manejo postcosecha, la baja temperatura de refrigeración disminuye la incidencia de patógenos, además de retrasar la senescencia en frutos no climatéricos y alargar el preclimaterio en climatéricos (Almaguer, 1991).

Algunas de las frutas y hortalizas presentan vida de almacenamiento corta desde unos días hasta una semana como es el caso de frambuesas, fresas, ejotes y champiñones, por lo que es conveniente utilizar la refrigeración. Esta técnica se basa en eliminar el calor de campo y el calor de respiración de los productos por conducción y convección de aire frío forzado, además del control de la humedad relativa (Yahia e Higuera, 1991). Por ello, la refrigeración controla el crecimiento de muchas bacterias y hongos que producen pudriciones y retarda el metabolismo del producto. El crecimiento de los hongos es más rápido a 24 °C pero lento a temperatura de 4 °C o inferior (Pantástico, 1984).

Mitra (1997) recomienda temperaturas de refrigeración para alargar la vida de almacenamiento de aquellos productos hortofrutícolas que son insensibles al frío. Por ejemplo, de 7 a 13 °C (90-95 % HR) por 2 a 4 semanas para aguacate; de 13 a 14 °C (90-95 % HR) durante 1 a 4 semanas para plátano; de 10 a 15 °C (85-90 % HR) por 6 a 8 semanas para uva; de 10 a 13 °C (85-95 % HR) por 4 a 24 semanas para limón; de 10 a 14 °C (85-90 % HR) por 1 a 4 semanas para mango; de 1 a 9 °C (85-

90 % HR) durante 3 a 12 semanas para naranja; y de 7 a 13 °C (85-90 % HR) por 1 a 3 semanas para papaya.

### **1.3.2. *Atmósferas controladas (AC) y modificadas (AM)***

Este tipo de control implica la conservación de frutas y hortalizas en un depósito hermético donde los niveles de gases son constantemente vigilados, controlados y mantenidos en condiciones óptimas (Yasunaga, 2006). Las AC se basan en la reducción de la concentración de oxígeno (O<sub>2</sub>) y el incremento de la concentración de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), mostrando beneficios directos en desórdenes fisiológicos y reduciendo el crecimiento de patógenos (Mitra, 1997). Sin embargo tanto las AC como las AM no son necesariamente benéficas para todos los productos, por lo que se deben evitar condiciones extremas de O<sub>2</sub> y el CO<sub>2</sub> alrededor del producto (Yahia e Higuera, 1991).

El uso de AM mediante la aplicación de compuestos con permeabilidad a gases como la aplicación de recubrimientos, se presenta como un método exitoso para la conservación de frutas, debido a que ayudan a extender la vida útil de los productos puesto que la barrera que ellos crean es selectiva a la transmisión de gases, vapor de agua y otros solutos, previniendo así la deshidratación y retardando la maduración. Además, los recubrimientos mejoran la calidad y apariencia de los frutos y sirven como vehículo para sustancias de interés, tales como vitaminas, antioxidantes y compuestos con actividad antimicrobiana (Paull *et al.*, 1997).

Se comparó el efecto de dos recubrimientos; cera comercial (control) y cera comercial conteniendo un extracto etanólico de propóleos (5% p/v), sobre la vida en poscosecha de frutos de papaya (*Carica papaya* L. cv. Hawaiana) almacenados a temperatura ambiente (28 ± 2 °C) y humedad relativa entre 65 y 70%. El efecto de los recubrimientos se determinó mediante el índice de deterioro de los frutos y el recuento microbiano (mesófilos aerobios, mohos y levaduras), y los resultados mostraron que las papayas tratadas con el recubrimiento formulado con el extracto



de propóleos, presentó un menor deterioro en cuanto a su apariencia y mayor inhibición del crecimiento de microorganismos, además no se observaron diferencias, producto de los recubrimientos, en relación a las características fisicoquímicas de los frutos (Barrera *et al.*, 2012).

### **1.3.3. Irradiación**

El término irradiación se refiere a varios sistemas (microondas, visible, ultravioleta, electrones, rayos x, rayos gamma, etc), utilizados en dosis bajas. La Secretaría de Agricultura en Estados Unidos (USDA) autorizó el uso de la irradiación como un tratamiento cuarentenario en papaya para control de larvas de la mosca oriental (*Bactrocera dorsalis*) y algunas otras en frutas y hortalizas. Además, esta tecnología reemplaza a fumigantes perjudiciales para la salud y el medioambiente. Sin embargo estas irradiaciones tienen limitaciones ya que en dosis mayores a 0.3 kGy pueden causar diversos daños expresados en distintas formas como fitotoxicidad, quemaduras, ablandamiento, pérdida del contenido de algunos nutrimentos, entre otros (Yahia y Ariza, 2001; Vargas, 2010).

En espárragos liofilizados, se utilizó radiación gamma en dosis de 3, 6 y 9 kGy, encontrándose que a 3 kGy los microorganismos aerobios mesofilos y coliformes totales se reducen de  $9.3 \times 10^2$  UFC/g a menos de 10 UFC/g y de 0.36 NMP/g a <0.3 NMP/g, respectivamente (Vargas, 2010).

A bajas dosis, la irradiación con luz UV-C no forma subproductos y es efectiva sobre una gran variedad de microorganismos (Tardón *et al.*, 2011). Ha sido utilizada en dosis de 0.25 a 40 kJ m<sup>-2</sup> desde los 90's en productos hortofrutícolas con el objetivo de controlar la actividad fúngica de algunos patógenos como *Botrytis cinerea* en fresa; *Monillinia fructicola* en durazno; *Rhizopus stolonifer* en jitomate y papa; *Penicillium digitatum* en mandarina y limón; entre otros (Guerrero y Barbosa, 2004).

#### **1.3.4. Compuestos químicos y soluciones sanitizantes**

Mayoría de las frutas recién cosechadas y verduras son limpiadas, lavadas y desinfectadas para eliminar la suciedad, restos vegetales, residuos de plaguicidas y los microorganismos de la superficie de los productos básicos (Fallik, 2004; Sapers, 2001). Además de lavar con agua, varios factores se utilizan para mejorar el efecto del lavado y para reducir la carga microbiana, por ejemplo el lavado con cloro, inmersiones en agua caliente o enjuague y cepillado, ozono, agua electrolizada ácida alimentaria se usan otras opciones como peróxido de hidrógeno (0,5 a 1%) y ácido peracético. En general, el ácido peracético (PAA) tiene una buena eficacia en tanques de recepción de agua y aplicaciones de agua para saneamiento. El PAA tiene muy buen rendimiento, en comparación con el cloro y ozono, en la eliminación y el control de biopelículas microbianas (se adhiere fuertemente) en los tanques de recepción. En este momento, una desventaja es un mayor costo y la disponibilidad está limitada a grandes cantidades (Shlomo y Fallik, 2009).

En ensaladas tipo «baby» a base a brotes hortícolas (*Brassica narinosa* o *Brassica rapa* var. *rosularis*) se estudió la efectividad microbiológica del ácido ascórbico (AA) y dióxido de cloro ( $\text{ClO}_2$ ) y dichos compuestos se comportaron como buenos sustitutos del NaOCl, capaces de controlar el crecimiento microbiano y mantener la vida útil de brotes sin afectar la calidad sensorial del producto (Aguayo *et al.*, 2012). Mientras que en lechuga y chile dulce se utilizó ácido acético (AA), cítrico (AC), e hipoclorito de calcio (CL), para evaluación factores microbiológicos y físicos, inoculando *E. coli* (ATCC 25922) encontrando que los tratamientos con mayor reducción fueron mezclas de CL+AA, CL+AC, y AA con reducciones entre  $1.32 \pm 0.47$  y  $2.19 \pm 0.49$  Log UFC/cm<sup>2</sup>, además el tratamiento evaluado causó una disminución del valor L y a, mientras que el valor b fue igual al control. Se recomienda el uso de ácido acético para el lavado de lechuga en la planta post-cosecha, en caso de chile dulce no se pudo recuperar el conteo del microorganismo por la naturaleza de la superficie del chile (Cantor y Mendoza, 2012).

En jitomate (*Lycopersicon esculentum* L.) se evaluó la calidad y se determinó la relación del contenido de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) y ácidos orgánicos (ácido ascórbico y ácido cítrico) con la sobrevivencia de *E. coli* del patogruppo enterotoxigénico (ECET) adherida a los pericarpios de frutos almacenados a 7 y 22°C, lo que mostró la colonización y adherencia de ECET en la superficie del jitomate que se relacionó con los factores intrínsecos como el contenido de azúcares solubles, y acumulación de ácido ascórbico, y la temperatura de almacenamiento, debido a que estos compuestos propician condiciones adecuadas para el desarrollo y adherencia de las bacterias. Debido a ello las condiciones de almacenamiento influyeron diferencialmente sobre el crecimiento, adherencia de *E. coli* (ECET), así como en el color y firmeza de los frutos de jitomate (Ibarra, 2012).

Para algunos microorganismos patógenos como *Salmonella* y *E. coli*, los métodos probados han sido el uso de hipoclorito de sodio (NaClO) reduciendo la población bacteriana en melón Cantalupe, aunque tiene efectividad limitada, ya que puede producir subproductos nocivos, tales como cloraminas y trihalometanos (cloroformo es cancerígeno), de ahí la aplicación de ácidos orgánicos como ácido láctico que combinado con un tensoactivo expuesto a la fruta durante un período de 10 min a 35 °C puede reducir hasta 7.0 log de unidades formadoras de colonias (UFC's) de *E. coli* O157: H7 por cm<sup>2</sup> de corteza de melón y del peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) que han tenido éxito en la reducción del nivel contaminación de *S. pomona* en mismo fruto (Ayhan *et al.*, 1998; Ukuku, 2005; Ukuku y Sapers, 2006; Materon, 2003; Barak *et al.*, 2003).

El ozono (O<sub>3</sub>), es un compuesto muy reactivo con potente actividad antimicrobiana y numerosas aplicaciones potenciales en la agricultura y la industria alimentaria. Se ha demostrado su actividad en agua contra bacterias, virus, hongos y protozoarios; su poder antimicrobiano se basa en su capacidad oxidativa. En aplicaciones de gas o acuoso, es un agente antimicrobiano aprobado que se puede utilizar en contacto directo con alimentos, incluyendo las frutas y verduras mínimamente procesados

(Palou *et al.*, 2007) y de manera general, los hongos son más resistentes a este compuesto que las bacterias.

Uno de los casos de efectividad en la aplicación de ozono fue la evaluación de concentraciones de ozono en forma gaseosa entre 500 y 1000 mg m<sup>-3</sup> y concentración de ozono disuelto de 1 mg L<sup>-1</sup>. Los frutos se almacenaron durante 10 días a temperatura y humedad relativa no controladas en la poscosecha de fruta bomba (*Carica papaya*) var *Maradol-roja* para el control del crecimiento de hongos patógenos, encontrando que el promedio del porcentaje de la superficie afectada por la presencia de hongos en las frutas después de los tratamientos, fundamentalmente el causante de *Antracnosis*, resultó: con agua ozonizada 23%, con el gas de ozono 32%, con fungicida *Amistar* 40% y sin tratamiento 60%. El lavado con agua ozonizada fue la alternativa más favorable. El uso del ozono en todos los experimentos, tanto en fase acuosa y como en gas, mostró un retardo en la maduración del fruto, así como ningún efecto negativo en el porcentaje de germinación de las semillas y de contenido de sólidos solubles (°Brix) (Bataller *et al.*, 2010).

Otro de los métodos utilizados para la conservación de frutas y hortalizas es la tecnología combinada o también llamada tecnología de barreras que consiste en la combinación de dos o más factores, para producir un ambiente adverso y retardar o prevenir el posterior crecimiento de microorganismos que deteriora el alimento (Ulloa, 2007). Dicho método ha sido probado en productos mínimamente procesados como en el caso de papaya cortada (tiras o trozos), la mezcla de ácido cítrico, sorbato de potasio, bisulfito de sodio y sacarosa se usó para la disminución de dos barreras (*Aw* y pH). El tratamiento que presentó una menor *Aw*, mayor firmeza y menor ruptura fue el de infusión seca en trozos, los tratamientos en infusión húmeda obtuvieron menores valores de pH. Los panelistas aceptaron como “me gusta mucho” los tratamientos con tecnologías combinadas, independiente del tipo de corte y de infusión. Mientras que la papaya fresca fue la menos aceptada y recibió una valoración de me gusta poco (Auguste y Zhumi, 2012).

### **1.3.5. Tratamiento térmico**

En general, los tratamientos térmicos se han estudiado ampliamente para el control de hongos y bacterias postcosecha, pero causan cambios en apariencia y sensorial del producto con pérdidas de calidad, reflejadas en pérdida de color, firmeza y aumento de algunos compuestos bioactivos y metabolitos secundarios (Shama, 2007; Fallik, 2004; Fallik y Lurie, 2006).

El control de las enfermedades con agua caliente es económico, no tóxico y sin residuos; actúa sobre patógenos latentes y superficiales. Además de lavar el producto, homogeneiza la maduración e incrementa la síntesis de carotenoides y es específico para ciertos microorganismos por ejemplo: en durazno para controlar *Monilia fructicola* usando temperatura de 48.8 a 52 °C durante 3 o 4 minutos; en aguacate y mango para *Colletotrichum gloeosporioides* a 55 °C por 5 minutos; en limón y naranja para *Phytophthora sp.* de 46 a 48 °C por 2 minutos; en papaya para mosca de la fruta a 43.3 °C por 60 minutos, entre otros. Sin embargo las desventajas de este método es que acelera la maduración y su bajo control, por lo que requiere de precisión (Almaguer, 1991).

## LITERATURA CITADA

- Aguayo, E., Díaz, G.R., Silveira, A.C., Tarazona, D.M.P. y Escalona, V.H. 2012. Emerging Chemical Agents for Microbiological Control of Tatsoi Sprouts. *Agrociencia*. 16 (1): 59-67
- Almaguer, V.G. 1991. *Fruticultura general*. Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 416 p.
- Angulo, F.J., Tippen, S., Sharp, D. J., Payne, B. J., Collier C., Hill, J. E., Barrett, T. J., Clark, R. M., Geldreich, E. E., Donnell, D., and Swerdlow, D. L. 1997. A community waterborne outbreak of salmonellosis and the effectiveness of a boil water order. *American Journal of Public Health*. 87(4):580–584.
- Auguste, S.F. y Zhumi, V.M.F. 2012. Efecto del uso de tecnologías combinadas en las características físicas, químicas y sensoriales de papaya (*Carica papaya* L.). Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria, Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano, Honduras. 23 p.
- Ávila, G., Muñoz E., Chávez C. y Martínez L.R. 2005. Programa Estatal de Inocuidad en Frutas y Hortalizas. Chihuahua, México. 3 p.
- Ayhan, Z., Chism, G.W., and Richter, E.R. 1998. The shelf-life of minimally processed fresh cut melons. *Journal Food Quality*. 21: 29-40.
- Barak, J.D., Chue, B., and Mills, D.C. 2003. Recovery of surface bacteria from and surface sanitization of cantaloupes. *Journal of Food Protection*. 66 (10): 1805-1810.
- Barrera, B.E., Gil, L.M., García, P.C.M., Durango, R.D.L. y Gil, G.J.H. 2012. Use of a coating formulated with propolis for postharvest handling of papaya (*Carica papaya* L. cv. Hawaiian) Fruits. *Facultad Nacional Agraria de Medellín, Colombia*. 65 (1): 6497-6506
- Bataller, V.M., González, R.J.E., Veliz, L.E., Nápoles, G.D. y Álvarez, Á.C. 2010. Ozone use in the postharvest of papaya var Maradol-red. *CENIC*. 41: 1-11
- Berger, C.N., Sodha, S.V., Shaw, R.K., Griffin, P.M., Pink, D., Hand, P. y Frankel, G. 2010. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Microbiology*. 12 (9): 2385 -2397

- Beuchat, L.R.1998. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review. Food Safety Unit, WHO, Report WHO/FSF/FOS/98.2, 1-49
- Cantor, B.F.R. y Mendoza, V.M.. 2012. Efecto del uso de ácido acético, cítrico e hipoclorito de calcio para control de *Escherichia coli* (ATCC 25922) en lechuga (*Lactuca sativa* L.) y chile dulce (*Capsicum annuum* L.). Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria. Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano, Honduras. 27 p.
- Childers, N.F. 1982. Fruticultura moderna. Emisferio Sur. Vol. 2. Montevideo, Uruguay. 523 p.
- Choquer, M., Fournier, E., Kunz, C., Levis C., Pradier, J.M., Simon, A. y Viaud, M. 2007. *Botrytis cinerea* virulence factors: new insights into a necrotrophic and polyphageous pathogen. FEMS Microbiology Letters. 277: 1-10
- Coletto, M.J.M. 1995. Crecimiento y desarrollo de las especies frutales. Agroguías Mundi Prensa. Segunda edición. Madrid, España. 168 p.
- Díaz, M.D.H. 2002. Fisiología de árboles frutales. AGT editor. Distrito Federal, México. 390 p.
- Díaz, S.R. y Vernon, C.J. 1999. Microbiological safety of fresh and minimum-processed fruits. Ciencia y Tecnología Alimentaria. 2 (3): 133-136
- Fallik, E. 2004. Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing). Postharvest Biology and Technology. 32: 125-134.
- Fallik, E. y Lurie, S. 2006. Thermal control of fungi to reduce postharvest decay. In: Thermal Control of Microbial Contamination, J. Tang, E. Mitcham, S. Wang, S. Lurie (eds). CABI Publishing. pp.162-181
- FAOSTAT. 2012. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Base de datos.  
Disponibile en: <http://www.fao.org/corp/statistics/es/>  
Accesado: 20 de junio del 2012
- Faria, A., Oliveira, J., Neves, P., Gameiro, P., Santos, B.C., De Freitas, V., Mateus, N., 2005. Antioxidant properties of prepared blueberry (*Vaccinium myrtillus*) extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 6896–6902

- Fernández, E.E. 2000. Microbiología e inocuidad de los alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México. 931 p.
- Fernández, E.E., Saldaña, L.J., Rodríguez, G.O. y Cliver, D.O. 2002. Potential Salmonella transmission from ornamental fountains. *Journal of Environmental Health*. 65: 9-12
- Figuroa, S.D., Guerrero, C.J. y Bensch, T.E. 2010a. Effect of harvesting time and permanence in the orchard on the incidence of postharvest fungus on high blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.), cvs. Berkeley, Brigitta and Elliott during the season 2005-2006. *IDESIA*. 28 (2): 9-19
- Figuroa, S.D., Guerrero, C.J. y Bensch, T.E. 2010b. Effect of time to harvest and permanence in the orchard on postharvest quality in high blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.), cvs. berkeley, brigitta Elliott during the season 2005-2006. *IDESIA*. 28 (1): 79-84
- Figuroa, G. 2005. Estudio de factibilidad de la producción de arándano en Catamarca. Dirección Provincial de Programación del Desarrollo. Catamarca, Argentina. 44 p.
- Galleta, G.J., Himelrick, D.G. and Chandler, L. 1990. Small Fruit Crop Management. Prentice Hall. New Jersey, United State of America. 602 p.
- Guerrero, B.J.A y Barbosa, C.G.V. 2004. Advantages and limitations on processing foods by UV Light. *Food Science and Technology International*. 10: 137-147
- Godoy, C. 2002. El arándano: plantación y manejo del cultivo. Artículo de divulgación técnica. Unidad Integrada Balcarce INTA EEA - FCA UNMdP .  
Disponible en: <http://www.elsitioagricola.com/gacetillas/balcarce/bl20020412/arandano.asp>  
Accesado: 22 enero de 2013
- Ibarra, C.D. 2012. Calidad e inocuidad de jitomate (*Lycopersicum esculentum* L.) fresco almacenado a diferentes temperaturas: relación del contenido de azúcares y ácidos orgánicos con la adherencia de *Escherichia coli* (ECET) Colegio de Postgraduados. México. 101 p.
- Koplan, J.P., Doug, D.R., Swanston, W.H. y Tota, B. 1978. Contaminated roof-collected rainwater as a possible cause of an outbreak of salmonellosis. *Journal of Hygiene*. 81: 303-309.



