

TÍTULO DE PATENTE NO. 328905

Titular(es): CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO A.C.

Domicilio: Av. Normalistas No. 800, Col. Colinas de la Normal, 44270, Guadalajara, Jalisco, MÉXICO

D nominación: MÉTODO PARA INCREMENTAR EL CONTENIDO DE CAROTENOIDES EN LYCOPERSICON ESCULENTUM L. MEDIANTE LA IRRADIACIÓN DE LASER ROJO

Clasificación: Int.CI.8: A23L1/025

Inventor(es): EVA NOEMI OBLEDO VÁZQUEZ, JESUS CERVANTES MARTINEZ



Vigencia: Veinte años

Fecha de Vencimiento: 11 de mayo de 2027

La patente de referencia se otorga con fundamento en los artículos 1º, 2º fracción V, 6º fracción III, y 59 de la Ley de la Propiedad Industrial.

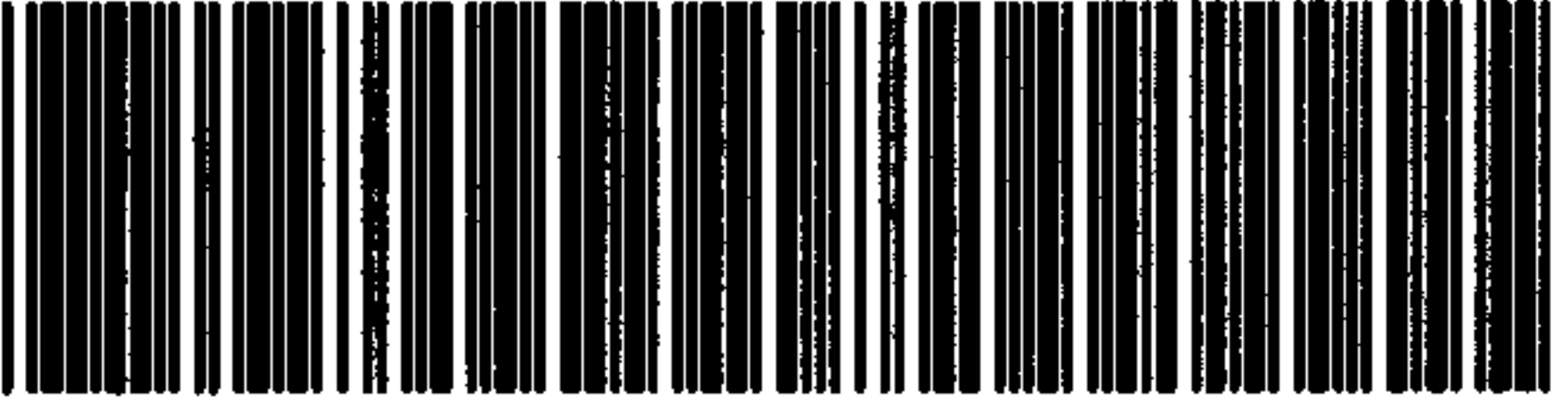
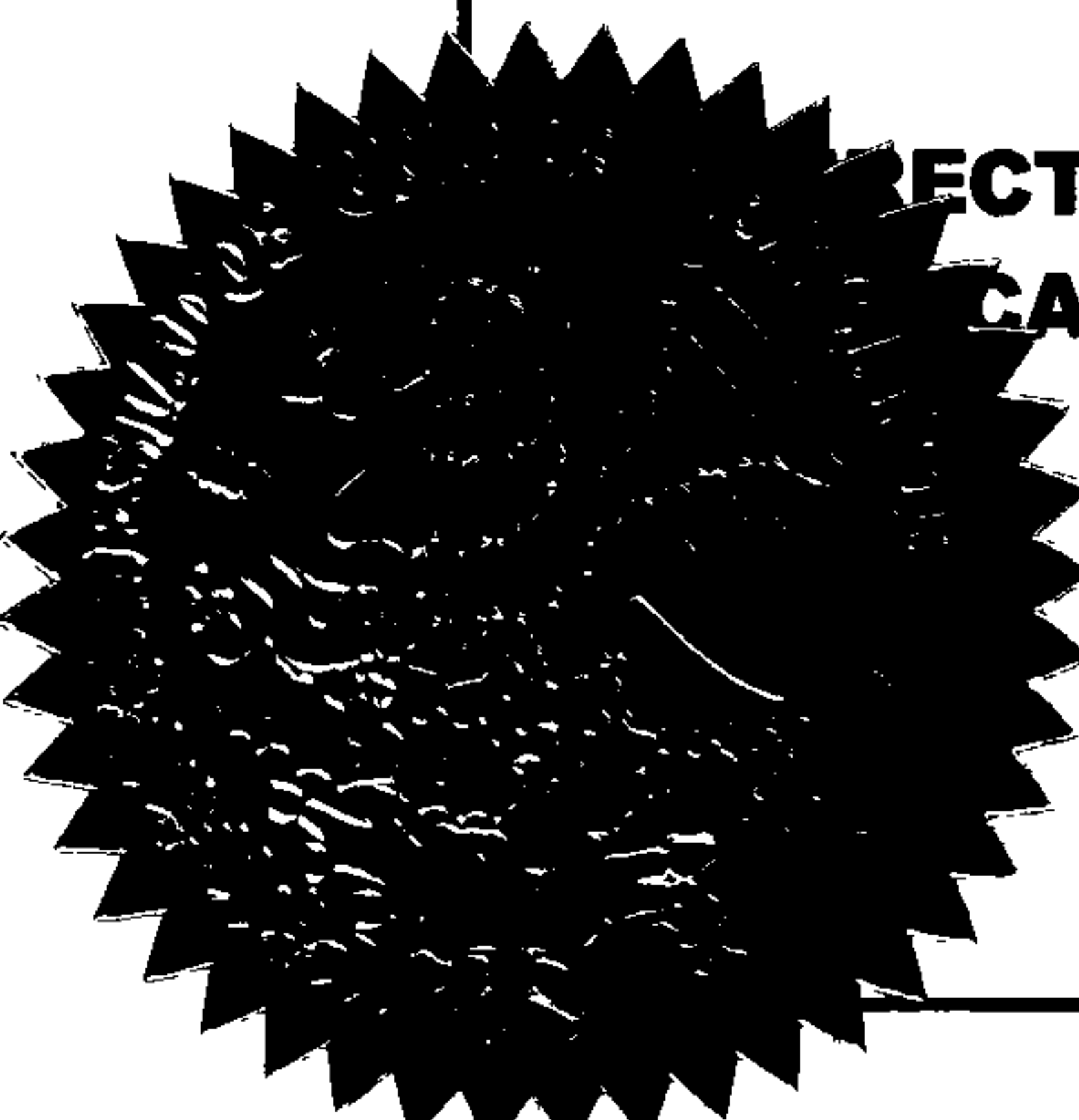
De conformidad con el artículo 23 de la Ley de la Propiedad Industrial, la presente patente tiene una vigencia de veinte años improrrogables, contada a partir de la fecha de presentación de la solicitud y estará sujeta al pago de la tarifa para mantener vigentes los derechos.