- López, M.J. 2010. Manejo del arándano y posibilidades de este cultivo en México. II Simposium Nacional de producción forzada en frutales. Colegio de Postgraduados, Montecillo. México. 110 p.
- Lobos, W. 1988. El Arándano en Chile-El cultivo del arándano. INIA Carillanca. Temuco, Chile. pp. 191-202.
- Martínez, M.T.O., Gallardo, S.A. y García, O.C. 2013. Inocuidad en el manejo de productos hortofrutícolas. Agroproductividad. 6 (1): 33-40
- Materon, L.A. 2003. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 applied to cantaloupes and the effectiveness of chlorinated water and lactic acid as disinfectants. World Journal Microbiology and Biotechnology. 19 (8): 867-873
- Mitra, S.K. 1997. Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits. CAB international. Londres, UK. 423 p.
- Palou, L., Smilanick, J.L. y Margosan, D.A. 2007. Ozone applications for sanitation and control of postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. In: Recent Advances in Alternative Postharvest Technologies to Control Fungal Diseases in Fruits and Vegetables, Troncoso, R.R., Tiznado, H.M., Gonzales, L.A. Transworld Research Network. Kerela, India. pp. 39-70
- Pantástico, E.R.B. 1984. Fisiología de la postrecolección, manejo y utilización de frutas y hortalizas tropicales y subtropicales. Compañía Editorial Continental. 2da. Impression español. Distrito Federal, México. 663 p.
- Paull, R., Nishijama, W., Reyes, M. and Cavaletto, C. 1997. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). Postharvest Biology and Technology. 11 (3): 165-179
- Piñeiro, M. 2004. Mejorando la seguridad y calidad de frutas y hortalizas frescas: Manual de formación para instructores. Universidad de Maryland. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 122 p.  
Disponible en: [ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/manualfruits\\_es.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/manualfruits_es.pdf)  
Accesado: 23 de Julio del 2012
- Sapers, G.M. 2001. Efficacy of washing and sanitizing methods for disinfection of fresh fruit and vegetable products. Food Technology and Biotechnology. 39 (4): 305-311

- SIAP-SAGARPA (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2012. Base de datos de producción agrícola por cultivo. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx> Accesado: 20 de marzo del 2011.
- Shama, G. 2007. Process challenges in applying low doses of ultraviolet light to fresh produce for eliciting beneficial hormetic responses. *Postharvest Biology and Technology*. 44: 1-8
- Shewfelt, R.L. y Prussia, S.E. 1993. *Postharvest handling; a system approach*. Academic Press. California, United States of America. 358 p.
- Sinelli, N., Spinardi, A., Di Egidio V., Mignani, I. y Casiraghi, E. 2008. Evaluation of quality and nutraceutical content of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) by near and mid-infrared spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*. 50: 31-36
- Shlomo, S. y Fallik, E. 2009. *Postharvest Handling: A Systems Approach*. Institute of Food Technology and Storage of Agricultural Products. Bet Dagan, Israel. 352-398
- Tardón, A., Obando, J., Hinojosa, A., Luchsinger, L. y Escalona, V.H. 2011. Effect of UV-C radiation on the quality of minimally processed sprouts of fresh alfalfa. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 12 (1): 87-93
- Tournas, V.H. 2005. Spoilage of vegetable crops by bacteria and fungi and related health hazards. *Critical Reviews in Microbiology*. 31: 33 -44
- Ukuku, D.O. 2005. Effect of sanitizing treatments on removal of bacteria from cantaloupe surface, and re-contamination with *Salmonella*. *Food Microbiology*. 23: 289 -293
- Ukuku, D.O. y Sapers, G.M. 2006. Microbiological safety issues of fresh melons: *In Microbiology of fruits and vegetables*. Sapers, G.M., Gorny, J.R., Yousef, A.E. (eds). CRC. pp. 231-250
- Ulloa, J. 2007. *Frutas auto estabilizadas en el envase por la tecnología de obstáculos*. Universidad Autónoma de Nayarit. Nayarit, Mexico. 159 p.

- Vargas, R.J. 2010. Application of irradiation technology to the peruvian asparagus. ECIPERU. 7 (2): 63-68
- Wu, V. C.H. y Kim, B. 2007. Effect of a simple chlorine dioxide method for controlling five foodborne pathogens, yeasts and molds on blueberries. Food Microbiology. 24: 794 -800
- Yahia, E.M. y Ariza, F.R. 2001. Preservación de la calidad; tratamientos físicos en postcosecha de fruta y hortaliza. Horticultura-Extra. pp. 80 -88
- Yahia, E.M. e Higuera, C.I. 1991. Fisiología y tecnología postcosecha de productos hortícolas en México. LIMUSA. Distrito Federal, México. 351 p.
- Yasunaga, E., Noureddine, B. and Norio, S. 2006. Post-harvest technology for preservation of fresh fruits and vegetables by using controlled and modified atmosphere. In: Advances in postharvest technologies for horticultural crops: pp. 113-130.

## CAPÍTULO II

### USO DE LUZ UV-C EN LA CALIDAD DEL ARÁNDANO AZUL (*Vaccinium ashei* Reade)

#### RESUMEN

Dentro del grupo de frutillas se encuentra el arándano azul (*V. ashei* Reade), fruto cuya importancia económica se centra en sus características nutrimentales y por ello, en países como Estados Unidos, Canadá y Alemania, alcanza precio de hasta 13,000 dólares la tonelada. En México en el periodo de 2005 a 2010 se incrementó la superficie de sembrada y la producción nacional. Dicho valor se relaciona con la demanda no cubierta por Estados Unidos, donde se ha incrementado el consumo per cápita hasta 150 gramos, debido al cambio en los hábitos de consumo de frutas y hortalizas con alto poder antioxidante y valor nutricional. En este estudio se aplicó irradiación con luz UV-C en dosis bajas (1, 3 y 5 kJ m<sup>-2</sup>) a frutos frescos de arándano azul en postcosecha y evaluó la calidad del fruto a través de pérdida de peso, color, sólidos solubles, azúcares totales, capacidad antioxidante, antocianinas y fenoles totales, durante 9 días de almacenamiento a 4 y 24 °C. Las determinaciones se realizaron en 0, 3, 6 y 9 días, se encontró que las dosis de irradiación aplicadas no afectan la calidad del fruto de arándano azul. La pérdida de peso presentó significancia ( $P \leq 0.05$ ) en los días de determinación, la dosis de 1 kJ m<sup>-2</sup> fue la que registró menor pérdida, comportamiento similar con la temperatura de 4 °C; mientras que el color (° Hue), contenido de azúcares totales y los sólidos solubles, no se afectaron con la aplicación de luz UV-C. El contenido de fenoles, capacidad antioxidante y antocianinas aumentaron en al menos uno de los días de almacenamiento, siendo el contenido de fenoles totales el que presentó un aumento de hasta más de tres veces su valor inicial de 278 mg EAG/100 g fruto fresco. Por tanto, la irradiación con luz UV-C no afecta la calidad nutrimental del arándano azul (*V. ashei* Reade) y puede ser usada para mantener la calidad del fruto.

## 2.1. Introducción

Las especies de frutales del género *Vaccinium*, son altamente demandadas en el mercado internacional debido principalmente el contenido de polifenoles, antioxidantes y vitaminas A y C. Una de las especies de interés comercial es *Vaccinium ashei* Reade, fruto que puede alcanzar hasta \$13 000 US/tonelada.

Estados Unidos es el principal productor, con más del 60% de la producción mundial de arándano azul, con un incremento constante en el consumo per cápita con 150 gramos en 2002. Dicho incremento se relaciona con el cambio en las preferencias de los consumidores, que cada vez se orientan hacia productos hortofrutícolas frescos y de alto valor nutritivo.

Junto con la fresa, zarzamora y frambuesa, el arándano azul pertenece a las frutillas de mayor crecimiento en México, tal que ha aumentado su producción en 180 % promedio anual durante los años 2005 y 2010 con rendimiento promedio de 8.4 toneladas por hectárea sembrada. En los estados de Jalisco, Puebla y Estado de México, se concentra el 100% de la producción del país.

Debido a lo anterior, el manejo postcosecha es un factor primordial para mantener la calidad el fruto siendo las bajas temperaturas útiles para prolongar la vida de anaquel del fruto, además de reducir la proliferación de microorganismo patógenos.

La calidad no solo depende de las características organolépticas y fisiológicas del fruto, sino de la incidencia de hongos y bacterias que pueden contribuir a pudriciones, pérdida de textura, pérdida de humedad y riesgos a la salud.

En los últimos años algunos casos de enfermedades de transmisión por alimentos han estado relacionado con consumo de frutillas (fresas, zarzamoras, arándanos y frambuesas) en Estados Unidos, de esta manera del 2005 a 2010 se registraron más de 130 casos, los patógenos involucrados fueron: *Salmonella entérica*, *Cyclospora*

*cayetanensis*, virus de Hepatitis A, Norovirus y *E. coli* (CDC, 2013); aunque también se reportaron brotes por *Staphylococcus aureus* (Sivapalasingam *et al.*, 2004).

Existen diversas técnicas de manejo postcosecha para evitar la contaminación microbiana en productos hortofrutícolas, tal como el uso de compuestos químicos, sustancias sanitizantes e irradiación. Dichas técnicas presentan sus variantes dependiendo del tipo de fruto y microorganismo incidente.

La luz UV-C es una de las técnicas de manejo postcosecha, se aplica en frutas frescas, vegetales y tubérculos antes de almacenarse para reducir la carga microbiana inicial en la superficie del producto e inducir la resistencia del huésped a los microorganismos. El efecto benéfico de la luz UV-C en alimentos frescos se denomina 'hormesis' y el agente (luz UV) se llama 'hormetina' o 'efecto hormético' (Stevens *et al.*, 1997, 1999). El efecto hormético de la luz UV-C puede estimular la producción de fenilalanina amonía-liasa (PAL) que induce la formación de fitoalexinas (compuestos fenólicos), que incrementan la resistencia de frutas y hortalizas a microorganismos (Guerrero y Barbosa, 2004). El modo de acción de UV-C se basa en la ruptura de los enlaces del DNA, retrasando su reproducción o muerte celular; esto significa que el efecto bactericida de la UV-C es básicamente a nivel del ácido nucleico (Wright *et al.*, 2000).

La irradiación con luz UV-C, ha sido aplicada en diversos productos hortofrutícolas, tales como: en fresas y cerezas donde la irradiación (luz UV-C con dosis de 0.025, 0.05 y 0.10 J cm<sup>-2</sup>) combinada con pulsos de luz de 30 μs a una frecuencia de 15 Hz se utilizó con la finalidad de inactivar conidias de *Botrytis cinerea* y *Monilia fructigena*, logrando la reducción de 3 y 4 log (Marquenie *et al.*, 2003); en hongos shiitake (*Lentinus edodes*), la aplicación de UV-C (4 kJ m<sup>-2</sup>) en postcosecha retrasó el ablandamiento y mejoró la capacidad antioxidante por el incremento en la actividad enzimática de catalasa, superóxido dismutasa, ascorbato peroxidasa y glutatión reductasa (Jiang *et al.*, 2010).

La aplicación de la irradiación UV-C en arándanos maduros, disminuyó la descomposición causada por la pudrición por *Colletotrichum acutatum* y *C. gloeosporioides* y aumentó los niveles de antioxidantes en dosis de 2 y 4 kJ m<sup>-2</sup> (Perkins *et al.*, 2008); en sandía (*Citrulus lanatus* Thunb.) Matsum fresca cortada en cubos, la aplicación de luz UV-C a dosis de 1.4 kJ m<sup>-2</sup>, redujo la población microbiana en más de 1 Log de bacterias mesófilas aerobias, a diferencia del uso de sustancias desinfectantes como de peróxido de hidrógeno y cloro en concentraciones de 2% y 40 µLL<sup>-1</sup>, respectivamente (Fonseca y Rushing, 2006);

En fresas se ha encontrado que el uso de dióxido de cloro acuoso (ClO<sub>2</sub>) o ácido fumárico combinado con luz ultravioleta-C (UV-C) aplicando dosis de 5 kJ m<sup>-2</sup>, mantuvo la calidad postcosecha al reducir la población de bacterias aerobias totales, hasta 2.25 log UFC/g (Kim *et al.*, 2010); en brócoli mínimamente procesado y almacenado a 20°C después de tratamiento, la combinación de luz UV-C con dosis de 8 kJ m<sup>-2</sup> con aire caliente, contribuyó a mejorar la protección contra moléculas oxidantes no sólo por niveles crecientes de compuestos fenólicos y ácido ascórbico, sino también al aumentar la actividad de las enzimas involucradas en la eliminación de moléculas de oxígeno reactivas (Lemoine *et al.*, 2010); en frutas tropicales como el mango “Haden” almacenado por 18 días a 25°C posterior al tratamiento, la irradiación con luz UV-C en dosis de 2.46 y 4.93 kJ m<sup>-2</sup>, se utilizó para incrementar en la vida útil del fruto al disminuir la severidad de ataque fúngico (González *et al.*, 2007).

## **2.2. Materiales y métodos**

### **2.2.1. Material vegetal**

Los frutos de arándano se cosecharon en estado de madurez fisiológica (90-100 % de desarrollo de color) en un huerto comercial en la región de Zacatlán, Puebla. La cosecha se realizó en las primeras horas de la mañana. Posterior a la cosecha, los frutos se transportaron y conservaron en charolas transparentes a 14 °C y 50-60 % HR por 15 horas antes de aplicar los tratamientos.

### **2.2.2. Tratamientos**

Se seleccionaron los frutos firmes y libres de daños. Se dividió la cantidad cosechada, en cuatro lotes (un lote por tratamiento de irradiación) que fueron sometidos a irradiación con luz UV-C (254 nm) (Phillips® G30-T8) (60 cm de distancia) a las siguientes dosis: 1) 0 kJ m<sup>-2</sup>; 2) 1.0 kJ m<sup>-2</sup>; 3) 3.0 kJ m<sup>-2</sup>; 4) 5.0 kJ m<sup>-2</sup> con tiempos de exposición a 0, 13, 39 y 65 segundos, respectivamente.

Después de la irradiación los lotes se dividieron en 9 charolas con 200-250 g de fruto y se almacenaron a dos temperaturas: a) 24 °C y 60 % HR y b) 4 °C y 80 % HR, durante 9 días. Las variables se midieron en 0, 3, 6 y 9 días del periodo de almacenamiento.

### **2.2.3. Variables**

Las variables fisicoquímicas evaluadas fueron: pérdida de peso, color, capacidad antioxidante, fenoles totales, antocianinas totales y azúcares totales.



### 2.2.3.1. Pérdida de peso

Para la diferencia de peso a se tomó una charola (tres repeticiones) con 200 gramos (Figura 2.1) con balanza electrónica (ALSEP modelo EY-2200 A) y se calculó en base a la fórmula siguiente. :

$$PP(\%) = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde;

PP=pérdida de peso (%)

Pi= Peso inicial (gramos)

Pf=Peso final (gramos)



**Figura 2.1. Pesado de frutos de arándano azul para pérdida de peso.**

### 2.2.3.2. Color

La variable color en epidermis del fruto, se determinó por colorímetro (Hunter Lab D25A-PC2 optical sensor serie 15062) con escala L,a,b, (promedio de 10 frutos por tratamiento, Figura 2.2). Los datos de los espectros L a b, se utilizaron para calcular: °Hue, chroma, luminosidad como sigue:

$$Hue = \arccot \frac{a}{b}$$

$$Chroma = (a^2 + b^2)^{1/2}$$



**Figura 2.2. Frutos de arándano azul seleccionados para determinar color de epidermis.**

#### *2.2.3.3. Capacidad antioxidante*

Ésta variable se determinó a través del método descrito por Faller y Fialho (2010), donde se preparó una solución de DPPH (1,1-difenil-1-picrilhidrazilo) 100  $\mu\text{M}$  (Figura 2.3a) pesando 0.39432 g del reactivo y se aforó a 1 L con metanol al 80%, se tomaron 2.5 mL de ésta solución y se aforaron a 50 mL, se midió la absorbancia en espectrofotómetro (Genesys® 10 UV, Termo Spectronic) a 517 nm.

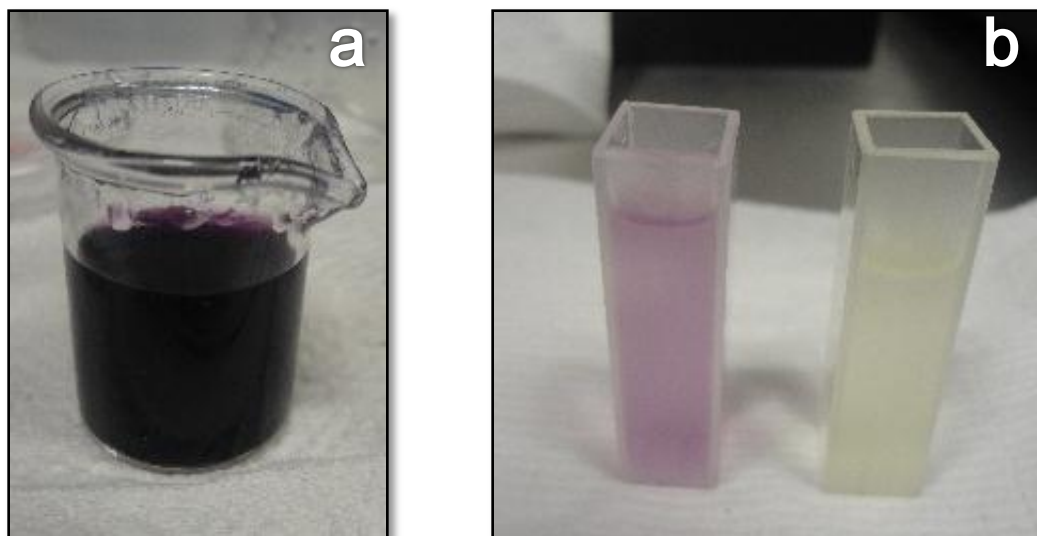
La preparación de la muestra se realizó pesando 5 g de arándano azul fresco, para posteriormente extraer el jugo (2-3 mL) con muselina, inmediatamente se adicionaron 3.9 mL de solución de DPPH (1,1-difenil-1-picrilhidrazilo) 100  $\mu\text{M}$ . Se agitó la muestra y se colocó en celdas de vidrio del espectrofotómetro (Figura 2.3b), donde se registró las absorbancia cada 10 minutos hasta completar 1 hora, tomando en cuenta la lectura final. Se utilizó la solución de metanol (80%), como blanco. La capacidad antioxidante se representó como capacidad de barrido del radical (RSC) utilizando la siguiente ecuación:

$$\%RSC = \frac{A_0 - A_r}{A_0}$$

Donde:

$A_0$ : absorbancia del DPPH (1,1-difenil-1-picrilhidrazilo) sin muestra al tiempo 0 =1.1.  
Valor considerado como 100%

$A_t$ : absorbancia de DPPH (1,1-difenil-1-picrilhidrazilo) de la muestra al tiempo final  
(60 minutos)

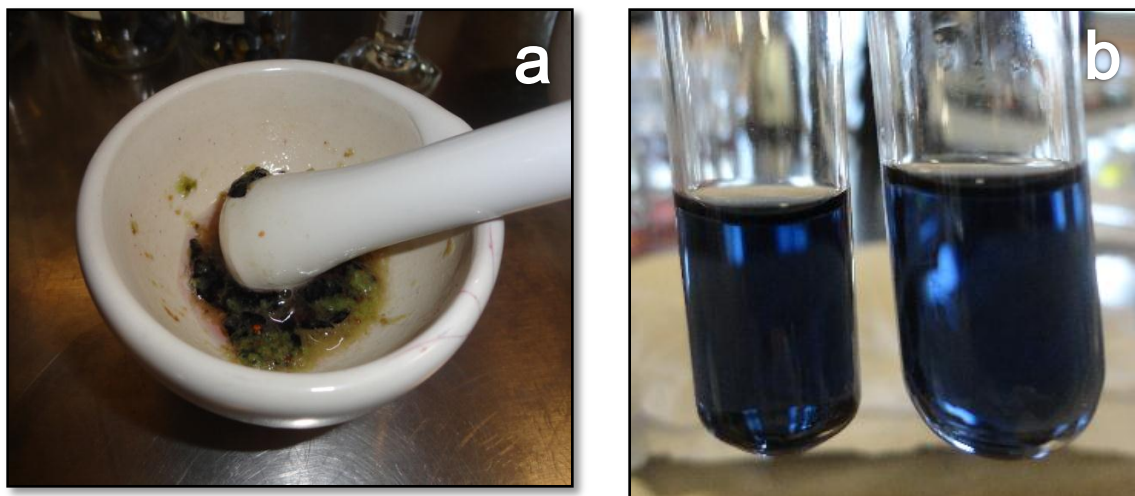


**Figura 2.3. Determinación de capacidad antioxidante de arándano azul: a) solución de DPPH 100 µM; b) celdas de lectura y decoloración del DPPH (1,1-difenil-1-picrilhidrazilo) + jugo arándano.**

#### 2.2.3.4. Fenoles totales

La variable de contenido de fenoles totales se determinó por método adaptado de Rodarte *et al.*, (2008) y se reportó como equivalentes de ácido gálico. Se tomó de cada tratamiento una muestra de 5 g de arándano fresco (tomado de 10 frutos al azar) pesando en balanza electrónica (OHAUS Voyager® Pro VP114CN) se maceraron en un mortero con 20 mL de metanol 100 % (Figura 2.4a). La mezcla se vació en un tubo de centrifuga y se centrifugó a 5000 rpm por 5 minutos (centrífuga 5804 Eppendorf®), se colectó el sobrenadante teniendo un volumen de 20 mL al que se adicionaron 100 µL del reagente Folin-Ciocalteau 2 N al 50 % (v/v), después de 3 minutos de reposo, se adicionaron 2 mL de carbonato de sodio (2 % p/v) (Figura

2.4b). Después de 30 minutos, se midió la absorbancia a 750 nm en un espectrofotómetro UV-vis (SP8-100) PYE UNICAM. La curva estándar se preparó usando el mismo procedimiento con ácido gálico (10, 20, 50 y 100 mg/L). El contenido de fenoles totales fue expresado en mg de equivalentes de ácido gálico (GAE)/ 100 g de peso fresco.



**Figura 2.4. Procesado de muestras de arándano azul para determinar fenoles totales: a) macerado y extracción con metanol 100%; b) coloración de muestras.**

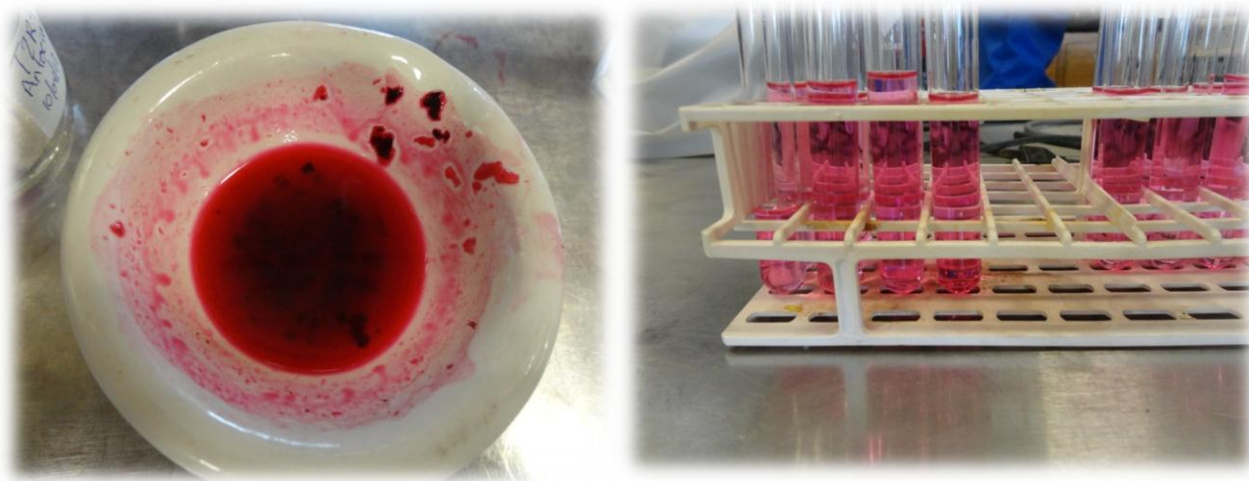
#### 2.2.3.5. Antocianinas totales

Se determinó con el método modificado descrito por Hassimoto *et al.*, (2008). Se pesó 1 g de fruto fresco (muestra de 5 frutos) en balanza electrónica (OHAUS Voyager® Pro VP114CN) de cada tratamiento, se maceró en un mortero y 20 mL de metanol acidificado (1% HCl, v/v) y agitó por 30 minutos, para dejar reposar la mezcla a 4°C por una noche (12 a 14 h). El extracto se centrifugó (centrífuga 5804 Eppendorf®) a 5000 rpm por 5 minutos para separar el sobrenadante y aforó a 50 mL con metanol acidificado (1% HCl, v/v) (Figura 2.5). Se realizó dilución 1:10, para leer absorbancia a 532 nm en el espectrofotómetro Genesys® 10 UV (Termo Spectronic), reportando mg/ g de fruto fresco usando la fórmula:

Factor de dilución= (100/2\*10/1)=500

Coeficiente de extinción de metanol acidificado ( $\epsilon$ ) =98.2

$$\text{Antocianinas totales } \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}}\right) = \frac{\text{absorbancia} \times \text{factor de dilución}}{\epsilon}$$



**Figura 2.5. Procesado de muestras de arándano azul para determinar antocianinas totales.**

#### 2.2.3.6. Azúcares totales

Se determinó por método modificado de Mustafá *et al.*, (2003), en donde se pesaron 5 g arándano fresco congelado en una balanza electrónica (OHAUS Voyager® Pro VP114CN), muestra que se maceró en seco con ayuda de un mortero (figura 6), la mezcla se colocó en un tubo eppendorf de 50 mL para centrifuga adicionando 20 mL de agua destilada en 2-3 lavados del mortero. La mezcla se centrifugó (centrífuga 5804 Eppendorf®) a 5000 rpm por 15 minutos a temperatura ambiente, se extrajo el sobrenadante y se filtró a través de papel filtro Whatman® 41 (Whatman, Kent, U.K.). El extracto se pasó a través de cartuchos Sep-Pack C18 ec (CHORMOBOND®, 3 mL/500 mg; acondicionados con 5 mL de metanol seguido de 5 mL de agua (Macherey-Nagel, técnica 300160); ambas soluciones grado HPLC

obteniendo una cantidad de 2 a 2.5 mL de muestra. Posteriormente se pasó la solución a través de acrodiscos Titan2® (44513-PV) (17 mm) y membrana (0.45 µm) e inyectó 10 µL a HPLC (Perkin Elmer® series 200), con automuestreador y detector índice de refracción (IR). Se preparó una solución para la curva estándar de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) de 30 mg/mL, utilizando concentraciones de 3, 6, 9, 12 y 15 mg/mL basado en solución de agua:metanol (9:1).

Se utilizó una precolumna y columna cromatográfica (TECROM GROUP®) ambas de amino de 150 mm de longitud, diámetro interior de 4.5 mm y un tamaño de partícula de 5.0 µm; usando como fase móvil la solución de acetonitrilo:agua (75:25). El flujo de inyección fue de 1 mL/min y la temperatura del horno de la columna fue de 35 °C.

#### **2.2.4. Análisis estadístico**

El experimento fue un diseño de dos factores en completamente al azar, con unidades experimentales de: 1 charola con 200 g para pérdida de peso, 1 fruto para color, 5 g para capacidad antioxidante, 5 g para fenoles, 1 g para antocianinas, 5 g para azúcares y sólidos solubles; con 10 repeticiones para color, 3 para fenoles y antocianinas y 2 para azúcares y sólidos solubles; se realizó un análisis de varianza y separación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ; SAS®, v. 9.0, 2002). Se verificó la normalidad de los resultados con la prueba de Anderson-Darling.

## 2.3. Resultados y discusión

### 2.3.1. Pérdida de peso

La evaluación de pérdida de peso arrojó que los frutos almacenados a 24 °C y 4 °C, presentan diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ), ya que a 24 °C presentan pérdidas de hasta 25 %, mientras que a 4 °C las pérdidas fueron de hasta 12 % después de 9 días de almacenamiento (Figura 2.6).

La pérdida de agua por transpiración acelera el marchitamiento del fruto y constituye uno de los principales factores de deterioro que afectan significativamente la calidad del fruto en poscosecha y está relacionado con el fenómeno de senescencia que entre otros procesos involucra, pérdidas en contenido de clorofila y cambios en la permeabilidad de membranas que favorecen las pérdidas de agua de células y tejidos (Buchanan, 1997). La pérdida de peso fue gradual y no existe recuperación de la estructura celular al liberar el agua del interior (Cuadro 2.1).

A través de los 9 días de almacenamiento a 4 °C, la dosis de  $1 \text{ kJ m}^{-2}$  registró la menor pérdida de peso con solo 4.91 %, comparado con el testigo ( $0 \text{ kJ m}^{-2}$ ). Mientras que a 24 °C no hubo diferencias significativas, de acuerdo al análisis estadístico (Figura 2.6). Lo anterior posiblemente debido a que la pared y membrana celular del fruto absorben energía en el rango de luz UV-C afectando su estabilidad de manera positiva respecto a la pérdida de peso (Rivera *et al.*, 2007)

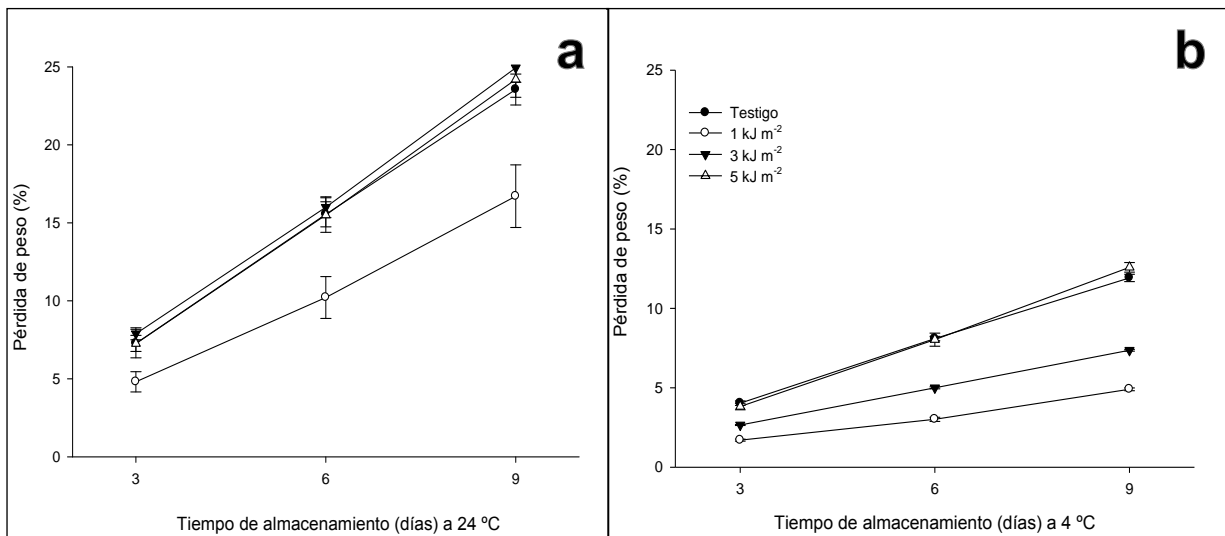
Cuadro 2.1. Pérdida de peso (%) en frutos de arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade) fresco, irradiado con diferentes dosis de luz UV-C.<sup>a</sup>

Temperatura	Dosis (kJ m <sup>-2</sup> )	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (días)		
		3	6	9
		PÉRDIDA DE PESO (%)		
24°C	0	7.27ab	15.55ab	23.55ab
24°C	1	4.81abc	10.21bc	16.71bc
24°C	3	7.89a	16.00a	24.94a
24°C	5	7.26ab	15.50ab	24.20a
4°C	0	4.03bc	8.10cd	11.92cde
4°C	1	1.70c	3.01d	4.91 e
4°C	3	2.67c	5.00cd	7.36 de
4°C	5	3.82c	8.03cd	12.58 cd
CV (%)		23.67	19.59	16.51
T (P-value)		*	*	*
D (P-value)		*	*	*
T*D		NS	NS	NS

<sup>a</sup> valores de la misma columna con letra diferente, son significativamente diferentes (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). \*:significativo; NS: no significativo, D: dosis de luz UV-C; T: temperatura; CV: coeficiente de variación

En este estudio la pérdida de peso registrada a 4 °C con hasta 4.91 % cifra que es similar a la registrada por Perkins *et al.* (2008) quienes encontraron en frutos de *V. corymbosum* una pérdida de entre 0.9 y 1.2 % después de 7 días a 5 °C mas 2 % después de 2 días a 20 °C, lo que indica que la refrigeración es necesaria para alargar la vida de anaquel del fruto y dicha pérdida también disminuyó utilizando luz UV-C en intervalo de 1 a 4 kJ m<sup>-2</sup>, por tanto la pérdida de peso de los frutos está relacionada estrechamente con la especie en estudio y condiciones de almacenamiento.





**Figura 2.6. Pérdida de peso (%) en frutos de arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade) fresco, de la región de Zacatlán, Pue. a) almacenamiento a temperatura de 24°C y 60 % HR; b) almacenamiento a temperatura de 4°C y 80 % HR. Tukey,  $P \leq 0.05$ ;  $n=3 \pm DE$ .**

### 2.3.2. Color ( $^{\circ}$ Hue)

El fruto de arándano azul presenta valores de Hue en el intervalo de 178-181; con valores de L de 36.81 para el día 0 de almacenamiento y con 19.01 para el día 6, parámetro que permite ubicar al fruto de arándano azul tendiendo al negro. El valor de chroma se ubicó entre 2.34 a 5.76, durante 3 y 0 días de almacenamiento, respectivamente, por lo que la pureza del color tiende a un fruto con opacidad.

El valor de Hue de la epidermis del fruto de arándano azul muestra diferencias significativas durante los primeros tres días de almacenamiento, siendo las dosis de 3 y 5 kJ m<sup>-2</sup> las que muestran significancias en esta etapa, sin embargo de manera general, durante los días posteriores no existe diferencia en las dosis de irradiación con luz UV-C aplicadas. Esto sugiere que el color no se ve afectado por la irradiación, incluso se puede apreciar que la temperatura baja mantiene el color (Cuadro 2.2). Resultados similares fueron reportados por Cía *et al.* (2007), quienes

mencionan un aumento, aunque no significativo, en la luminosidad (L) en la piel y cáscara de papaya 'Golden' sometida a irradiación con rayos Gamma en rango de 0.12 a 1.0 kGy, mismo comportamiento se presentó en los valores de chroma.

Cuadro 2.2. Color ( $^{\circ}$ Hue) de epidermis en frutos de arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade) fresco, irradiado con diferentes dosis de luz UV-C.<sup>a</sup>

Temperatura	Dosis (kJ m <sup>-2</sup> )	Tiempo de almacenamiento (días)		
		3	6	9
		COLOR ( $^{\circ}$ Hue)		
24°C	0	179.88b	178.55a	180.93a
24°C	1	179.95ab	178.51a	180.5ab
24°C	3	180.00ab	178.79a	180.1abc
24°C	5	179.97ab	179.15a	179.81bc
4°C	0	179.89b	178.85a	179.09c
4°C	1	179.93ab	179.42a	179.25c
4°C	3	179.98ab	179.13a	179.44bc
4°C	5	180.03a	179.12a	179.08c
CV (%)		0.06	0.58	0.43
T (P-value)		NS	NS	*
D (P-value)		*	NS	NS
T*D		NS	NS	NS

<sup>a</sup> valores de la misma columna con letra diferente son significativamente diferentes (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). El valor inicial de Hue fue de 179.08 y CV de 0.07 %. \*:significativo; NS: no significativo, D: dosis de luz UV-C; T: temperatura; CV: coeficiente de variación

En frutos de arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade) los compuestos que proporcionan el color azul-violeta oscuro en la epidermis son antocianinas, compuestos estables en medio ácido y en otros frutos alcanzan el color rojo dependiendo del pH y comúnmente unidas a un azúcar. Dichos compuestos se desarrollan durante el proceso de maduración del fruto, por lo que el color dependerá

del momento de cosecha (Friend y Rhodes, 1981; Pantástico, 1984) y no de la dosis de luz UV-C en rango de 1 a 5 kJ m<sup>-2</sup> probadas.