Quien suscribe el presente título lo hace con fundamento en los artículos 6º, fracciones I y II, y 2º bis 2 de la Ley de la Propiedad Industrial (Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) 27/06/1997, reformada el 02/07/1997, 26/12/1997, 17/05/1999, 26/01/2004, 16/06/2005, 25/01/2006, 06/05/2009, 06/01/2010, 13/07/2010, 28/08/2010, 20/09/2010, 12/12/2010); artículos 1º, 3º fracción V inciso a), sub inciso iii) 4º y 2º fracciones I y III del Reglamento de la Ley de la Propiedad Industrial (D.O.F. 14/12/1999, reformado el 07/07/2002, 15/01/2004, 28/07/2004 y 7/09/2007); artículos 1º, fracción I inciso a), sub inciso iii), 16 fracciones I y III y 30 del Estatuto Orgánico del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 27/12/1999, reformado el 10/10/2002, 29/07/2004, 04/02/2006, 13/09/2007, 15/12/1999, reformado el 04/02/2000, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007).

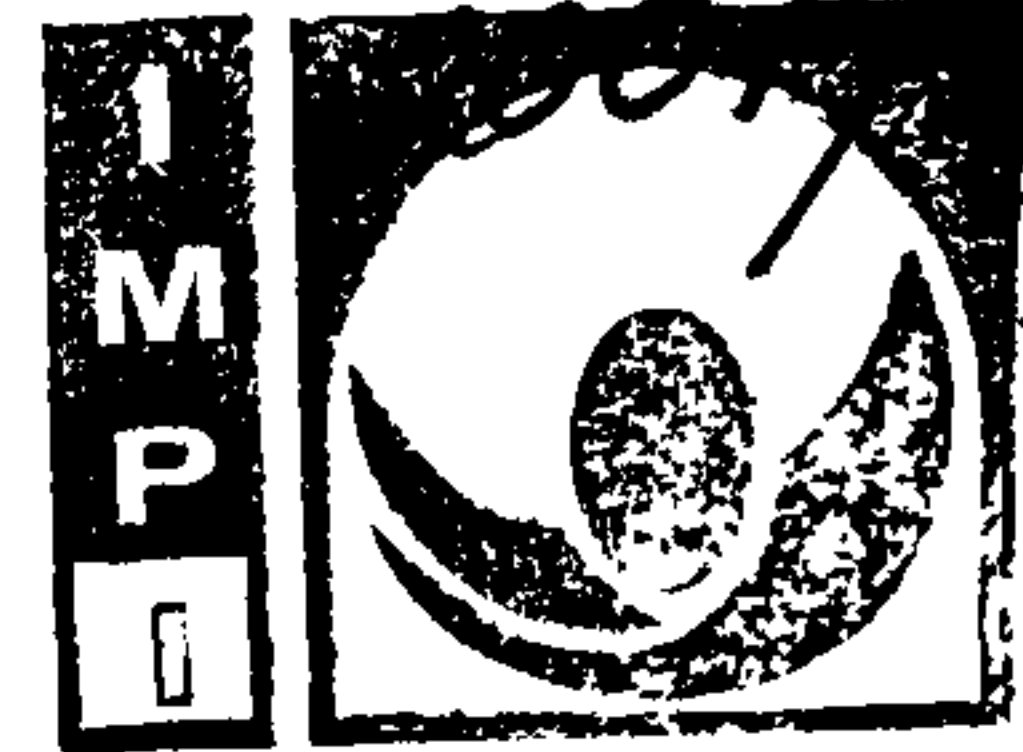
Fecha de expedición: 30 de enero de 2015

DIRECTOR DIVISIONAL DE EXAMEN DE FONDO DE PATENTES, ÁREAS QUÍMICA, ELÉCTRICA Y DE REGISTROS DE DISEÑOS INDUSTRIALES Y MODELOS DE UTILIDAD

PEDRO DAVID FRAGOSO LÓPEZ



328905
30-I-2015



7/5728

- 1 -

"MÉTODO PARA INCREMENTAR EL CONTENIDO DE CAROTENOIDES EN *Lycopersicon esculentum* L. MEDIANTE LA IRRADIACIÓN DE LASER ROJO"

Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

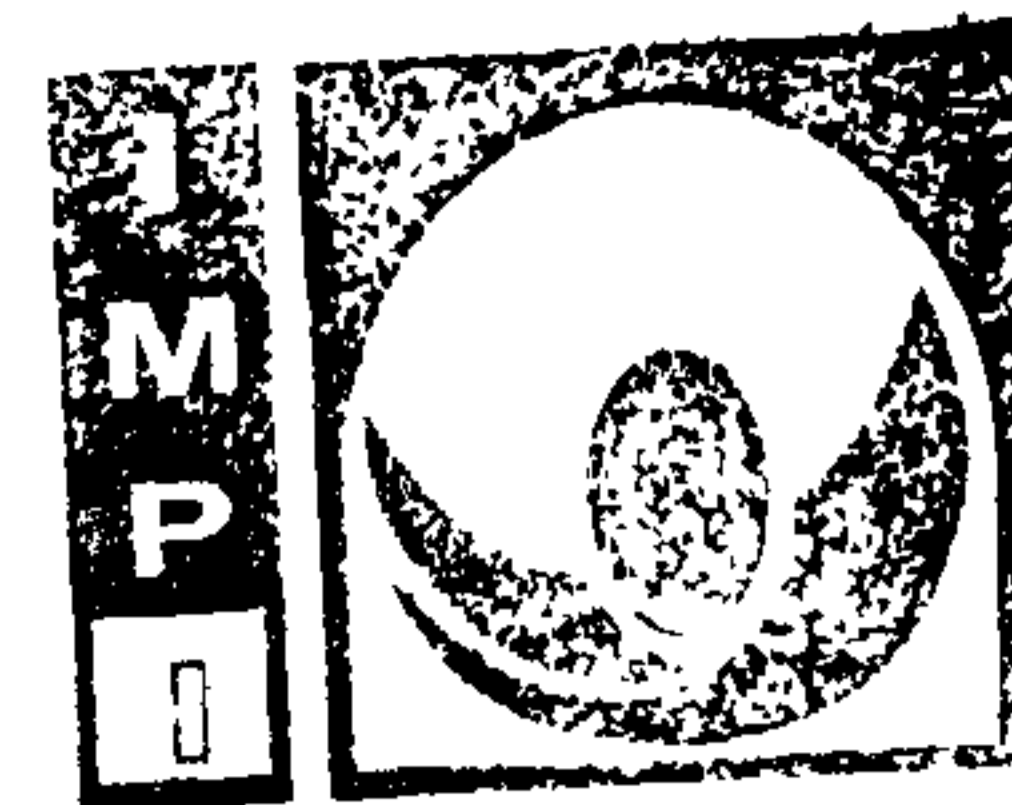
- 5 La presente invención está relacionada con la poscosecha de frutas y hortalizas, el cual se refiere a un método para incrementar el contenido de carotenoides en *Lycopersicon esculentum* L; mediante la irradiación de láser rojo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 El consumo de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) y productos derivados que contienen licopeno se han asociado con la disminución del riesgo de enfermedades crónicas tales como cáncer y enfermedades cardiovasculares (Minorsky, 2002). En el caso del cáncer de próstata, se ha reportado el efecto curativo del licopeno (Omoni y Aluko, 2005). Estas propiedades están dadas principalmente por la actividad antioxidante de los carotenoides
- 15 que contiene, como el β -caroteno, la luteína y el licopeno, entre los cuales el mayoritario es el licopeno (Martínez-Valverde y col., 2002; Giovanelli y col., 1999). El contenido de licopeno varía significativamente con el proceso de maduración del tomate y es el principal pigmento responsable de su color rojo. La maduración del tomate es una combinación de procesos que incluyen el rompimiento de la clorofila y la síntesis de carotenoides (Kozukue y
- 20 Friedman, 2003; Bramley, 2002; Fraser y col., 1994).

Debido a que los organismos fotosintéticos dependen de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) como su fuente de energía, el crecimiento y desarrollo vegetal está íntimamente relacionado a los cambios en luminosidad que se presentan en el ambiente de la planta. La habilidad que tiene la luz de regular el crecimiento y el desarrollo vegetal es

25 d finido como fotomorfogénesis y es independiente de la fotosíntesis. La fotomorfogénesis involucra la activación de sistemas fotorreceptores (pigmentos) entr los que se incluyen los



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

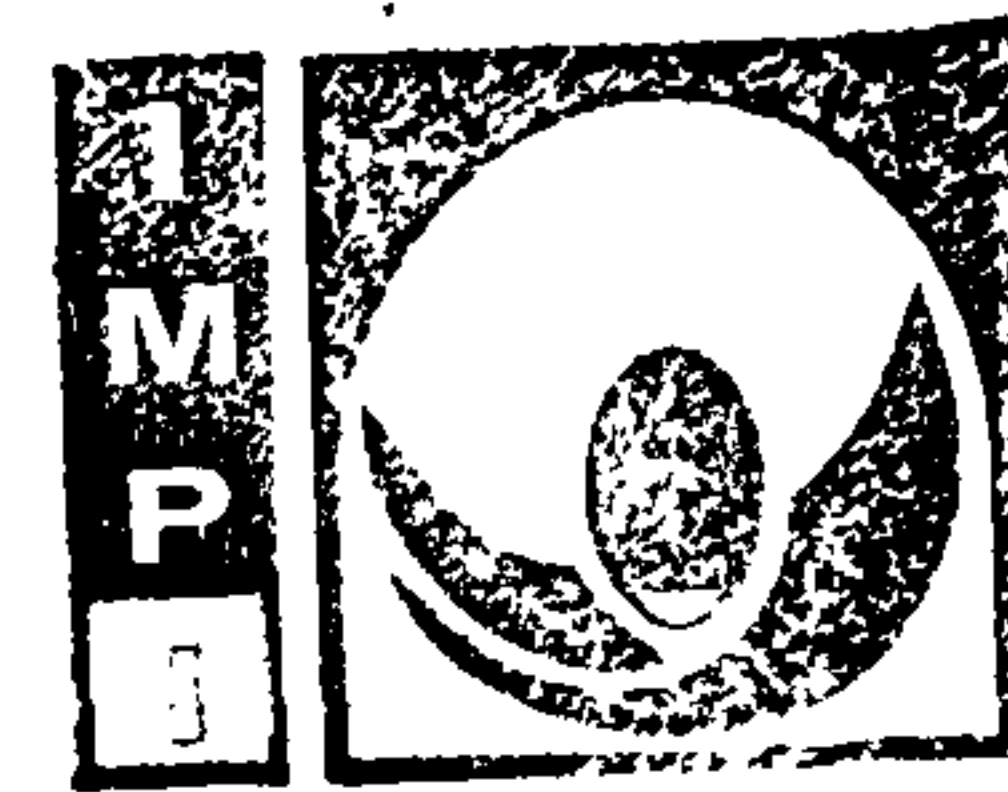
fitocromos que absorben luz roja e infrarroja, los criptocromos que absorben luz azul y UV-A y los receptores UV-B. Existen numerosos fitocromos vegetales codificados por diferentes genes (Casal y col., 1998; Kevei y Nagy., 2003) los cuales están involucrados en numerosos procesos del ciclo vegetal como la germinación de las semillas, desarrollo de cloroplastos, elongación del tallo, biosíntesis de antocianinas y periodicidad de la floración (Casal y col., 1998).

El estrés de luz ha sido reportado como un inductor de algunos metabolitos secundarios como el ácido clorogénico en tubérculos de papa, el cual se ha logrado incrementar utilizando lámparas fluorescentes y lámparas de mercurio de alta presión durante 15 días de almacenamiento (Percival y Baird, 2000), la quercetina que se ha logrado incrementar en manzana por medio de estímulos de luz UV-B (Reay y Lancaster, 2001), en uva se ha incrementado el contenido de antocianinas utilizando un estímulo lumínico en el rango que va del azul al UV (Kataoka y col., 2004). También en la uva se ha incrementado el contenido de resveratol y otros fenoles, utilizando radiación UVC (Cantos y col, 2000).

Se ha reportado que los fitocromos localizados en el fruto de tomate regulan la acumulación de licopeno de manera independiente a la producción de etileno (Alba y col., 2000) el cual es el principal compuesto responsable de la madurez y ablandamiento del tejido vegetal.