### **2.3.3. Capacidad antioxidante**

La capacidad antioxidante que posee el arándano azul (% RSC), osciló entre 79 y 90 % (Cuadro 2.3), lo que indica un excelente poder oxidativo. En frutos como manzana, papaya y tangerina los valores que se reportan son de 68.7, 79.6 y 50.8 %; respectivamente (Faller y Fialho, 2010).

En el presente estudio, la capacidad antioxidante presentó diferencias solo en el tercer día de almacenamiento, en donde todas las dosis de UV-C aplicadas incrementaron el poder antioxidante (Cuadro 2.3 y Figura 2.7), siendo favorable para el consumo como mencionan Avello y Suwalsky (2006), ya que al ingerir antioxidantes como vitaminas y los compuestos fenólicos neutralizan especies radicalarias encontradas en el plasma sanguíneo previniendo así, reacciones que pueden generar especies aún más nocivas (Halliwell, 1989; García *et al.*, 2001; Salunkhe y Kadam, 1995). Considerando además que los frutos del genero *Vaccinium*, se caracterizan por poseer una gran cantidad de diferentes compuestos con actividad antioxidante que pueden ser inocuos para la salud y que además, actúan a bajas concentraciones (Gaviria *et al.*, 2009; Beccaro *et al.*, 2006).

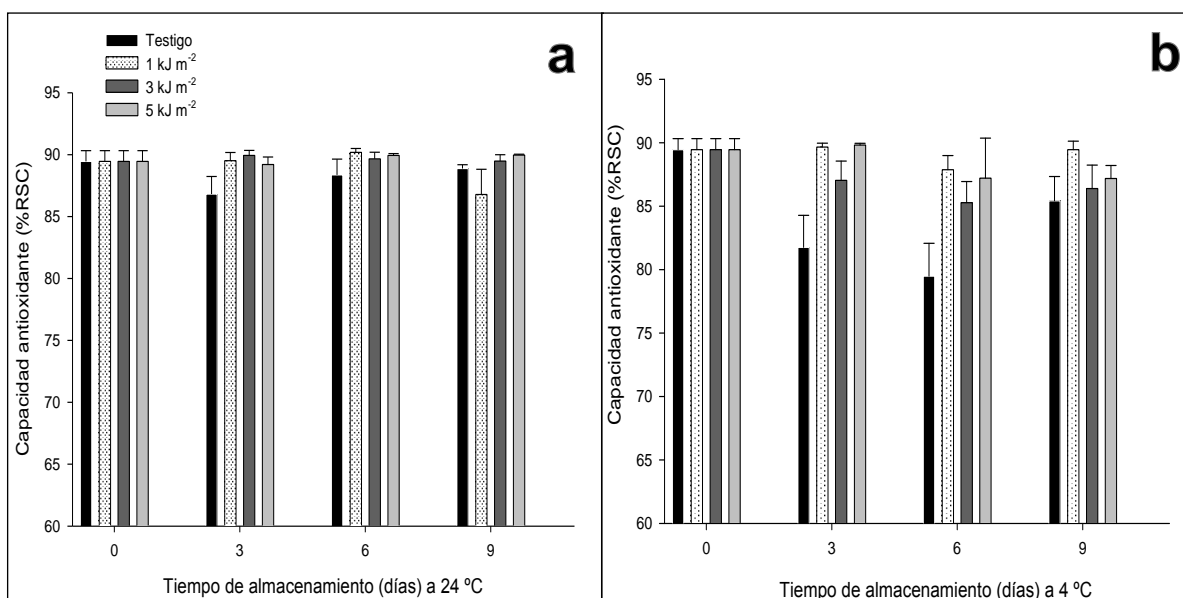
El efecto de la luz UV-C sobre la capacidad antioxidante (% RSC) en arándano es variable debido a las dosis utilizadas, el tiempo de exposición y especies o variedades estudiadas, tal que en frutos frescos de *V. corymbosum* L. cv. Duke expuestos a irradiación con UV-C con dosis de 2.15 y 4.30 kJ m<sup>-2</sup> resultaron en un incremento en la capacidad antioxidante de más de 10 µmol GAE/ g de peso fresco a la dosis mayor (4.30 kJ m<sup>-2</sup>) y en fresas se utilizaron exposiciones de luz UV-C de 1, 5 y 10 minutos (0.43, 2.15 y 4.30 kJ m<sup>-2</sup>) lo que provocó el cambio en la actividad enzimática de superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión oxidasa, dehidroascorbato reductasa, ascorbato peroxidasa en exposiciones de luz de 5 y 10

minutos; mientras que en distintos cultivares de blueberry el poder antioxidante fue mayor en 13% en cultivar “Collins” con dosis aplicada de 2-4 kJ m<sup>-2</sup> y para “Bluecorp” la dosis de 4 kJ m<sup>-2</sup> incrementa dicha capacidad (Erkan *et al.*, 2008; Perkins *et al.*, 2008).

Cuadro 2.3. Capacidad antioxidante (% RSC) en frutos de arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade) fresco irradiado con diferentes dosis de luz UV-C.<sup>a</sup>

Temperatura	Dosis (kJ m <sup>-2</sup> )	Tiempo de almacenamiento (días)		
		3	6	9
		CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (% RSC)		
24°C	0	86.82ab	88.37ab	89.39a
24°C	1	89.52a	90.18a	86.79a
24°C	3	89.94a	89.66a	89.49a
24°C	5	89.21a	89.94a	89.97a
4°C	0	81.76b	79.48b	85.42a
4°C	1	89.66a	87.88ab	89.46a
4°C	3	87.03ab	85.27ab	86.39a
4°C	5	89.82a	87.21ab	87.18a
CV (%)		2.75	3.85	2.90
T (P-value)		NS	*	NS
D (P-value)		*	NS	NS
T*D		NS	NS	NS

<sup>a</sup> valores de la misma columna con letra diferente son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05). El contenido inicial fue de 89.45 % y CV de 1.94 %. \*:significativo; NS: no significativo, D: dosis de luz UV-C; T: temperatura; CV: coeficiente de variación



**Figura 2.7. Capacidad de captación de radicales libres (% RSC) en frutos de arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade) fresco. a) almacenamiento a temperatura de 24°C y 60 % HR; b) almacenamiento a temperatura de 4°C y 80 % HR. Valor inicial de 89.45 % (n=3 ± DE)**

Las diferencias mostradas en arándano azul respecto al poder antioxidante, en corto tiempo posterior a la irradiación, puede deberse a causas de estrés que provoca la luz UV-C, la temperatura y lesiones; que afectan la fisiología de los frutos por desencadenar respuestas que podrían inducir a la acumulación de compuestos fenólicos y otros metabolitos secundarios (Kays, 1997; Saltveit, 1997; Sinelli et al., 2008; Perkins *et al.*, 2008). La activación de fenilalanina amonía liasa (PAL) es seguida por la síntesis de compuestos fenólicos de protección para reducir la pérdida de agua o el ataque de patógenos (Rhodes y Wooltorton, 1978). Actualmente se acepta el concepto de hormesis que establece que es posible obtener un efecto benéfico de la aplicación subletal de un agente capaz de inducir estrés físico o químico (Ruiz *et al.*, 2010).

#### **2.3.4. Fenoles totales**

La cantidad de fenoles que tiene el fruto de arándano azul es de importancia en la salud, ya que presenta alto contenido de estos metabolitos secundarios como compuestos que atrapan los radicales libres retardando el envejecimiento celular y debido a esa importancia se analizó el contenido de fenoles totales (Figura 2.8 y Cuadro 2.4). Los tipos de fenoles que contiene el fruto del género *Vaccinium* son antocianinas como malvidin 3-galactósido, delfinidin 3-galactosido, delfinidin 3-arabinosido, petunidin 3-arabinosido, petunidin 3-galactósido, malvidin 3-arabinosido, cianidina; flavonoles como myricetina y quercetina y en menores cantidades ácidos fenólicos como clorogénico y elágico, cianidin - 3- glucósido se encuentra en mayor proporción con hasta el 40 % del total de compuestos coloridos en arándano azul (Friend y Rhodes, 1981; Salunkhe y Kadam, 1995; Sinelli *et al.*, 2008).

La presente investigación muestra diferencia significativa en el contenido de fenoles totales durante 3 y 9 días de almacenamiento, incrementándose para primer periodo y reduciendo en el segundo; siendo las dosis de 3 y 5 kJ m<sup>-2</sup> que marcan dicha diferencia. El contenido de fenoles totales osciló entre 193 y 278 mg/100 g equivalentes de ácido gálico (EAG); a excepción del día 3 de almacenamiento donde los valores alcanzan hasta más de tres veces el promedio del contenido inicial (278.67 mg/100 g equivalentes de ácido gálico (EAG)) (Cuadro 2.4), siendo un efecto positivo. La temperatura muestra efecto significativo en el incremento en el contenido de fenoles totales durante los primeros tres días de almacenamiento a 24 °C, mientras que hasta los 9 días de almacenamiento, la temperatura de 4 °C presenta significancia positiva.

El incremento en el contenido de fenoles, se puede deber a la activación de reacciones enzimáticas al someter los frutos a condiciones de estrés como la luz UV, aunado a senescencia; se sugiere que la acumulación de fenoles es parte del mecanismo de defensa a UV, aunque no se tienen registros de aumento

considerable en corto tiempo de almacenamiento. Algunas de las enzimas involucradas en este proceso son PAL y chalcona sintasa (flavonoides) (Springob *et al.*, 2003; Rhodes y Wooltorton, 1978; Jiang *et al.*, 2010)

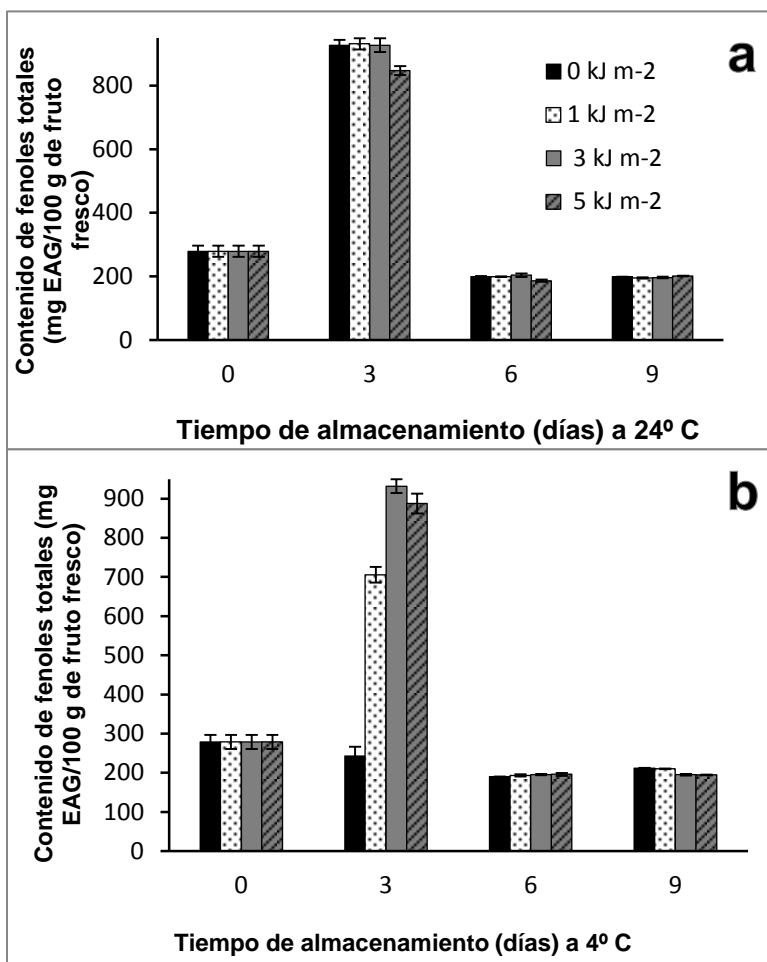
Cuadro 2.4. Contenido de fenoles totales (mg EAG/100 g de fruto fresco) en frutos de arándano azul fresco irradiado con diferentes dosis de luz UV-C.<sup>a</sup>

Temperatura	Dosis (kJ m <sup>-2</sup> )	Tiempo de almacenamiento (días)			
		0	3	6	9
		FENOLES TOTALES(mg EAG/100 g muestra fresca)			
24°C	0	278.67a	927.56a	198.88ab	198.88b
24°C	1	278.67a	932.00a	198.88ab	195.24b
24°C	3	278.67a	927.56a	203.64a	196.36b
24°C	5	278.67a	847.56a	186.00b	200.84b
4°C	0	278.67a	243.11c	189.92ab	211.77a
4°C	1	278.67a	705.33b	193.28ab	210.08a
4°C	3	278.67a	932.00a	195.24ab	195.24b
4°C	5	278.67a	887.55a	195.80ab	194.40b
CV (%)		12.66	4.95	3.09	1.50
T (P-value)		NS	*	NS	*
D (P-value)		NS	*	NS	*
T*D		NS	*	*	*

<sup>a</sup> valores de la misma columna con letra diferente son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05). El contenido inicial fue de 278.67 mg EAG/100 g muestra fresca y el CV de 12.66%. \*:significativo; NS: no significativo, D: dosis de luz UV-C; T: temperatura; CV: coeficiente de variación

En diversos cultivares de arándano azul, el contenido de fenoles totales expresado como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por kg de fruto, muestra diferencias de hasta 200 mg kg<sup>-1</sup>, con un contenido total de entre 2200 y 2600 mg kg<sup>-1</sup> y no muestran diferencias después del almacenamiento o con diversas dosis de luz

UV-C, aunque el comportamiento entre cultivares es distinto (1-4 kJ m<sup>-2</sup>) (Perkins *et al.*, 2008).



**Figura 2.8. Comparación del contenido de fenoles totales (mg equivalentes de ácido gálico EAG/100 g de fruto fresco) en frutos de arándano azul fresco, durante 9 días de almacenamiento. a) almacenamiento a temperatura de 24°C y 60 % HR; b) almacenamiento a temperatura de 4°C y 80 % HR. Valor inicial fue de 278.67 mg EAG/100 g muestra fresca (n=3 ± DE)**

El contenido de fenoles totales llega a ser del orden de 341-499 mg/100g de peso fresco utilizando cianidin-3-O-glucosido como referencia, siendo éste un flavonoide cuya variación según el estudio depende del cultivar en estudio. Otros autores como Häkkinen y Törrönen (2000), detectaron ácidos fenólicos y flavonoles, mostrando un



contenido total de 36 a 50 mg/100 g de peso fresco, en cultivares de fresa; mientras que para especies de *Vaccinium*, los datos de compuestos fenólicos analizados fue de 4.4 a 9.1 mg/100 g de peso fresco, valores bajos reportados por otros autores, debido a la no cuantificación de antocianinas donde este compuesto es mayoritario para especies de arándano azul. Además, se destaca el efecto altamente antioxidante de los frutos de *Vaccinium*, tres veces más alto que en frambuesas o fresas, lo que está significativamente correlacionado con su contenido de antocianinas (Gosch, 2003; Kalt *et al.*, 1999; Connor *et al.*, 2002).

Gaviria *et al.*, (2009), mencionan que el contenido de fenoles totales (mg EAG/100 g de fruto fresco) está en función de las variedades, ya que para mortiño (*Vaccinium meridionale* o arándano silvestre de Colombia) presenta un valor de 609 mg EAG/100 g de fruto fresco; Highbush blueberry de 181 a 473 mg EAG/100 g de fruto fresco, rabbiteye blueberry de 230 a 457 mg EAG/100 g de fruto fresco, Lowbush blueberry de 290 a 495 mg EAG/100 g de fruto fresco, y de 151 a 246 mg EAG/100 g de fruto fresco para la uva (*Vitis vinifera*). Por lo que el arándano aquí estudiado (*V. ashei* o rabbiteye), presenta un valor de 278 mg EAG/100 g de fruto fresco, valor dentro del rango rabbiteye blueberry mencionado por el autor. Mientras que Jonhson *et al.*, (2011) encontró que el contenido total de polifenoles es de 0.39 a 1.00 mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/g fruto fresco para *V. corymbosum*.

### **2.5.5. Antocianinas totales**

En frutos de arándano azul, las antocianinas que contiene son principalmente agliconas como delfinidina, malvidina y petunidina, unidas a un azúcar como galactosa, glucosa o arabinosa, además de cianidina y peonina (Cho *et al.*, 2004; Makus y Ballinguer, 1973; Ballinguer y Maness, 1970; Ballinguer *et al.*, 1972; Ballinguer *et al.*, 1979)

Las dosis de 3 y 5 kJ m<sup>-2</sup> mostraron significancia al aumentar el contenido de antocianinas totales en el día 6 de almacenamiento mostrando un incremento en este

metabolito secundario, mientras que a 3 y 9 días no se produce efecto significativo (Cuadro 2.5); pero además la temperatura de almacenamiento a 4 °C y 80 % de HR estos compuestos se incrementa hasta cubrir los 6 días bajo dichas condiciones.