Utilizando estímulos de luz roja, proveniente de lámparas y bulbos, se ha logrado incrementar el contenido de licopeno en la piel del fruto de tomate (Lee y col., 1997), sin embargo, con este método de luz, la firmeza de los frutos es inferior, lo cual disminuye su calidad. Los factores que determinan la adquisición y uso de los tomates son el color, la textura y el sabor (Lee, 1997). La temperatura es un factor determinante en la maduración y firmeza de los frutos, temperaturas de almacenamiento superiores a los 29.4°C inhiben el desarrollo del color rojo y la fruta es más blanda (Mahovic y col, 2004)

La luz proveniente de estas fuentes tiene un ancho de banda amplio, y es incoherente. El ancho de banda amplio es debido a que emite en diferentes longitudes de onda, aún cuando



Instituto

Mexicano
de la Propiedad

Industrial

predomine la de cierto rango como en el caso de una lámpara fluorescente roja que emite

también a longitudes de onda que corresponden a la luz azul, verde e infrarroja cercana. Su

espectro de emisión presenta picos a 405, 436(luz azul), 547(luz verde), 617, 632 (luz roja) y

712 (Infrarrojo cercano) nm. Además, al ser incoherente viaja hacia diferentes direcciones y

5 a consecuencia de ello, se disipa. Por lo tanto la luz de interés no llega totalmente al fruto a

irradiar. En el caso de la lámpara fluorescente roja, además de la energía que se pierde al

emitirse en luz de diferente longitud de onda y de la que se pierde al disiparse en diferentes

direcciones, presenta el inconveniente de emitir en el infrarrojo cercano (712 nm). La luz en

el infrarrojo cercano que llega a los fitocromos revierte el efecto de producción de licopeno

10 que es estimulado por la luz roja (Taiz y Zeiger, 1998), además de generar calor.

Otra característica de este tipo de fuentes de luz es la generación de calor la cual no puede

separarse de la emisión de luz. Al generarse calor con la fuente de luz, el fruto a irradiar

podría presentar una firmeza menor a la requerida como parámetro de calidad para su

venta. Con la finalidad de disminuir el calor generado se puede recurrir a sistemas de

15 enfriamiento, los cuales sin embargo, encarecerían el proceso de estimulación de la

producción de licopeno.

A diferencia de estas fuentes de luz, el láser (acrónimo de Light Amplification by Stimulat d

Emission of Radiation) es una luz con una ancho de banda angosto, coherente y

monocromática es decir, emite luz de una sola longitud de onda y en una misma dirección.

20 Por tal motivo la energía no se disipa en otras direcciones ni en otras longitudes de onda y

no se corre el riesgo de irradiar con una mezcla de longitudes de onda que pudieran incluir

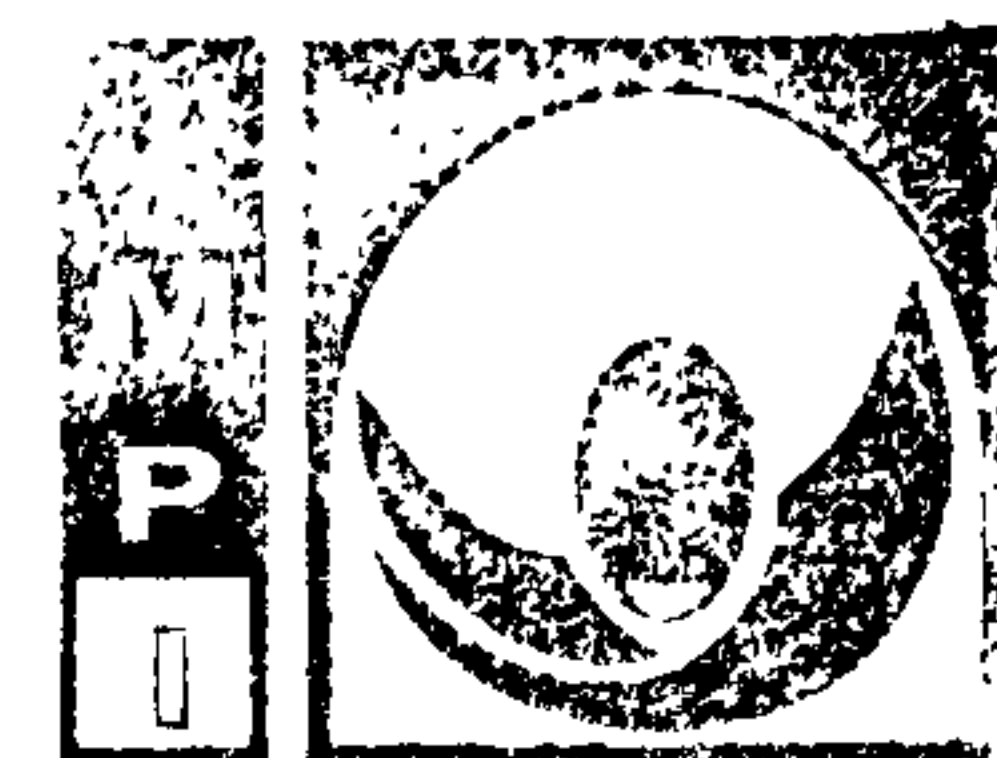
el infrarrojo cercano el cual revierte el efecto de la luz roja sobre la acumulación de licopeno

como ocurre con las lámparas rojas fluorescentes. Esto a su vez permite que toda la energía

emitida por la fuente llegue al objeto a irradiar y por lo tanto, es la más adecuada para

25 inducir la acumulación de licopeno. Aún cuando el sistema láser de potencia de salida

elevada puede generar calor, tiene la característica de que el sistema láser puede



Instituto

de la Propiedad

Industrial

mantenerse a una distancia que impida que el calor generado llegue al fruto a irradiar que el haz láser puede direccionarse y controlarse de tal forma que el fruto a irradiar se

coloque a distancia del sistema láser sin que se pierda la energía del mismo. Esto permitirá evitar que el fruto irradiado esté en contacto con el calor generado por el sistema láser sin tener que invertir energía en disminuir la temperatura de la cámara de irradiación.

Una búsqueda exhaustiva en bases de datos, incluyendo patentes, confirman que no existe una método láser para incrementar el contenido de carotenoides en frutas y verduras.