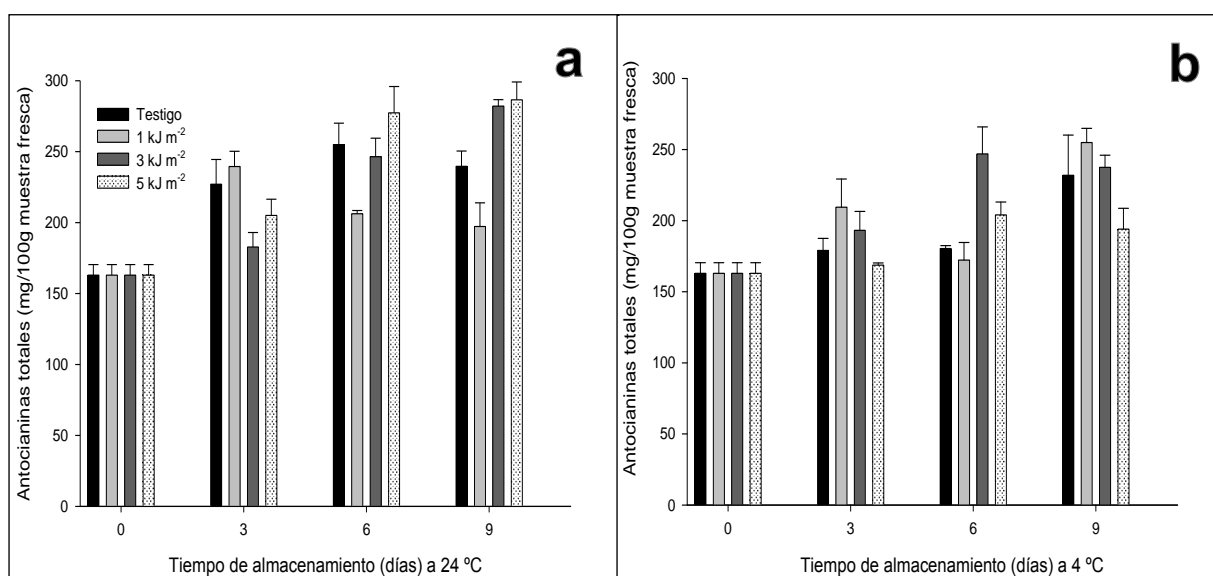
En frutos frescos de arándano azul sometidos a irradiación UV-C (Figura 2.9), el contenido inicial fue de 162.93 mg/100g de peso fresco llegando a 286.5 mg/100g de peso fresco, dato consistente y mayor al contenido de antocianinas en zarzamora reportado como 125.6 mg/100g de peso fresco (Hassimotto *et al*, 2008).

Cuadro 2.5. Contenido de antocianinas totales (mg/100 g muestra fresca) en frutos de arándano azul sometido a diferentes dosis de luz UV-C.<sup>a</sup>

Temperatura	Dosis (kJ m <sup>-2</sup> )	Tiempo de almacenamiento (días)		
		3	6	9
		ANTOCIANINAS TOTALES (mg/100 g muestra fresca)		
24°C	0	227.09a	254.92a	239.65ab
24°C	1	239.48a	206.21abc	197.21b
24°C	3	182.79a	246.44ab	282.07a
24°C	5	205.02a	277.32a	286.49a
4°C	0	179.06a	180.41bc	231.84ab
4°C	1	209.44a	172.27c	254.92ab
4°C	3	193.14a	246.95ab	237.44ab
4°C	5	168.71a	204.01abc	193.99b
CV(%)		12.71	11.61	12.37
T (P-value)		*	*	NS
D (P-value)		NS	*	NS
T*D		NS	NS	*

<sup>a</sup> valores de la misma columna con letra diferente son significativamente diferentes (Tukey, P≤0.05). El contenido inicial fue de 162.93 mg/100 g muestra fresca y CV de 9.21 %. \*:significativo; NS: no significativo, D: dosis de luz UV-C; T: temperatura; CV: coeficiente de variación

Investigaciones indican que el contenido de antocianinas totales para géneros de *Vaccinium*, en el caso de mortiño (*Vaccinium meridionale*) o arándano silvestre de Colombia es de 201 mg equivalentes de cianidin - 3- glicosido/100 g fruta fresca (Gaviria *et al.*, 2009), mientras que para los frutos de otras especies, se encuentra en el rango de 92 a 235 mg equivalentes de cianidin - 3- glicosido/100 g fruta fresca para el Northern Highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*); de 60 a 187 mg equivalentes de cianidin - 3- glicosido/100 g fruta fresca para el Rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) y de 290 a 300 mg equivalentes de cianidin - 3- glicosido/100 g fruta fresca para Lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) (Prior *et al.*, 1998; Kalt and Dufour, 1997; Capocasa *et al.*, 2008). Wang y Ballington (2007), encontraron para el deerberry (*Vaccinium stamineum*) un contenido de 371 a 630 mg equivalentes de cianidin - 3- glicosido/100 g fruto fresco.



**Figura 2.9.** Contenido de antocianinas totales (mg/100g fruto fresco) en frutos de arándano azul. Diseño experimental dos factores en completamente al azar, ANOVA (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Valor inicial fue de 162.93 mg/100 g muestra fresca,  $n=3 \pm DE$

### **2.5.6. Azúcares totales**

Los sólidos solubles totales están involucrados con el sabor de los frutos y son un indicador del momento de la cosecha en arándano azul. Los datos obtenidos muestran que no existen diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en el contenido de sólidos solubles totales ( $^{\circ}$ Brix), ni con las dosis de luz UV-C aplicadas ni con la temperatura de almacenamiento (Cuadro 2.6), por lo que las dosis aplicadas no afectan los sólidos solubles totales (SST). El intervalo de SST estuvo entre 11 y 14  $^{\circ}$ C, información que coincide con autores como Figueroa *et al.* (2010) y Lobos (1988) que consideran  $^{\circ}$ Brix de entre 12 y 14  $^{\circ}$ C como óptimo y aceptable para cosechar el fruto, aunque Galleta *et al.*, (1990) considera que puede llegar a 15  $^{\circ}$ Brix.

La técnica utilizada para detectar el contenido de azúcares en frutos arándano azul (*V. ashei* Reade) sometidos a irradiación con luz UV-C, no detectó presencia de sacarosa, por lo que el arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade) posee azúcares simples como glucosa y fructosa.

Cuadro 2.6. Contenido de sólidos solubles totales ( $^{\circ}$ Brix) en frutos de arándano azul sometido a diferentes dosis de luz UV-C.<sup>a</sup>

Temperatura	Dosis (kJ m <sup>-2</sup> )	Tiempo de almacenamiento (días)		
		3	6	9
		SOLIDOS SOLUBLES TOTALES (SST, $^{\circ}$ Brix)		
24°C	0	13.48a	13.75ab	14.03a
24°C	1	13.20a	12.38b	12.93a
24°C	3	12.38a	14.85a	12.93a
24°C	5	12.10a	14.58ab	12.65a
4°C	0	12.10a	12.93ab	14.58a
4°C	1	12.10a	14.03ab	13.20a
4°C	3	12.92a	12.93ab	12.10a
4°C	5	12.37a	14.03ab	12.65a
CV (%)		6.18	4.26	6.62
T (P-value)		NS	NS	NS
D (P-value)		NS	NS	NS
T*D		NS	*	NS

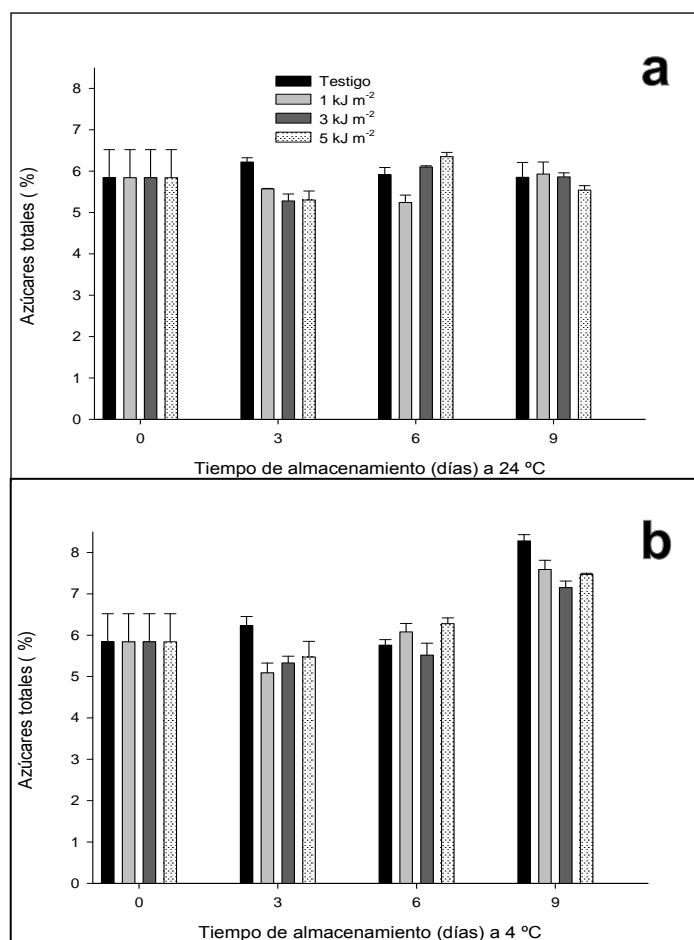
<sup>a</sup> valores de la misma columna con letra diferente son significativamente diferentes (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). El contenido inicial fue de 13.20  $^{\circ}$ Brix y coeficiente de variación (CV) de 5.89 %. \*:significativo; NS: no significativo, D: dosis de luz UV-C; T: temperatura; CV: coeficiente de variación.

Los frutos de arándano azul almacenados a 24 °C muestran mayor contenido de azúcares totales (%) (Figura 2.10) ( $P \leq 0.05$ ) de casi 2 % que aquellos almacenados a 4 °C. En el caso de las diferentes dosis de irradiación con luz UV-C no existe diferencia significativa con respecto al testigo (0 kJ m<sup>-2</sup>), lo que implica que el contenido de azúcares totales en *V. ashei* Reade no es diferente con o sin irradiación.

Cuadro 2.7. Contenido de azúcares totales (glucosa y fructosa) (%) en frutos de arándano azul sometido a diferentes dosis de luz UV-C.<sup>a</sup>

Temperatura	Dosis (kJ m <sup>-2</sup> )	Tiempo de almacenamiento (días)		
		3	6	9
		<b>AZÚCARES TOTALES (% FRUC + GLUC)</b>		
24°C	0	6.22a	5.91a	5.85c
24°C	1	5.57a	5.24a	5.93bc
24°C	3	5.28a	6.10a	5.86bc
24°C	5	5.30a	6.35a	5.54c
4°C	0	6.23a	5.76a	8.28a
4°C	1	5.09a	6.08a	7.59a
4°C	3	5.33a	5.52a	7.15abc
4°C	5	5.47a	6.28a	7.47ab
CV (%)		7.68	5.82	6.10
T (P-value)		NS	NS	*
D (P-value)		*	NS	NS
T*D		NS	NS	NS

<sup>a</sup> valores de la misma columna con letra diferente son significativamente diferentes (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). El contenido inicial fue de 5.84 g/100 g muestra fresca (%) y CV de 23.24 %. Fructosa: FRUC, glucosa: GLUC, sacarosa: SAC. \*:significativo; NS: no significativo, D: dosis de luz UV-C; T: temperatura; CV: coeficiente de variación



**Figura 2.10. Contenido de azúcares totales (GLUC+FRUC, %) en frutos de arándano azul. Diseño experimental dos factores en completamente al azar, ANOVA (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).  $n=2 \pm$  DE. a) almacenamiento a temperatura de 24°C y 60 % HR; b) almacenamiento a temperatura de 4°C y 80 % HR. Valor inicial fue de 5.84 % g/100 g muestra fresca (%).**

Algunos autores como Kader *et al.*, (1993) encontraron que los azúcares predominantes en *V. corymbosum* son glucosa y fructosa, y están presentes en aproximadamente la misma proporción (glucosa: fructosa, proporción de 1) y la proporción de sacarosa presente oscila entre 1.6 y 14.6 g por 100 g de azúcar total; mientras que Johnson *et al.*, (2011) el contenido de azúcares reductores (glucosa y fructosa) es de 6.4 % a 15.2 % en la misma variedad.

Ayaz *et al.*, (2001), reporta que para *Vaccinium arctostaphylos* y *V. myrtillus* en tres estados de madurez, contienen diferentes proporciones de azúcares glucosa, fructosa y sacarosa, siendo el estado de madurez fisiológica 26.20, 25.32 y 1.02 % en base fresca, respectivamente, para la primer variedad y 32.90, 32.90 y 1.81 % para la segunda variedad, además de determinar algunos alcoholes, que en conjunto con los azúcares muestran un total de 52.23 y 63.92 % para las variedades señaladas.

Para evitar las pérdidas por deterioro de la fruta en postcosecha, es indispensable la aplicación de pre-frío rápido a la fruta después de cosechada (Sudzuki, 1983), de esta manera se evitan altas pérdidas postcosecha del fruto, que se arrugue la epidermis y ablandamiento por pérdida de agua, incluso mostrando una textura adecuada hasta 9 días a 4°C y 80 % HR.

## 2.4. Conclusiones

La luz UV-C en dosis probadas de 1 a 5 kJ m<sup>-2</sup> no afectaron las propiedades nutricionales del fruto de arándano azul (*V. ashei* Reade).

La capacidad antioxidante, contenido de fenoles y antocianinas, se mantuvieron con las dosis de UV-C aplicadas y en algunos casos aumentaron su contenido durante periodo de almacenamiento, sobresaliendo las dosis 3 y 5 kJ m<sup>-2</sup>.

Los azúcares presentes en frutos de arándano azul (*V. ashei* Reade) estuvieron en el rango de 5 a 7% y fueron glucosa y fructosa en proporción cercana a 1:1, no modificándose el contenido con las dosis de UV-C aplicadas.

Los sólidos solubles totales para el momento de cosecha se presentaron en un intervalo de 11 a 14 °Brix, sin cambios con las dosis aplicadas de irradiación UV-C.



## LITERATURA CITADA

- Avello, M. y Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea (Concepción). 494: 161-172
- Ayaz, F.A. , Kadioglu, A., Bertoft, E.C. y Turna, I. 2001. Effect of fruit maturation on sugar and organic acid composition in two blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* and *V. myrtillus*) native to Turkey. New Zealand. Journal of Crop and Horticultural Science. 29 (2): 137-141
- Ballinguer, W.E., Galleta, G.J. y Maness, E.P. 1979. Anthocyanins of fruits of *Vaccinium*, sub-genera *Cyanococcus* and *Polycodium*. Journal of the American Society for Horticultural Science. 104 (4): 554 -557
- Ballinguer, W.E., Maness, E.P., Galleta, G.J. y Kushman, L.J. 1972. Anthocyanins of ripe fruit of a "Pink-Fruited" hybrid of Highbush blueberries, *Vaccinium corymbosum* L. Journal of the American Society for Horticultural Science. 97 (3): 381-384
- Ballinguer, W.E. and Maness, E.P. 1970. Anthocyanins in ripe fruit of the Highbush blueberry, *Vaccinium corymbosum* L. Journal of the American Society for Horticultural Science. 95 (3): 283 -285
- Beccaro, G., Mellano, M.G., Botta, R., Chiabrando, V. y Bounous, G. 2006. Phenolic and anthocyanin content and antioxidant activity in fruits of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and of highbush blueberry (*V. corymbosum* L.) cultivars in North Western Italy. Acta Horticulturae. 715: 553 -558
- Buchanan, W.V. 1997. The molecular biology of leaf senescence. Journal of Experimental Botany. 48 (307): 181-199
- Capocasa, F., Scalzo, J., Mezzett, B. y Battino, M. 2008. Combining quality and antioxidant attributes in the strawberry: the role of genotype. Food Chemistry. 111 (4): 872 -878.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention), United States of America. 2013. Base de datos de brotes de origen alimentario.  
Disponible en: <http://wwwn.cdc.gov/foodborneoutbreaks/Default.aspx>  
Accesado: 10 febrero del 2013

- Cho, M.J., Howard, L., Prior, R.L. y Clark, J.R. 2004. Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrophotometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84 (13): 1783 -1790
- Cia, P., Pascholati, S.F., Benato, E.A., Camili, E.C. and Santos, C.A. 2007. Effects of gamma and UV-C irradiation on the postharvest control of papaya anthracnose. *Postharvest Biology and Technology*. 43: 366 -373
- Connor, A.M., Luby, J.J., Tong, C.B.S., Finn, C.E. y Hancock, J.F. 2002. Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic content, and anthocyanin content among blueberry cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 127 (1): 89 -97
- Erkan, M., Wang, S.Y. y Wang, C.Y. 2008. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 48: 163 -171.
- Faller, A.L.K. y Fialho, E. 2010. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 23: 561 -568
- Figuroa, S.D., Guerrero, C.J. y Bensch, T.E. 2010. Effect of time to harvest and permanence in the orchard on postharvest quality in high blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.), cvs. Berkeley, Brigitta Elliott during the season 2005-2006. *IDESIA*. 28 (1): 79-84
- Fonseca, J.M. y Rushing, J. 2006. Effect of ultraviolet-C light on quality and microbial population of fresh-cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*. 40: 256 -261
- Friend, J. y Rhodes, M.J.C. 1981. Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables. Academic Press. New York, United States of America. 275 p.
- Galleta, G.J., Himelrick, D.G. and Chandler, L. 1990. Small fruit crop management. Prentice Hall. New Jersey, United State of America. 602 p.