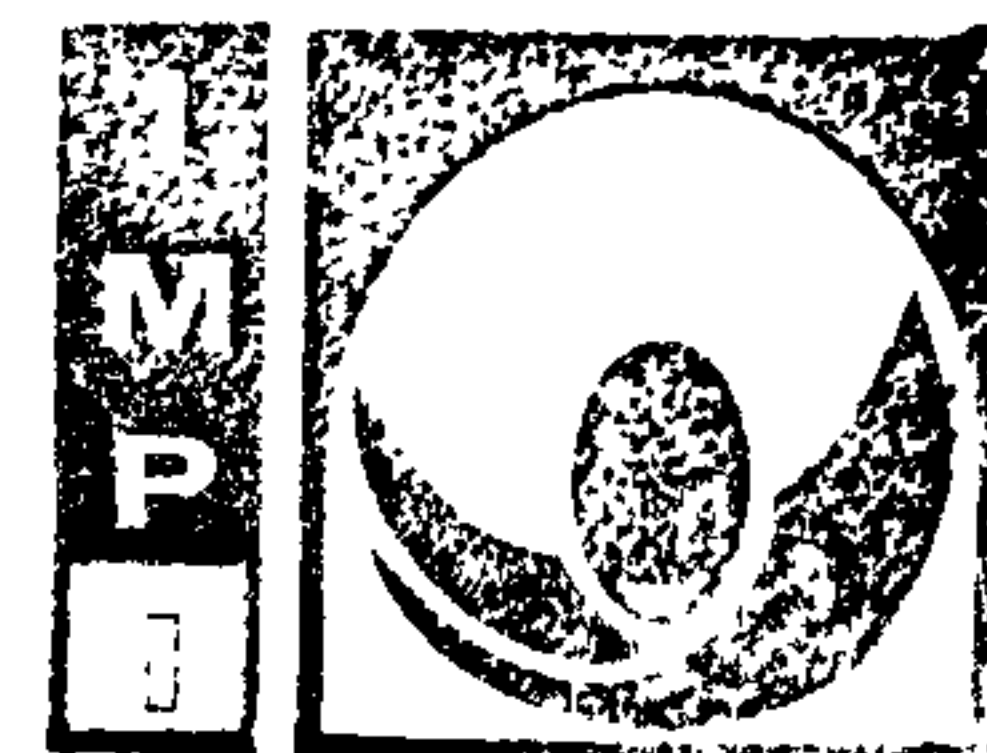
Las patentes relacionadas giran en torno a metodologías para obtener concentrados de licopeno con mayor rendimiento que el obtenido con las metodologías tradicionales, formulaciones de productos nutraceúticos y medicinales que contienen licopeno y que presentan propiedades benéficas para la salud y metodologías novedosas para la cuantificación de licopeno y de otros carotenoides.

Como ejemplo de patentes que protegen metodologías para obtener concentrados de licopeno se presentan dos. La patente WO03079816 y la KR 2,006,009,7107. La primer patente protege un proceso para la extracción de licopeno por medio del cual se obtendrá un concentrado el cual contendrá del 5 a 20% de licopeno y menos de 1% de carbohidratos.

La segunda patente protege un producto que es un concentrado de licopeno natural y el método para producirlo. Este concentrado tiene la característica de ser hidrosoluble a temperatura ambiente y contener por lo menos 1mg de licopeno por gramo de concentrado.

La forma de extraer el concentrado consiste básicamente en alcalinizar y calentar la muestra, aislar las fibras y compuestos insolubles por separación sólido-líquido, acidificar y aislar carbohidratos y otros compuestos solubles por separación sólido-líquido. En ambas patentes el método para elaborar el concentrado no se refiere al incremento del contenido de licopeno en el fruto sino a una eficiente extracción del licopeno que ya contiene el fruto.

Por lo tanto, estas patentes no le quitan novedad a la metodología objeto de la presente invención.



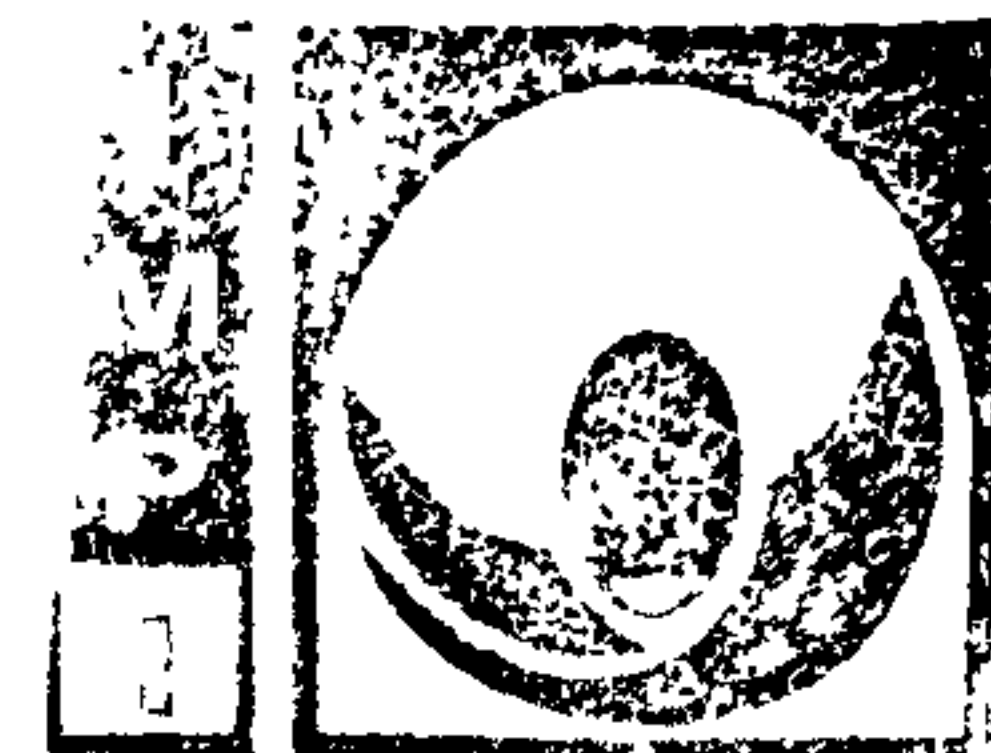
- 5 -

Instituto

Mexicano
de la Propiedad

En lo relacionado a las patentes que protegen formulaciones nutraceuticas o medicinales que incluyen el licopeno, se presentan tres; 1) CN 1,608,509 que corresponde a un producto nutraceutico y su proceso de produccion. El producto nutraceutico contiene una mezcla sinergistica de licopeno, propoleo y aceite de oliva. 2) US 2,006,024,6153 A1 que protege una composicion herbolaria para el tratamiento y prevencion de desordenes de la prostata. La composicion contiene licopeno en forma pura o en forma de extracto de *L. esculentum* ademàs de silmarina o sus componentes en forma libre o en complejo con fosfolipidos, acido laurico o un ester no toxico o sal que lo contenga o extractos lipofilicos de *Serenoa repens* y puede contener sales de zinc y/o compuestos con selenio. 3) US 6,362,221 B1 que consiste en una formulacion efectiva para la prevencion y tratamiento de niveles altos de colesterol y lipidos en mamiferos la cual contiene licopeno y tocoferoles naturales. Las tres patentes presentadas, que constituyen una muestra del tipo de patentes que se encontraron de formulaciones con licopeno, no incluyen induccion de la acumulacion de licopeno en la materia prima.