- García, B.L., García, G.L.V., Rojo, D.D.M. y Sánchez, G.E. 2001. Plantas con propiedades antioxidantes. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*. 20 (3): 231-235
- Gaviria, M.C., Ochoa, O.C., Sánchez, M.N., Medina, C.C., Lobo, A.M., Galeano, G.P., Mosquera, M.A., Tamayo, T.A., Lopera, P.Y. y Rojano, B. 2009. Antioxidant activity and inhibition of lipid peroxidation of mortiño fruits extracts (*Vaccinium meridionale* SW.). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 8 (6): 519 -528
- Guerrero, B.J.A y Barbosa, C.G.V. 2004. Advantages and limitations on processing foods by UV Light. *Food Science and Technology International*. 10: 137-147
- González, A.G.A., Zavaleta, G.R., Tiznado, M.M.E. 2007. Improving postharvest quality of mango 'Haden' by UV-C treatment. *Postharvest Biology and Technology*. 45: 108 -116
- Gosch, C., 2003. Antioxidative effects of blueberries (*Vaccinium* sp.): an overview. *Erwerbs-Obstbau*. 45: 117-124
- Häkkinen, S.H., y Törrönen, A.R. 2000. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Research International*. 33: 517-524
- Halliwel, B. 1989. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *The British Journal of Experimental Pathology*. 70 (6): 737-757
- Hassimotto, N.M.A., Da Mota, R.V., Cordenunsi, B.R. and Lajolo, F.M. 2008. Physico-chemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus* sp.) Grown in Brazil. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 28 (3): 702-708
- Jiang, T., Muzammil, J.M., Jiang, Z., Lu, X. y Ying, T. 2010. Influence of UV-C treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and exture of postharvest shiitake (*Lentinus edodes*) mushrooms during storage. *Postharvest Biology and Technology*. 56: 209-215

- Johnson, M.H., Lucius, A., Meyer, T. y Gonzalez de Mejia, E. 2011. Cultivar evaluation and effect of fermentation on antioxidant capacity and in vitro Inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase by Highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59 (16): 8923 -8930
- Kader, F., Rovel, B. y Metche, M. 1993. Role of invertase in sugar content in Highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). Food Science and Technology. 28 (6): 593 -595
- Kalt, W. y Dufour, D. 1997. Health functionality of blueberries. Hortechology. 7: 216-221
- Kalt, W., McDonald, J.E., Ricker, R.D. y Lu, X. 1999. Anthocyanin content and profile within and among blueberry species. Canadian Journal of Plant Science. 79 (4): 617 -623
- Kays, S.J. 1997. Stress in harvested products. Postharvest Physiology of perishable plant products. pp. 335 -407
- Kim, J.Y., Kim, J.H., Lim, G.O., Jang, S.A. y Song, K.B. 2010. The effects of aqueous chlorine dioxide or fumaric acid treatment combined UV-C on postharvest quality of 'Maehyang' strawberries. Postharvest Biology and Technology. 56: 254 -256
- Lemoine, M.L., Chaves, A.R. y Martínez, G.A. 2010. Influence of combined hot air and UV-C treatment on the antioxidant system of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). Food Science and Technology. 43: 1313 -1319
- Lobos, W. 1988. El Arándano en Chile-El cultivo del arándano. INIA Carillanca. Temuco, Chile. pp.191-202
- Macherey-Nagel. Solid phase extraccion. Application guide. Duren, Alemania. 245 p.  
 Disponible en: [ftp://ftp.mn-net.com/english/Flyer\\_Catalogs/Chromatography/SPE/SPE\\_Applis.pdf](ftp://ftp.mn-net.com/english/Flyer_Catalogs/Chromatography/SPE/SPE_Applis.pdf)  
 Accesado: 25 octubre del 2012
- Makus, D.J. and Ballinguer, W.E. 1973. Characterization of anthocyanins during ripening of fruit of *Vaccinium corymbosum* L. Cv Wolcott. Journal of the American Society for Horticultural Science. 98 (1): 99 -101

- Marquenie, D., Geeraerd, A.H., Lammertyn, J., Soontjens, C., Van Impe, J.F., Michiels, C.W. y Nicolai, B.M. 2003. Combinations of pulsed white light and UV-C or mild heat treatment to inactivate conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilia fructigena*. *International Journal of Food Microbiology*. 85: 185 -196
- Mustafa, K., Mustafa, E., Mustafa, K.U. y Mehmet, A. 2003. Comparison of different extraction y detection methods for sugar using amino-bonded phase HPLC. *Journal of Chromatographic Science*. 41: 331-333
- Pantástico, E.R.B. 1984. Fisiología de la postrecolección, manejo y utilización de frutas y hortalizas tropicales y subtropicales. Compañía Editorial Continental. 2da. Impression español. Distrito Federal, México. 663 p.
- Perkins, P.V., Collins, K.J. y Howard, L. 2008. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. *Postharvest Biology and Technology*. 47: 280 -285
- Prior, R.L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, Ch., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G. y Mainland, C.M. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46 (7): 2686-2693.
- Rivera, P.D.M., Gardea, B.A.A., Martínez, T. M.A., Rivera, D.M. y González A.G.A. 2007. Postharvest biochemical effects of UV-C irradiation on fruit and vegetables. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30 (4): 361 -372
- Rhodes, J.M., y Woollorton, L.S.C. 1978. The biosynthesis of phenolic compounds in wounded plant storage tissues. In: *Biochemistry of wounded plant tissues*. Berlin, Germany. pp. 243-286
- Rodarte, C.A.D., Eichholz, I., Rohn, S., Kroh, L.W. y Huyskens, K.S. 2008. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. *Food Chemistry*. 109: 564 -572
- Ruiz, L.G.A., Qüesta, A.G. y Rodriguez, S.C. 2010. Effect of UV-C light on the antioxidant properties and sensory quality of minimally processed cabbage. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 11(1): 101-108

- Salunkhe, D.K. y Kadam, S.S. 1995. Handbook of fruit science and technology. Marcel Dekker. New York, United States of America. 611 p.
- Saltveit, M. E. 1997. Physical and physiological changes in minimally processed fruits and vegetables. Phytochemistry of fruit and vegetables. Proceedings of the Phytochemical Society of Europe. 41: 205 -220
- Sinelli, N., Spinardi, A., Di Egidio V., Mignani, I. y Casiraghi, E. 2008. Evaluation of quality and nutraceutical content of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) by near and mid-infrared spectroscopy. Postharvest Biology and Technology. 50: 31-36
- Sivapalasingam, S., Friedman, C.R., Cohen, L., y Tauxe, R.V. 2004. Fresh produce: a growing cause of outbreak of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997. Journal of Food Protection. 67: 2342 -2353
- Springob, J., Nakajima, J.I., Yamazaki, M., Saito, K., 2003. Recent advances in the biosynthesis and accumulation of anthocyanins. Natural Product Reports. 20: 288 -303
- Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J., Wilson, C.L., Pusey, P.L., Igwegbe, E. C. K. 1997. Integration of ultraviolet (UV-C) light with yeast treatment for control of postharvest storage rots of fruits and vegetables. Biological Control. 10: 98-103
- Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J., Wilson, Chalutz, E., Droby, S., Kabwe, M.K., Haung. O., Adeyeye, O., Pusey, P. L., y Tang, A. 1999. Induced resistance of sweetpotato to *Fusarium* root by UV-C hormesis. Crop Protection. 18: 463-470
- Sudzuki, F. 1983. Cultivo de frutales menores. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 184 p.
- Wang, S.Y. y Ballington, J.R. 2007. Free radical scavenging capacity and antioxidant enzyme activity in deerberry (*Vaccinium stamineum* L.). Food Science and Technology. 73: 1352 -1361
- Wright, J.R., Sumner, S.S., Hackney, C.R., Pierson, M.D. y Zoeklein, B.W. 2000. Efficacy of ultraviolet light for reducing *Escherichia coli* O157:H7 in unpasteurized apple cider. Journal of Food Protection. 63 (5): 563–567

**CAPÍTULO III**  
**EFFECTO DE LUZ UV-C EN LA SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO DE *Salmonella typhimurium* EN FRUTOS DE ARÁNDANO AZUL (*Vaccinium ashei* Reade) FRESCO**

**RESUMEN**

Los microorganismos patógenos causantes de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's), producen cuantiosas pérdidas económicas cada año. Por ello se busca la aplicación de tecnologías que disminuyan o eliminen su proliferación. Con el consumo en fresco de productos hortofrutícolas, existe alta posibilidad de contaminación si la cadena comercial no es cuidadosa en el manejo de los productos. *Salmonella* es uno de los principales patógenos relacionados con las ETA's, de ahí el objetivo de evaluar el efecto germinicida de dosis bajas de luz UV-C en *Salmonella enterica* serovar typhimurium ATCC23564, resistente a kanamicina (Sigma-Aldrich®) (50 µg/mL), (*S. typhimurium*) en frutos frescos de arándano azul, artificialmente inoculados con la bacteria. Los resultados mostraron que las dosis de UV-C a 1, 3, 5, 7 y 9 kJ m<sup>-2</sup> de luz UV-C no tienen efecto significativo (Tukey, P≤0.05) en la sobrevivencia de *S. typhimurium* aunque la aplicación de 3 y 7 kJ m<sup>-2</sup> redujo la población (0.6 log<sub>10</sub>) de la bacteria. De la misma manera, no se afectó significativamente (Tukey, P≤0.05) el crecimiento de la bacteria. El tiempo de generación de *S. typhimurium* estuvo en el rango de 60 y 96 segundos. Debido a lo anterior, bajo las condiciones probadas, las dosis de luz UV-C aplicadas no tienen efecto en la sobrevivencia, crecimiento ni tiempo de generación de *S. typhimurium* St4-Km<sup>50</sup> inoculada en frutos de arándano azul fresco.

### 3.1. Introducción

Los patógenos conocidos ocasionan 9,4 millones de enfermedades transmitidas por alimentos cada año en los Estados Unidos (Scallan *et al.*, 2011). Para el periodo de 2009-2010, la CDC (2013) reportó 1,022 brotes con etiología conocida (67%) (790 confirmados y 232 sospechosos). De los brotes confirmados, las bacterias causaron 413 (52 %), los virus 336 (42 %), los productos químicos y toxinas 39 (5%), y los parásitos 2 (0,2%). Norovirus es la causa más común de brotes de enfermedades, que representa 331 (42 %) de los confirmados, seguido de *Salmonella*, con 234 (30%) casos, de los cuales 225 fueron confirmados y el serotipo Enteritidis fue el más frecuente con 76 brotes (34 %). *Escherichia coli* productora de toxinas Shiga (STEC, por sus siglas en inglés) de con 58 brotes confirmados, de los cuales 53 fueron por serogrupo O157. De las 29,444 enfermedades detectadas en dicho periodo, 1184 casos requirieron de hospitalización, siendo *Salmonella* el patógeno causante de la mayoría de las hospitalizaciones con el 49%, seguido de la bacteria STEC con 16% y el norovirus con 9%.

Aunque la mayoría de los brotes por *Salmonella* se han asociado al consumo de productos cárnicos y lácteos, también existen casos relacionados con el consumo de productos hortofrutícolas frescos como chile, melón cantalope, tomate, lechuga, entre otros (CDC, 2013). Este tipo de brotes se han incrementado en los últimos años, dado el aumento en el consumo de frutas y verduras frescas (Beuchat, 2002). Estados Unidos es el país con mayor cantidad de casos registrados por salmonelosis, con un promedio de 40,000 a 45,000 casos al año; sin embargo, este numero puede ser mayor ya que se registran menos del 4% de los casos (Madigan *et al.*, 2004). En México para el año 2010 se detectaron 40,903 casos por intoxicación alimentaria sin especificar el patógeno, 120,414 casos por paratifoidea y otras salmonelosis, 44,757 por fiebre tifoidea, 11,378 por shigelosis, 20,678 por giardiasis y 18,398 por hepatitis tipo A (CENA VECE, 2011).



Estudios muestran registros de casos relacionados con la presencia de *Salmonella* en productos hortofrutícolas, tal es el caso de alcachofa, chile, lechuga, perejil y repollo en España; germen de soya en Suecia y Tailandia; coliflor, hinojo, espinaca y lechuga en Países Bajos; cilantro en Surinam; cebolla y lechuga en Italia; chile en Suecia; ensalada de hojas verdes en Egipto (Beuchat, 2002); entre otros productos de importancia comercial.

### **3.2. Características del género *Salmonella***

El género *Salmonella* pertenece al grupo de bacterias entéricas, gram negativas, de forma bacilar no esporulados, móviles, anaerobios facultativos, que no fermentan la lactosa, de 0.7-1.5 x 1.0-5 µm. Los miembros del género, son usualmente patógenos, bien para humanos o para otros animales de sangre caliente. En humanos, las enfermedades más comunes son la fiebre tifoidea y gastroenteritis. Los tipos de salmonella se caracterizan inmunológicamente sobre la base de tres antígenos superficiales, el antígeno O de pared celular (somático); el H o flagelar y el Vi (capa externa polisacáridica) que se encuentra en las cepas causantes de las fiebres tifoideas (Madigan *et al.*, 2004; ICMSF, 1998). Se reconocen dos especies de *Salmonella*, *S. bongori* y *S. enterica*. Esta última especie comprende diferentes subespecies y serotipos (recientemente designados como serovares). Por ejemplo, *S. enterica* subsp. *enterica* comprende los serovares Enteritidis, Typhi, Choleraesuis y Typhimurium. Sin embargo, algunos autores consideran a los serotipos subespecies. Aunque algunos otros consideran que Typhi no pertenece a la especie *S. entérica*. Por convención, las subespecies se abrevian, de modo que el serotipo *S. enterica* Paratyphi A se transforma en *S. paratyphi* A. (Madigan *et al.*, 2004; Terragno *et al.*, 2003; Fernández *et al.*, 2002). De ahí que no se siguen las reglas de nomenclatura internacional que se da a las subespecies, ya que el serotipo queda como la especie en el nombre de la bacteria.

### **3.2.1. Fuentes de contaminación y brotes asociados**

El género *Salmonella* se encuentra distribuido por todo el mundo, habita en el tracto intestinal del hombre y de animales silvestres y domésticos, aves, reptiles, anfibios y artrópodos (Gorbach *et al.*, 2004). Dado que normalmente habita en el intestino de los animales, se le puede encontrar en las aguas residuales y por tanto en desastres naturales es común tener brotes de salmonelosis (Madigan *et al.*, 2004). La fuente principal de contaminación son las heces fecales cuando éstas se liberaran al medio ambiente; la bacteria es capaz de sobrevivir 87 días en agua, 148 en heces de roedores, 199 en heces de cucarachas, 300 días en polvo y 530 en tierra húmeda (Fernández, 2000).

Los cuadros clínicos en una infección por esta bacteria se presentan con fiebre, dolor de cabeza, náuseas, vómito, dolor abdominal y diarrea, con un período de incubación de una a dos semanas y una duración de la enfermedad variable (Gorbach *et al.*, 2004). Su modo de transmisión es de forma oral a través de agua y alimentos y de persona a persona vía fecal-oral (Fernández, 2000).

El número de brotes de enfermedades gastrointestinales asociadas al consumo de productos frescos como frutas y verduras ha aumentado en los últimos años, siendo *Salmonella* uno de los principales patógenos asociados a éstos (Sivapalasingam *et al.*, 2004). Tan solo en 2008, se presentaron en Estados Unidos 1,442 casos de salmonelosis, relacionados con el consumo de productos frescos (chiles y tomates), mientras que en Australia y Europa se registraron 175 casos (Lynch *et al.*, 2009).

Las frutillas, como fresas, frambuesas, zarzamoras y arándanos, también han sido asociadas a diversos brotes (Calder *et al.*, 2003; Sivapalasingam *et al.*, 2004). En USA, por ejemplo, se reportaron nueve brotes por el consumo de frutillas de los cuales, cuatro fueron provocados por *Cyclospora cayetanensis*, cuatro por el virus de la hepatitis A y uno por *Staphylococcus aureus* (Sivapalasingam *et al.*, 2004). Aunque no se han registrado brotes por *Salmonella* asociados con las frutillas, la

FDA (1999), ha documentado que una de cada 143 muestras de fresa puede encontrarse contaminada con esa bacteria (Bialka y Demirci, 2007b).

### **3.2.2. Efecto germicida de la irradiación UV-C**

A pesar de los riesgos, las frutillas no son lavadas antes de salir al mercado, debido al efecto negativo en la calidad y reducción en la vida postcosecha. Con el incremento de brotes asociados a frutos frescos, se ha hecho necesario evaluar tecnologías como la luz UV-C que no destruyan o comprometan la integridad del producto. La luz UV-C (254 nm) es una alternativa estudiada en frutos como fresa, durazno, manzana, mandarina, fresa y frambuesa entre otros (Bialka y Demirci, 2007b), y se aplica para aumentar la vida de anaquel del arándano, y disminuir la incidencia de microorganismos patógenos (Bialka y Demirci, 2007a).

El efecto germicida de la irradiación UV-C se ha empleado 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 alternativa para la conservación de alimentos. Algunos beneficios atribuidos a la irradiación UV-C son: inducción de mecanismos de defensa (síntesis de fitoalexinas), los cuales se relacionan positivamente con la resistencia a diferentes patógenos y con la reducción de desórdenes fisiológicos (Rivera *et al.*, 2007).

El arándano azul es una frutilla de importancia económica y nutricional a nivel internacional, debido a su resistencia a condiciones ambientales adversas y al alto contenido de antioxidantes como flavonoides, antocianinas, polifenoles y ácido ascórbico (Faria *et al.*, 2005). Sin embargo, durante la producción, colecta y manejo postcosecha de este cultivo existe el riesgo potencial de contaminación con patógenos de humanos por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto germicida de la luz UV-C en *Salmonella typhimurium* en frutos frescos de arándano azul, artificialmente inoculados con la bacteria, como medida preventiva de enfermedades gastrointestinales asociadas a su consumo.

### 3.3. Materiales y métodos

#### 3.3.1. Preparación del inóculo

La cepa utilizada fue *Salmonella enterica* serovar typhimurium ATCC23564 (S. typhimurium), resistente a kanamicina (Sigma-Aldrich®) (50 µg/mL) (St4-Km<sup>50</sup>). donada por el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (Landa *et al.*, 2009), y almacenada en una solución de agua-glicerol (50:50) a -20 °C. Previo al establecimiento de los experimentos, la bacteria se reactivó en caldo soya tripticaseína (CST) más kanamicina (CST-Km<sup>50</sup>) a 37 °C por 48 h, y se creció en agar soya tripticaseína más Km<sup>50</sup> (AST-Km<sup>50</sup>). De las cajas con crecimiento bacteriano se preparó el inóculo en agua peptonada amortiguada (APA) 0.1 %, con 7.0 de pH. Los frutos se inocularon durante las primeras 2 h después de haberse preparado el inóculo.

#### 3.3.2. Inoculación de frutos de arándano

Se usaron frutos frescos de arándano (*Vaccinium ashei* Reade), cosechados en madurez fisiológica en una huerta comercial de Zacatlán, Puebla, México. Sobre la superficie de 10 a 12 frutos de arándanos (10 g), colocados en charolas PET reciclables denominadas "clamshells" de 170 g, se depositaron 100 µL de inóculo de una suspensión en agua destilada estéril de *S. typhimurium* St4-Km<sup>50</sup> con 5 log<sub>10</sub> de unidades formadoras de colonias (UFC), distribuidos en pequeñas gotas. Después de la inoculación, los frutos se mantuvieron en una cámara de bioseguridad (ThermoForma®, Class II Biological Safety Cabinet) por una hora a temperatura ambiente para permitir la evaporación de la suspensión y la adherencia de la solución con la bacteria.

### **3.3.3. Tratamientos con luz UV-C**

Se utilizaron dos lámparas de luz UV-C (longitud de onda de 254 nm en rango germicida), marca Phillips® G30-T8, a distancia de 60 cm. Una charola con 10 g (10 a 12 frutos) se consideró como una unidad experimental (repetición). Cada unidad experimental se sometió por separado a las siguientes dosis (tratamientos) de luz UV-C continua: 1, 3, 5, 7 y 9 kJ m<sup>-2</sup> con tiempos de exposición de 13, 39, 65, 91 y 117 s, respectivamente. Como testigo se usaron unidades experimentales inoculadas con la solución bacteriana pero sin aplicación de luz UV-C (0 kJ m<sup>-2</sup>). Cada tratamiento de luz contó con seis repeticiones.