De las patentes que proponen nuevas metodologias para la cuantificacion de licopeno y otros carotenoides se presentan dos. Las patentes US 2,004,013,0714 y US 6,205,354. La primera se refiere a un metodo optico y un aparato para determinar el status de productos agricolas. El metodo es espectroscopico, (esparcimiento Raman) y se emplea para determinar de manera rapida el estado de salud general o estado de estrès en plantas vivas y productos de origen vegetal. La invencion Incluye la determinacion de carotenoides tales como licopeno, beta-caroteno, luteina, violaxantina, neoxantina, antheraxantina y zeaxantina. El equipo asociado a la invencion puede ser portatil o montarse en una pieza de equipos tales como un cosechador o un seleccionador. La segunda patente protege un metodo y un aparato para la medicion no invasiva de carotenoides y sustancias quimicas relacionadas presentes en tejidos biologicos vivos tales como la piel. Ambas patentes se

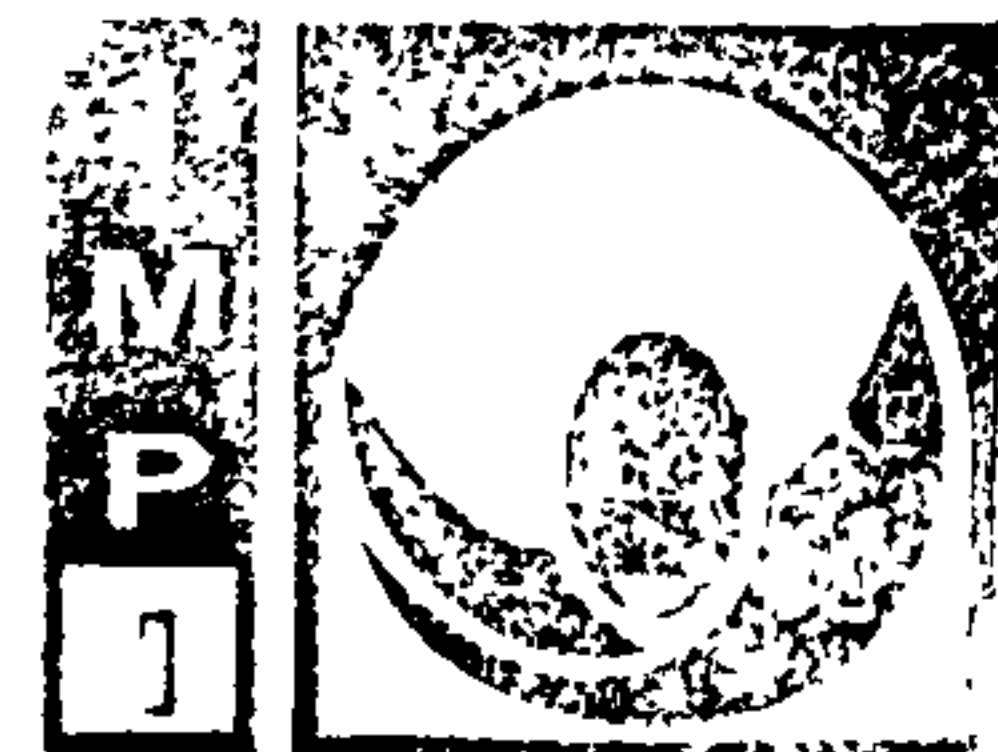


Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

refieren exclusivamente a metodologías de medición y no de estimulación abiótica para la mayor acumulación de licopeno.

Existe una publicación acerca de la obtención de una variedad transgénica de *L. esculentum* con valores incrementados en el contenido de licopeno (Dixon, 2005), sin embargo, este nuevo material biológico, correspondiente a un organismo genéticamente modificado (OGM) presenta limitaciones legales para su liberación al medio ambiente y limitaciones por parte del público consumidor para su aceptación y consumo lo cual puede retardar o impedir su empleo a nivel comercial. Aunado a estas limitaciones, la nueva variedad de tomate requiere adaptarse a las diferentes condiciones de cultivo de las regiones productoras de *L. esculentum*. A diferencia de esta variedad genéticamente modificada, la presente invención ofrece una alternativa pos-cosecha para la mayor producción de licopeno en frutos de *L. esculentum*, sin recurrir a la controversial ingeniería genética. Debido a que es una metodología pos-cosecha, no requiere que se modifiquen las prácticas agrícolas adoptadas por los productores para el cultivo de diferentes variedades de *L. esculentum* en las diferentes regiones productoras.

Existe una patente sobre el empleo de irradiación UVC para incrementar el contenido de metabolitos secundarios vegetales. Esta es la patente WO 02/085137 A1, la cual protege el empleo de irradiación UVC para incrementar el contenido de la antocianina resveratol y otras fitoalexinas en uva y en otras materias primas. La radiación UVC tiene una longitud de onda entre 100 y 280 nm (radiaciones UV cortas). La UVC al ser la de menor longitud de onda, es la que presenta el mayor poder de penetración, afectando el material genético celular y tiene una fuerte actividad microbicida. Tomando en cuenta las características de esta radiación, su empleo en uvas podría eliminar especies de levaduras que están involucradas en el proceso de elaboración del vino. Por otro lado, su efecto sobre el ADN, podría repercutir en cambios genéticos que pudieran alterar la viabilidad de las semillas contenidas en el fruto. A diferencia de la radiación UVC, en la invención que se describe a



Instituto

continuación, se utiliza luz láser rojo con una longitud de onda de 632 nm, perteneciente al rango de la luz visible. Este tipo de luz no induce cambios genéticos ni presenta actividad antimicrobiana. Contribuye a la acumulación de carotenoides por medio de estímulos luminosos que llegan a los fitocromos. El emplear un sistema láser para generar el estímulo luminoso permite eliminar cualquier otra longitud de onda que se presenta en la luz roja proveniente de bulbos o lámparas e incrementa el poder de penetración de la luz, lo cual permite que llegue a los tejidos internos del fruto, lo cual repercute en que se incremente el contenido de licopeno de todo el fruto y no solo de la parte que está en contacto con el exterior como ocurre con el empleo de lámparas o bulbos.