### **3.3.4. Análisis microbiológico**

Después de la aplicación de los tratamientos, la recuperación de *Salmonella* SE realizo de acuerdo a la NOM-114-SSA1-1994. Para esto los frutos se depositaron en bolsas estériles con filtro para stomacher (Seward®) y se mezclaron con 90 mL de 0.1 % de agua peptonada buferada (APB). Esta mezcla se maceró en un molino (Seward®, stomacher 400 circulator) por 1 min a 300 rpm. De cada macerado obtenido se hicieron diluciones seriadas y de cada dilución se tomaron 100 µL para depositarse por separado en cajas Petri con agar entérico Ektoen más kanamicina (50 mg/mL) (AEH-Km<sup>50</sup>). Las cajas se incubaron a 37 °C por 48 h para estimar el número de UFC/ mL de *S. typhimurium* St4-Km<sup>50</sup>.

### **3.3.5. Crecimiento y tiempo de generación de *S. typhimurium***

Para estimar el efecto de las dosis bajas de luz UV-C en el crecimiento de *S. typhimurium* St4-Km<sup>50</sup>, se seleccionaron al azar dos colonias de las recuperadas de los frutos inoculados e irradiados en AEH-Km<sup>50</sup>. Cada colonia de cada tratamiento se depositó por separado en un matraz Erlenmeyer de 50 mL con 20 mL de caldo soya tripticaseína más kanamicina (50 mg/mL) (CST-Km<sup>50</sup>) y se mantuvieron a 37 ± 1 °C por 12 h sin agitación. Durante 12 h, cada dos horas de cada medio con crecimiento se tomaron dos alícuotas; una para determinar la densidad óptica en un

espectrofotómetro (Genesys® 10 UV, Termo spectronic) a 560 nm; y otra, para hacer diluciones seriadas. De cada dilución se tomaron muestras de 100 µL y se sembraron en AEH-Km<sup>50</sup>. Con los datos del número de UFC obtenidas se generaron curvas de crecimiento por tratamiento de acuerdo a las siguientes ecuaciones

$$X=2^n X_0; \text{ despejando } n:$$

$$\text{Log } (X/X_0)=n \log 2$$

$$n = \log (X/X_0)/\log 2$$

Así como a la siguiente fórmula

$$G=t/n$$

donde:

X= número de bacterias final

X<sub>0</sub>= número de bacterias inicial

n= número de generaciones

t= tiempo (h)

G= tiempo de generación (h); calculado en dos puntos de la fase exponencial (mayor crecimiento de la curva microbiana).

### **3.3.6. Análisis estadístico**

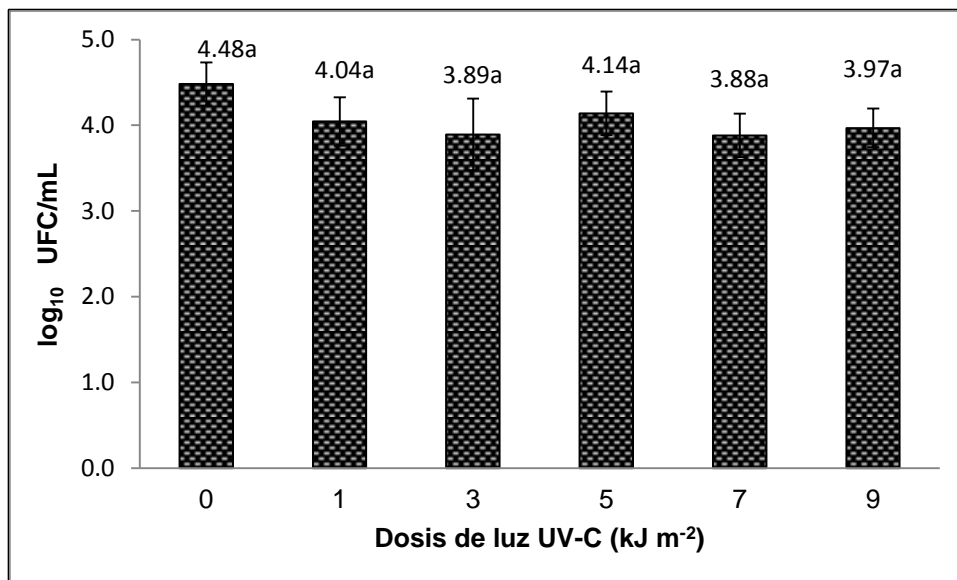
Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con análisis de varianza y separación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ , SAS®, v. 9.0, 2002), usando las pruebas de normalidad de Anderson-Darling. Con 6 repeticiones para evaluación de sobrevivencia y 2 repeticiones para crecimiento y tiempo de generación.

### 3.4. Resultados y discusión

#### 3.4.1. Efecto de luz UV-C en la sobrevivencia

Bajo las condiciones probadas en este estudio, la luz UV-C (254 nm) continua aplicada a 60 cm de distancia no tuvo efecto en la sobrevivencia de *S. typhimurium* en frutos frescos de arándano azul. Aunque con los tratamientos 3 y 7 kJ m<sup>-2</sup> se registró la mayor reducción en la población bacteriana (0.6 log<sub>10</sub> UFC), ninguno de los tratamientos (1, 3, 5, 7 y 9 kJ m<sup>-2</sup>) aplicados a los frutos de arándano azul afectó de manera significativa (P≤0.05) la sobrevivencia de la bacteria (Figura 3.1, Cuadro 3.3).

La información anterior coincide con otros estudios que muestran que *Salmonella* es un género de bacteria resistente a varios tratamientos o condiciones extremas, comparado con otras enterobacterias, dado que desarrolla cierto tipo de protección contra tratamientos de dosis de luz UV-C. Dicha protección involucra regeneración o mutagénesis a nivel de ADN como maquinaria de reparación para continuar su ciclo metabólico generando proteínas encargadas de reparar los daños ocasionados por la luz UV-C (Sedgwick *et al*, 1991).



**Figura 3.1. Efecto de la irradiación de luz UV-C en la sobrevivencia de *S. typhimurium* en frutos de arándano azul. Inóculo inicial de 5 log<sub>10</sub>. (Tukey, P≤0.05), n=6 ± DE)**

Los resultados obtenidos en la sobrevivencia de salmonella contrastan con lo reportado por Bialka y Demirci (2007a), quienes señalan que la irradiación con luz UV aplicada por 60 s a 8 cm de distancia en frutos frescos de arándanos (*Vaccinium corymbosum*) inoculados con *Salmonella* y *E. coli* O157:H7 ocasionó una reducción máxima de 4.3 y 2.9 log<sub>10</sub> unidades formadoras de colonias (UFC)/g, respectivamente, en la población de estas bacterias. En fresas y frambuesas se logró la máxima reducción de 3.4 y 3.9 log<sub>10</sub> unidades formadoras de colonias (UFC)/g para *Salmonella* y *E. coli* O157:H7 con irradiación de 5.9 kJ m<sup>-2</sup> a 3, 5, 8 y 13 cm de distancia entre la fuente de luz y los frutos (Bialka y Demirci, 2008).

Es probable que la diferencia entre los resultados registrados en este estudio con los reportados por Bialka y Demirci (2007a) se deba a la forma de aplicación de la luz UV (continua vs pulsos) y a las distancias de irradiación (60 vs 8 cm) más que al efecto mismo de la luz. De igual manera algunos autores mencionan que la efectividad de la irradiación con luz UV-C se reporta con diferentes niveles de



potencia, tiempos de exposición, distancias y espesor del fruto para lograr la inactivación variada en los niveles de muchos patógenos (Mukhopadhyay y Ramaswamy, 2012) incluso dentro de las variantes de *Salmonella*. Por lo anterior, los parámetros de aplicación de luz UV-C (254 nm) como distancia de la fuente al fruto, tiempo de exposición, tipo de fruto, espesor del fruto; son variantes que influyen en la efectividad en la reducción de microorganismos patógenos como *Salmonella*, incluyendo la respuesta de esta bacteria en los diversos serotipos existentes.

Algunas otras investigaciones muestran el uso de la luz UV-C (254 nm) con efecto bactericida en la sobrevivencia de microorganismo patógenos como *Salmonella spp.* y *Escherichia coli* O157:H7 inoculadas in vivo en la superficie de frutos de manzana y lechuga de hoja verde logrando reducir la población mayormente ( $3.3 \log_{10}$ ) en manzana inoculada con *Salmonella spp.*, pero no encontrando significancia ( $P \leq 0.05$ ) lechuga de hoja verde donde ninguna población de estos microorganismos se logra inactivar la población (Yaun *et al.*, 2004).

*Salmonella* es capaz de formar de biopelículas sobre superficies bióticas y abióticas, lo que puede estar relacionado con su resistencia a la acción de estrés como la desecación, aplicación de desinfectantes e irradiación; siendo una importante estrategia de supervivencia dentro o fuera del huésped (Robijns *et al.*, 2011; Wong *et al.*, 2010) .

#### **3.4.2. Efecto de luz UV-C en el crecimiento**

El crecimiento de los microorganismos como las bacterias se refiere al aumento en el número de células más que a un aumento en el tamaño celular. Una forma grafica de expresar dicho crecimiento es en forma de curvas de crecimiento. Las bacterias muestran curvas de crecimiento características donde se aprecian las diversas fases a través del tiempo y existe una correlación entre la cantidad de células y la densidad óptica, ya que a mayor cantidad de células presentes en una solución, mayor el valor de densidad óptica (Figura 3.2).

Cuadro 3.1. Datos promedio de absorbancia de suspensiones de *S. typhimurium* (St4-Km<sup>50</sup>)\* en CST-Km<sup>50</sup> a 37 ± 1 °C, después de aislarse de frutos de arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade) irradiados con luz UV-C.

Dosis de luz UV-C kJ m <sup>-2</sup>	ABSORBANCIA a 560 nm						
	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h
0**	0.006	0.009	0.021	0.110	0.421	0.639	0.693
1	0.011	0.013	0.030	0.125	0.431	0.628	0.686
3	0.002	0.004	0.010	0.029	0.150	0.520	0.659
5	0.009	0.014	0.027	0.232	0.491	0.642	0.697
7	0.006	0.011	0.040	0.209	0.568	0.665	0.723
9	0.002	0.006	0.021	0.187	0.565	0.662	0.722

\*Inoculo inicial de 5 log<sub>10</sub>; \*\* Suspensiones de St4-Km<sup>50</sup>, aislada de frutos de arándano no irradiados.

El comportamiento del crecimiento de *Salmonella typhimurium* (St4-Km<sup>50</sup>), sometida a los diferentes tratamientos se muestra en la Figura 3.3. Se aprecia que bajo las diferentes dosis de irradiación la bacteria manifiesta un comportamiento similar a aquel que presenta con el tratamiento sin irradiación; de manera similar, el análisis estadístico de los datos no muestra diferencias significativas (P≤0.05) entre tratamientos, aunque la mayor reducción de la población de la bacteria a 3 kJ m<sup>-2</sup> (Cuadro 3.3). Lo anterior debido a la variación de los datos, ya que solo se tienen dos muestras por tratamiento y esto implica mayor cantidad de insumos para esta prueba.

El comportamiento del crecimiento bacteriano es conocido, aunque los efectos debidos a las condiciones de desarrollo y de manejo del microorganismo suelen ser diversos. *Salmonella typhimurium* es una bacteria resistente a diversos métodos de control es por ello que continuamente se están validando diversas metodologías para determinar su efectividad en frutos contaminados con la bacteria como lo podrían ser los frutos de arándano azul.

El deterioro por los microorganismos (hongos y bacterias) en productos hortofrutícolas no es la causa primaria, sino que condiciones como: alta temperatura, producto dañado mecánicamente, producto sobremaduro, los niveles perjudiciales de CO<sub>2</sub> y el tiempo de desarrollo; favorecen el crecimiento lo que resulta en altas poblaciones, por ello es difícil su control. Las dosis de irradiación que causan lesión inicialmente puede reducir las poblaciones de bacterias y hongos, pero se regeneran muy rápidamente debido a un sustrato apropiado para el crecimiento con disponibilidad del tejido dañado (Zagory, 1999).

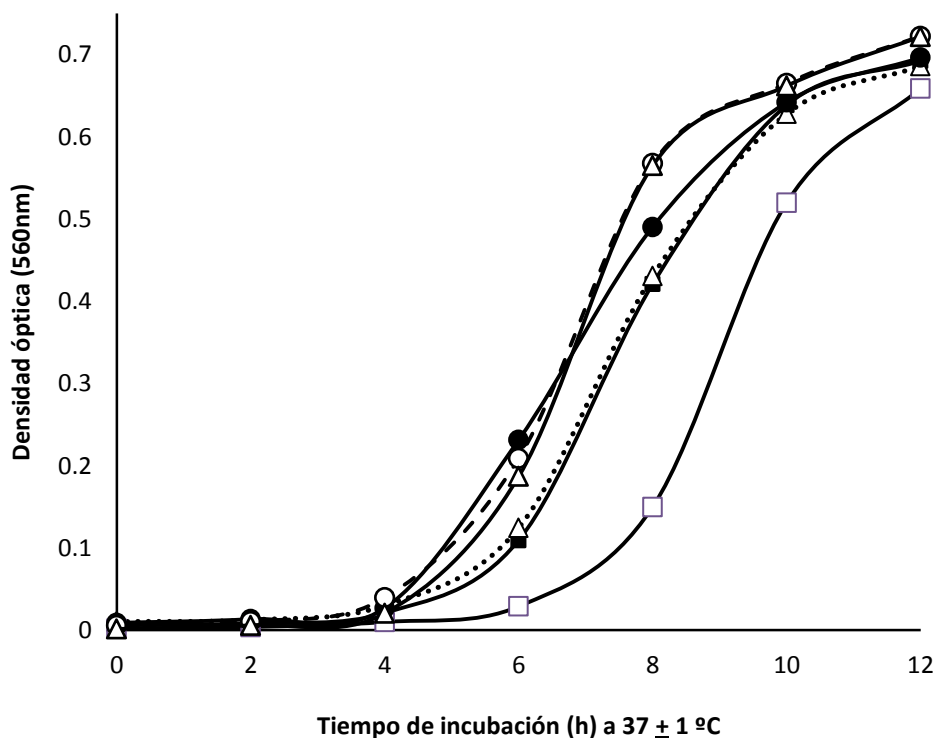


Figura 3.2. Crecimiento de *S. typhimurium* en caldo soya tripticaseína a  $37 \pm 1$  °C. La bacteria se obtuvo de frutos inoculados e irradiados con luz UV-C. Donde: -■- corresponde al tratamiento sin irradiación ( $0 \text{ kJ m}^{-2}$ ); ...Δ..., a  $1 \text{ kJ m}^{-2}$ ; -□-, a  $3 \text{ kJ m}^{-2}$ ; ●, a  $5 \text{ kJ m}^{-2}$ ; -○-, a  $7 \text{ kJ m}^{-2}$ ; y, Δ, a  $9 \text{ kJ m}^{-2}$ . (Tukey,  $P \leq 0.5$ ).

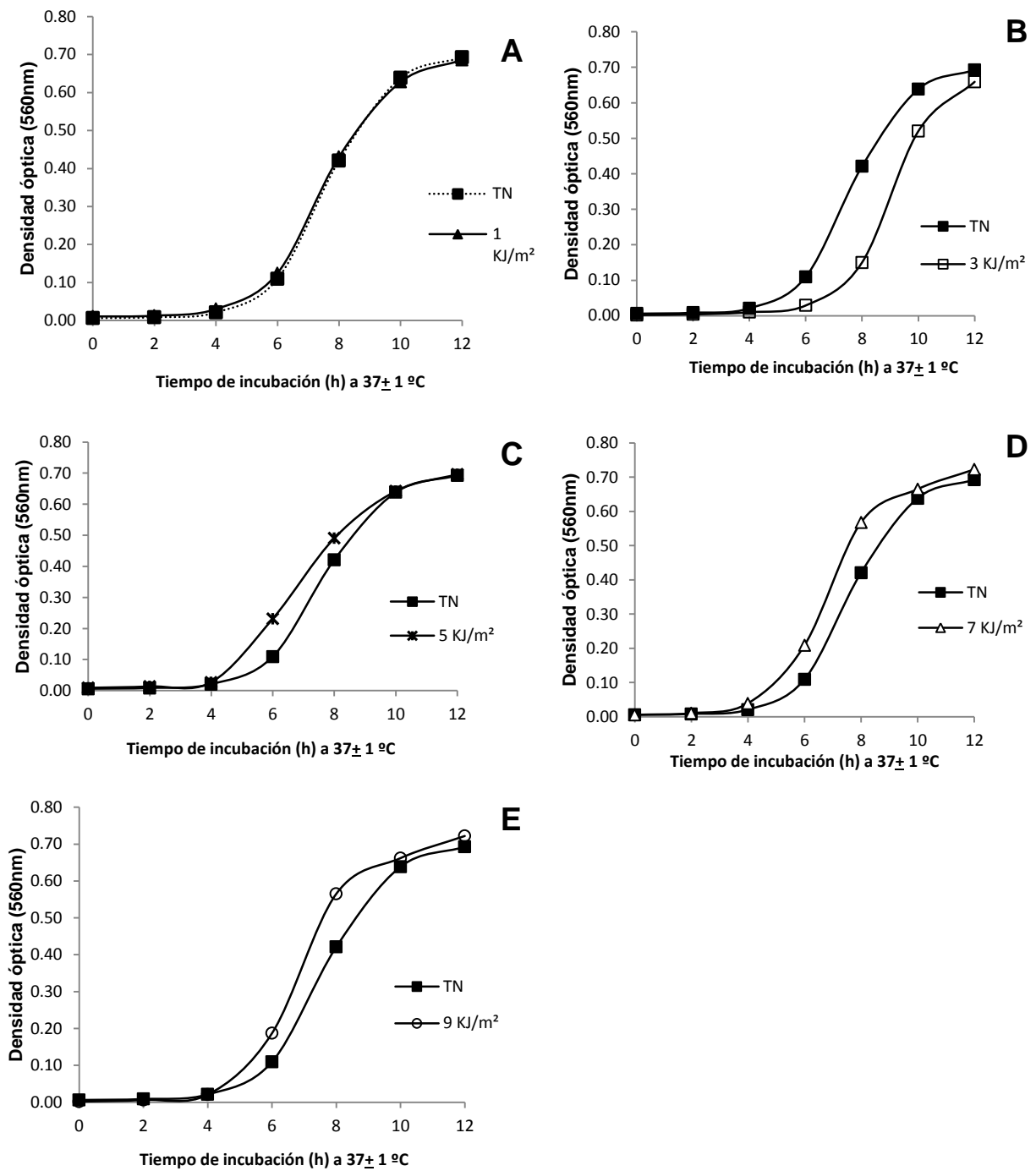


Figura 3.3. Crecimiento de *Salmonella typhimurium* (St4-Km<sup>50</sup>) en caldo soya tripticaseína a  $37 \pm 1$  °C. La bacteria se recuperó de frutos de arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade) inoculados e irradiados con luz UV-C Donde: A) 1 kJ m<sup>-2</sup>; B) 3 kJ m<sup>-2</sup>; C) 5 kJ m<sup>-2</sup>; D) 7 kJ m<sup>-2</sup>; E) 9 kJ m<sup>-2</sup>; TN: sin irradiación (0 kJ m<sup>-2</sup>).