10

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los detalles característicos de esta invención que se refiere al método para incrementar el contenido de carotenoides en el *L. esculentum* mediante la irradiación de láser rojo, se muestran en las siguientes etapas. Las cuales se mencionan a manera de ejemplo y no deben de ser consideradas como limitativas a la presente invención.

15

Etapas I.- Selección de la materia prima:

Una vez cosechado el tomate, de acuerdo a las prácticas comerciales estándar, se procede a seleccionar frutos sin daño mecánico y en estado de madurez verde de acuerdo a la carta de maduración publicada por California Tomatoes.

20

Etapas II.- Irradiación láser:

Una vez seleccionado el material vegetal se somete a irradiación con láser rojo de 600 a 690 nm, preferentemente de 632 nm de longitud de onda y 30 mW de potencia. Considerando que la salida del láser es un haz de luz y que el fruto debe estimularse en toda su superficie, se utiliza un objetivo de microscopio 40X con el cual la luz monocromática emitida por el láser se expande y alcanza a cubrir toda la cara del fruto. La irradiación prolongada del fruto en un mismo punto de irradiación

25



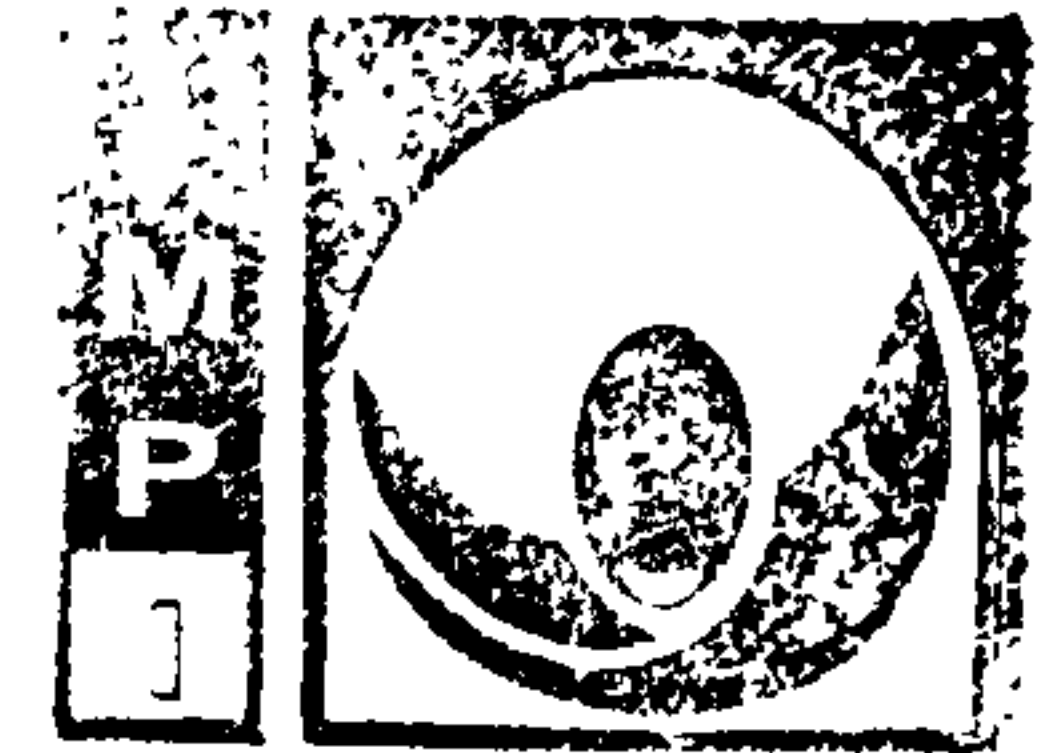
induce quemaduras en el mismo, por lo cual, para solventar este inconveniente y estimular la acumulación de carotenoides en el fruto de manera homogénea, se utiliza una base giratoria con velocidad baja (1.5 rpm) en la cual se colocan los frutos a una distancia de 1.5 m del sistema láser. Con estas condiciones de irradiación, la fluencia, es decir, el número de fotones incidentes a una unidad de área, que llega a la parte externa del fruto es de $7.61 \mu\text{mol}/\text{m}^2$, a la parte media de $4.28 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ y a la parte interna de $1.79 \mu\text{mol}/\text{m}^2$. Los frutos permanecieron expuestos a la irradiación láser por 6 horas a temperatura ambiente.

Dependiendo de las condiciones en las que se produzca la irradiación, la potencia del sistema láser, la distancia focal del lente expansor del haz láser y la distancia del fruto al sistema láser pueden variar en función de la cantidad de frutos de *L. esculentum* a irradiar, con tal de que se asegure una fluencia mínima de $1.0 \mu\text{mol m}^{-2}$ en la parte interna del fruto y no mayor a $1,000 \mu\text{mol m}^{-2}$ en la parte externa del mismo.

Etapa III.- Incubación del fruto:

Una vez aplicada la irradiación láser, el fruto permanece en condiciones estándar de incubación; con temperatura de 20 a 22°C y humedad del 85%, donde acumula el licopeno hasta alcanzar un color rojo, adecuado para su comercialización en fresco, lo cual se logra en un lapso de 3 a 6 días.

Después de aplicar el método conforme a las tres etapas anteriores, se obtiene un fruto de *L. esculentum* con mayor contenido de licopeno que el del fruto sin el tratamiento láser. Este incremento de licopeno se induce tanto en la parte externa como en la parte media e interna del fruto debido al poder de penetración de los tejidos que tiene el láser. Para comprobar la penetración del láser se utilizó un equipo Power/Energy Meter Modelo 841-PE



de Newport Corporation, (Irvine, CA. USA) con el cual se determinó la fluencia que llega a cada parte del fruto.