Los efectos de la irradiación UV-C en el crecimiento de *Salmonella* no son significativos ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos, aunque la dosis de  $3 \text{ kJ m}^{-2}$  presenta la mayor reducción (Cuadro 3.2). Posiblemente cuando la bacteria se somete a dosis de luz UV-C igual o mayor a  $5 \text{ kJ m}^{-2}$  se activan ciertos mecanismos como la síntesis de compuestos que aceleran el crecimiento de las células o bien que reparan rápidamente la molécula de ADN (Howart, 1965; Bialka y Demirci, 2008) (Figuras 3.2 y 3.3).

**Cuadro 3.2. Analisis del crecimiento de *S.typhimurium* (St4-Km<sup>50</sup>)\* en CST a  $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  sin agitación. La bacteria se aisló de frutos de arándano azul inoculados e irradiados con luz UV-C.**

Tratamiento $\text{kJ m}^{-2}$	Valor 1	Valor 2	Media
0**	7.46	7.33	7.34a
1	7.44	7.25	7.40a
3	7.35	7.45	7.03a
5	7.05	7.02	7.36a
7	7.27	7.46	7.55a
9	7.64	7.46	7.01a

\*Inoculo inicial de  $8 \log_{10}$

\*\* Suspensiones de St4-Km<sup>50</sup>, aislada de frutos de arándano no irradiados.

Las células *Salmonella typhimurium* (St4-Km<sup>50</sup>) contienen plásmidos (moléculas pequeñas de DNA de doble cadena circular cerrada presentes en casi todas las especies bacterianas, son autónomos en la replicación lo que facilita su propagación) que portan genes que ayudan a sobrevivir en condiciones adversas o competir con otras bacterias de la misma o diferente especie (Sánchez e Íñiguez, 1998). Es posible que la presencia de estas estructuras en las células de la bacteria este relacionada con la resistencia registrada, en este estudio, a la irradiación con dosis bajas de luz UV-C. Es sabido que la presencia de estos plásmidos impide su acción

en los ribosomas y mantiene un espectro antimicrobiano en bacterias Gram positivas y negativas (Padilla *et al.*, 2011).

### 3.4.3. Tiempo de generación de *Salmonella typhimurium*

Además de la sobrevivencia y crecimiento *Salmonella typhimurium* (St4-Km<sup>50</sup>) en frutos de arándano azul (*Vaccinium ashei* Reade) también se evaluó tiempo de generación, siendo el tiempo que le lleva a una nueva célula dividirse o el tiempo requerido para que la población se duplique. Para una población celular se le llama comúnmente “tiempo de generación promedio” (tG tiempo/generación). Bajo condiciones dadas de crecimiento (medio, temperatura, pH, etc) cada especie bacteriana tiene un tiempo de generación determinado genéticamente (Madigan *et al.*, 2004; Jiménez y Guerrero, 1982).

**Cuadro 3.3. Significancia de sobrevivencia, crecimiento y tiempo de generación de *S. typhimurium* (St4-Km<sup>50</sup>) después de su recuperación de frutos de arándano azul previamente inoculados e irradiados con luz UV-C <sup>a</sup>.**

Tratamiento kJ m <sup>-2</sup>	Sobrevivencia* log <sub>10</sub> UFC/mL	Crecimiento** log <sub>10</sub> UFC/mL	Tiempo de generación*** (min)
0	4.48a	7.34a	67.64a
1	4.04a	7.40a	101.10a
3	3.89a	7.03a	88.16a
5	4.14a	7.36a	62.94a
7	3.88a	7.55a	98.81a
9	3.97a	7.01a	66.44a
<b>CV (%)</b>	<b>14.15</b>	<b>4.45</b>	<b>26.40</b>

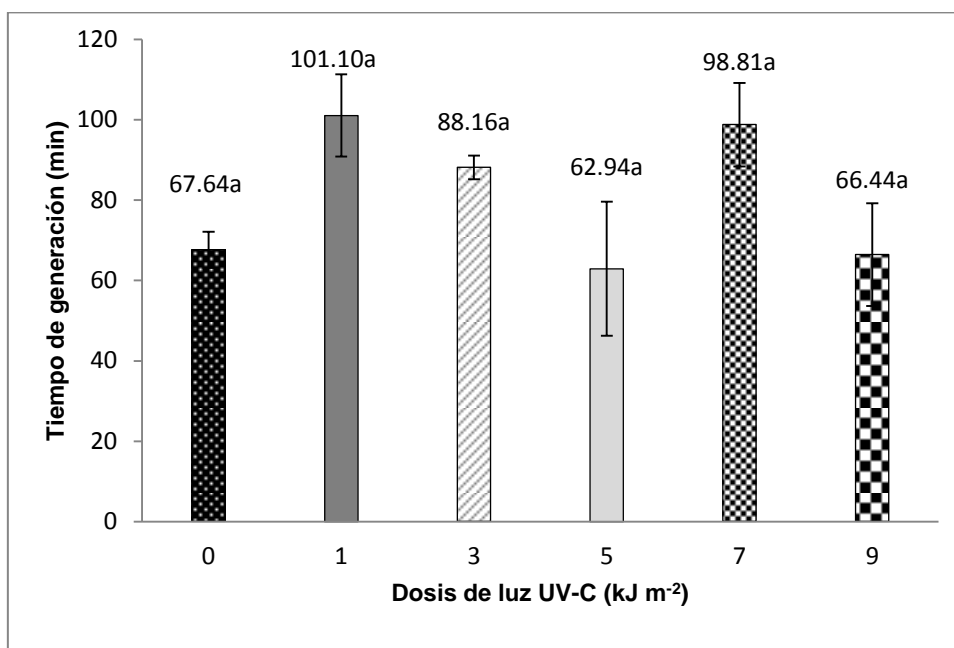
<sup>a</sup> valores de la misma columna con letra diferente son significativamente diferentes

\*Promedio de seis repeticiones. (Tukey, P≤0.05)

\*\*Promedio de dos repeticiones. (Tukey, P≤0.05)

\*\*\*Promedio de dos repeticiones. (Tukey, P≤0.05)

Las dosis de irradiación UV-C aplicadas no mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en los tiempos de generación de la bacteria; así para las dosis de 0, 1, 3, 5, 7 y 9  $\text{kJ m}^{-2}$  corresponden los tiempos de generación de 67.64, 101.10, 88.16, 62.94, 98.81 y 66.44 minutos, respectivamente (Figura 3.4); dado que en la fase exponencial es donde la bacteria muestra su mayor vigor traducido a mayor crecimiento, lo que indica que estos valores corresponden al tiempo de duplicación de la población bacteriana (tiempo para completar un ciclo de división); siendo las dosis de 1, 3 y 7  $\text{kJ m}^{-2}$  las que presentaron el mayor tiempo, mientras que las dosis 5 y 9  $\text{kJ m}^{-2}$  son similares al testigo (sin irradiación) por lo que a ciertas dosis de irradiación la bacteria se ve afectada en el tiempo de generación aunque no se detecta estadísticamente, por lo que se pueden ampliar la cantidad de muestras analizadas.



**Figura 3.4. Tiempo de generación en minutos de *Salmonella typhimurium* (St4-Km<sup>50</sup>) después de su recuperación de frutos de arándano azul previamente inoculados e irradiados con luz UV-C. (ANOVA, Tukey,  $P \leq 0.05$ ).  $n=2 \pm \text{DE}$**

Algunas investigaciones mencionan que el tiempo de generación de *Salmonella* puede variar de 20 a 70 minutos (Kjeldgaard *et al.*, 1958) lo que coincide con Keller *et al.* (2013) quienes encontraron tiempos de generación de 31 y 38 minutos para la bacteria inoculada en Chile e incubada a temperaturas de 35°C y 25°C respectivamente; mientras que para *E. coli* el tiempo de generación se encuentra en el rango de 30 a 67 minutos (Jiménez y Guerrero, 1982); sin embargo, existen factores que determinan la duplicación de la población bacteriana como la temperatura de incubación, o tipo de medio de cultivo en que se desarrolla el microorganismo, incluso se menciona que el tipo de *Salmonella* también define este tiempo de generación y evaluando a *Salmonella typhimurium* (St4-Km<sup>50</sup>) como una bacteria resistente a antibiótico como kanamicina.

Dado que en este estudio, se muestran diversos comportamientos en la sobrevivencia, crecimiento y tiempo de generación de *Salmonella typhimurium*, estadísticamente no existen diferencias significativas (Cuadro 3.3); dado que Apella y Araujo (2005) mencionan que las irradiaciones UV y las de menor longitud de onda (ionizantes o gama) tienen fuertes efectos sobre hongos y bacterias, tanto mutacionales como letales, según el microorganismo de estudio; pero el efecto de estas irradiaciones está relacionado con el tiempo de exposición y con las condiciones experimentales; además depende del estado del organismo (siendo más efectivas en fase exponencial que en fase lag o estacionaria) y de las condiciones ambientales durante la exposición. Considerando también que algunas bacterias poseen un eficiente mecanismo de fotorreactivación para reparar el daño causado por irradiación UV-C cuando se exponen inmediatamente después a la luz visible (Carrillo, 2003).



### 3.5. Conclusiones

Bajo las condiciones probadas en este estudio, la luz continua UV-C (254 nm) aplicada a 60 cm no tuvo efecto en la sobrevivencia, crecimiento y tiempo de generación de *S. typhimurium* en frutos frescos de arándano azul. La mayor reducción en la población bacteriana ( $0.6 \log_{10}$ ) no fue significativa ( $P \leq 0.05$ ) respecto al valor del control sin irradiación y correspondió a  $7 \text{ kJ m}^{-2}$ .

La aplicación de la irradiación con luz UV-C (254 nm) en frutos de la especie *V. ashei* Reade es una alternativa potencial para obtener arándanos azules frescos de calidad microbiológica aceptable, por lo que se puede ampliar y mejorar la forma de aplicación de la irradiación.

El control de *Salmonella* en arándano azul es de relevancia importante, dado que es un microorganismo que genera estrategias de resistencia a condiciones ambientales, incluyendo medidas de desinfección del fruto.

La implementación de medidas preventivas como las Buenas Prácticas Agrícolas y las Buenas Prácticas de Manejo son hasta ahora la mejor estrategia para asegurar la inocuidad de este producto agrícola, así mismo evitar la contaminación por patógenos como *Salmonella*.

## LITERATURA CITADA

- Apella, M. y Araujo, P. 2005. Microbiología del Agua: Conceptos Básicos. Rev Solar Safe Water. 2: 33-50
- Bialka, K.L. y Demirci, A. 2007a. Decontamination of *Escherichia coli* 0157:H7 and *Salmonella enterica* on blueberries using ozone and pulsed UV-Light. Journal of Food Science. 72: M391-M396
- Bialka, K.L. y Demirci, A. 2007b. Pulsed Ultraviolet-light decontamination of Fruits. PASABE. American Society of Agricultural and Biological Engineers. Annu. Meet. 076107
- Bialka, K.L. y Demirci, A. 2008. Efficacy of Pulsed UV-Light for the decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on raspberries and strawberries. Journal of Food Science. 73: 201-207
- Beuchat, L. R. 2002. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. Microbes and Infection. 4: 413–423
- Calder, L., Simmons, G., Thornley, C., Taylor, P., Pritchard, K., Greening, G., y Bishop, J. 2003. An outbreak of hepatitis A associated with consumption of raw blueberries. Epidemiology and Infection. 131: 745-751
- Carrillo, L. 2003. Microbiología agrícola. Capítulo 2: vida y muerte de los microorganismos. Salta, Argentina. 20 p.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention), United States of America. 2013. Vigilancia de Brotes de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos - Estados Unidos, 2009-2010  
Disponibile en: [http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6203a1.htm?s\\_cid=mm6203a1\\_w](http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6203a1.htm?s_cid=mm6203a1_w)  
Accesado: 13 de febrero de 2013
- CENAVECE (Centro Nacional de Vigilancia epidemiológica y control de enfermedades). 2011. Anuarios de Morbilidad 1984-2010.  
Disponibile en: <http://www.dgepi.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html>.  
Accesado: 08 de agosto de 2012

- Faria, A., Oliveira, J., Neves, P., Gameiro, P., Santos-Buelga, C., De Freitas, V., Mateus N., 2005. Antioxidant properties of prepared blueberry (*Vaccinium myrtillus*) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 6896–6902
- Fernández, E.E. 2000. *Microbiología e inocuidad de los alimentos*. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México. 931 p.
- Fernández, E.E., Saldaña, L.J., Rodríguez, G.O. y Cliver, D.O. 2002. Potential *Salmonella* transmission from ornamental fountains. *Journal of Environmental Health*. 65:9–12.
- Gorbach, S.L., Bartlett, J.G. and Blacklow, N.R. 2004. *Infectious Diseases*. 3rd ed. USA. 2700 p.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1998. *Microbiología de los alimentos: características de los patógenos microbianos*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 606 p.
- Jiménez, S.A. y Guerrero, R. 1982. *Genética molecular bacteriana*. Editorial Reverté, S.A. Barcelona, España. 457 p.
- Kjeldgaard, N.O., Maaloe, O. and Schaechter, M. 1958. The Transition Between Different Physiological States During Balanced Growth of *Salmonella typhimurium*. *Journal general Microbiology*. 19: 607 -616
- Keller, S.E., VanDoren, J.M., Grasso, E.M. y Halik, L.A. .2013 Growth and survival of *Salmonella* in ground black pepper (*Piper nigrum*). *Food Microbiology* 34: 182 -188
- Landa, S.P., Hernández, A.A.M., Corrales, G.J., Mora, A.G. y Chaidez, Q. 2009. Survival of *Salmonella typhimurium* on 'Cantaloupe' melon during cold storage under controlled atmospheres. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 32 (3): 209 -215
- Lynch, M.F., R.V. Tauxe, and C.W. Hedberg. 2009. The growing burden of foodborne outbreaks due to contaminated fresh produce: risks and opportunities. *Epidemiology and Infection*. 137: 307–315

- Madigan, M.T., Martinko, J.M. y Parker, J. 2004. *Biología de los microorganismos*. Prentice Hall-Pearson. Madrid, España. 1096 p.
- Mukhopadhyay, S. y Ramaswamy, R. 2012. Application of emerging technologies to control Salmonella in foods: A review. *Food Research International*. 45: 666–677
- Padilla, D.C., Castrillón, R.L.E., Palma, R.A. y Pech, O.L.G. 2011. Kanamicina: una alternativa terapéutica para pacientes con actinomicetomas *Dermatología Rev Mex*. 55 (3): 112-118
- Rivera, P.D.M., Gardea, B. A.A., Martínez, T.M.A., Rivera, D.M. y González A. G.A. 2007. Postharvest biochemical effects of UV-C irradiation on fruit and vegetables. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30 (4): 361-372
- Robijns, S., Steenackers, H., Janssens, J., Marchand, A., Chaltin, P., Vanderleyden, J., De Keersmaecker, S. 2011. Identification, characterization and determination of the mode of action of new broad applicable, small molecule inhibitors of Salmonella biofilm formation. *Workshop on Bacterial and Fungal Biofilms*. Ghent, Belgium.
- Scallan E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.A., Roy, S.L., Jones, J.L. and Griffin, P.M. 2011. Foodborne Illness Acquired in the United States-Major Pathogens. *Emerging Infectious Diseases*. 17 (1): 7-15
- Sánchez, M.R. e Íñiguez, R.V. 1998. Epidemiología molecular de plásmidos multiresistentes a antibióticos presentes en enterobacterias provenientes de procesos diarreicos infecciosos. *FIOFARBO*. 6: 73-82
- Sedgwick, S.G., Ho, C. y Woodgate, R. 1991. Mutagenic DNA Repair in Enterobacteria. *Journal Bacteriology*. 173 (18): 5604-5611
- Sivapalasingam, S., Friedman, C.R., Cohen, L. y Tauxe, R.V. 2004. Fresh produce: a growing cause of outbreak of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997. *Journal of Food Protection*. 67: 2342-2353
- Smith, B., Magee, J.B. y Gupton, G.L. 1996. Susceptibility of rabbiteye cultivar postharvest diseases. *Plant Disease*. 80: 215-218

- Terragno, R., Caffer, M.A.I., Bruno, S. y Binsztein, N. 2003. Parte I: Aislamiento Identificación y Serotipificación de *Salmonella*. Manual de Procedimientos. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI). Departamento de Bacteriología. Buenos Aires, Argentina. pp. 56
- Wong, H.S., Townsend K.M., Fenwick, S.G., Trengove, R.D. and O’Handley, R.M. 2010. Comparative susceptibility of planktonic and 3-day-old *Salmonella* Typhimurium biofilms to disinfectants. *Journal of Applied Microbiology*. 108 (6): 2222–2228,
- Yaun, B.R., Sumner, S.S., Eifert, J.D. y Marcy, J.E. 2004. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *International Journal of Food Microbiology*. 90 (1): 1–8
- Zagory, D. 1999. Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. *Postharvest Biology and Technology*. 15 (3): 313–321

## CONCLUSIONES GENERALES

La irradiación con UV-C en ciertas dosis ( de 1 a 5 kJ m<sup>-2</sup>) no afecta las propiedades nutricionales como: capacidad antioxidante, contenido de fenoles y antocianinas; del fruto de arándano azul (*V. ashei* Reade).

Es conveniente aplicar dosis bajas de UV-C como 1 kJ m<sup>-2</sup> en frutos de *V. ashei* Reade para lograr la menor pérdida de peso en combinación con temperaturas de refrigeración.

El fruto de arándano azul (*V. ashei* Reade) en postcosecha, presentó un contenido de azúcares totales que osciló entre 5 y 7%, mientras que los sólidos solubles totales estuvieron entre 11 y 14 °Brix; sin afectar su contenido por la irradiación UV-C de 5 kJ m<sup>-2</sup>.

Bajo las condiciones probadas en este estudio, la irradiación con UV-C (254 nm) continua aplicada a 60 cm en dosis de hasta 7 kJ m<sup>-2</sup>, no tuvo efecto en la sobrevivencia, crecimiento y tiempo de generación de *S. typhimurium* en frutos frescos de arándano azul.

La aplicación de la irradiación con luz UV-C (254 nm) en frutos de la especie *V. ashei* Reade es una alternativa potencial para obtener arándanos azules frescos de calidad microbiológica aceptable, por lo que se puede ampliar y mejorar la forma de aplicación de la irradiación.

La implementación de medidas preventivas como las Buenas Prácticas Agrícolas y las Buenas Prácticas de Manejo son hasta ahora la mejor estrategia para asegurar la inocuidad de este producto agrícola.