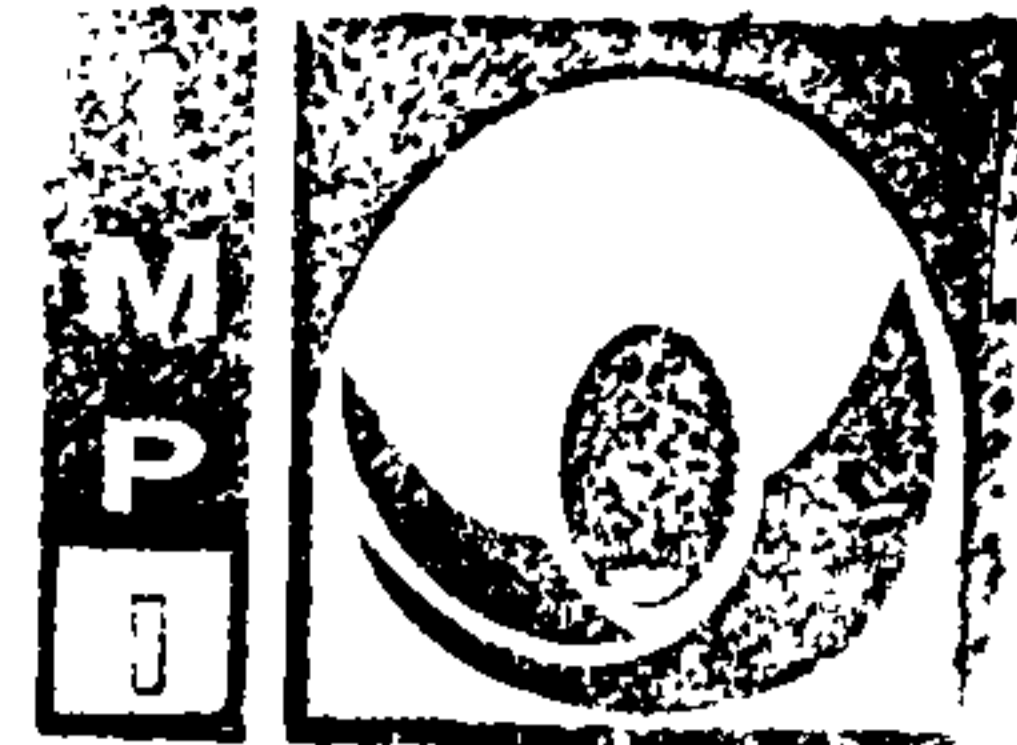
Una vez realizado el método anterior se evaluaron los frutos respecto a su firmeza, contenido de vitamina C, y contenido de los carotenoides licopeno y vitamina A.

5 La firmeza se cuantificó por medio de un analizador de textura modelo TAXT2 utilizando una punta TA15. Los resultados de firmeza se analizaron estadísticamente utilizando la prueba T-student la cual dio un valor de 0.26, indicando que no existe diferencia entre la firmeza de los frutos sometidos a la irradiación láser respecto a los frutos control.

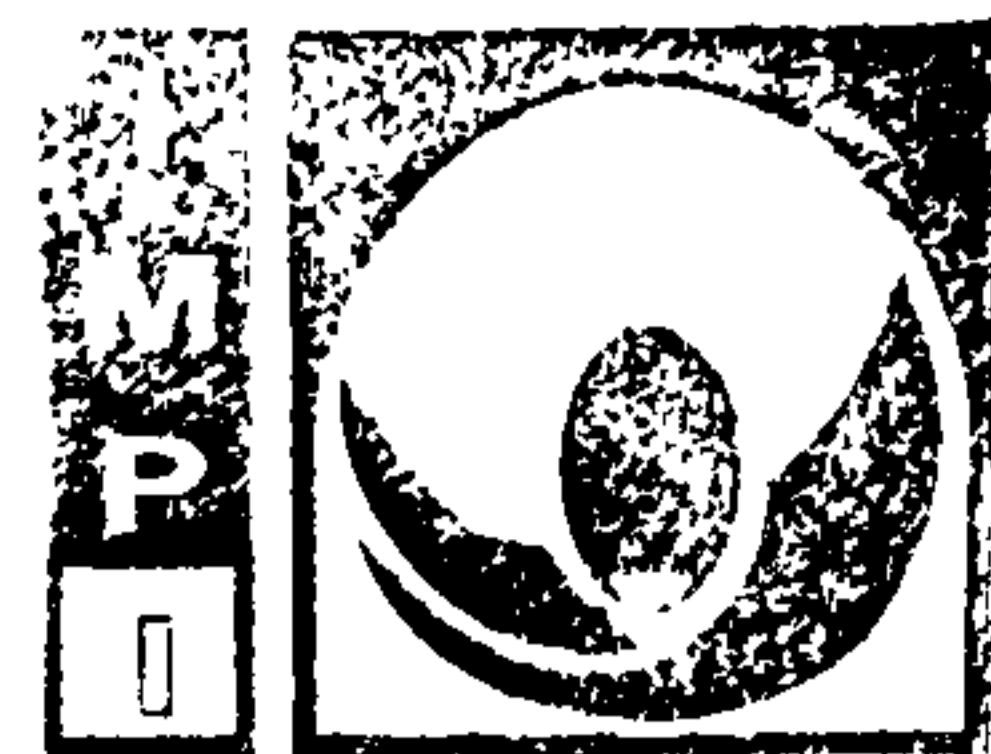
10 El contenido de vitamina C, se determinó utilizando un método volumétrico con 2,6-diclorofenol indofenol. La cantidad de vitamina C encontrada en los frutos tratados (547.7 mg/k) fue menor que la obtenida en los frutos control (649.7 mg/k), sin embargo, se mantuvo dentro del rango reportado para el tomate que es de 84-590 mg/k.

15 El contenido de vitamina A (cuyo precursor es el β -caroteno), que en este caso es equivalente a la cuantificación de β -caroteno, se determinó por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con un equipo Beckman, modelo system gold. El contenido de β -caroteno de los frutos tratados (2.58) fue mayor al encontrado en los frutos control (0.87), corroborando con ello que la irradiación láser es efectiva para estimular la producción de diferentes carotenoides y no solo licopeno..

20 Para cuantificar el licopeno se separó el tejido vegetal de la parte externa, media e interna de cada fruto. Se extrajo el licopeno utilizando una mezcla de solventes (Martínez-Valverde y col., 2001) y se cuantificó espectrofotométricamente en un equipo Cintra VI. El fruto irradiado con láser presentó un mayor contenido de licopeno en las tres capas del fruto. En la parte externa los frutos control tuvieron 0.14 mg/g de tejido fresco y los frutos irradiados 0.26 mg/g, en la parte media el contenido de licopeno en los frutos control fue de 0.06 y en 25 los frutos irradiados fue de 0.12. En la parte interna los frutos control tuvieron 0.09 mg/g de licopeno y los irradiados 0.14 mg/g. El incremento de licopeno que se obtuvo corresponde a



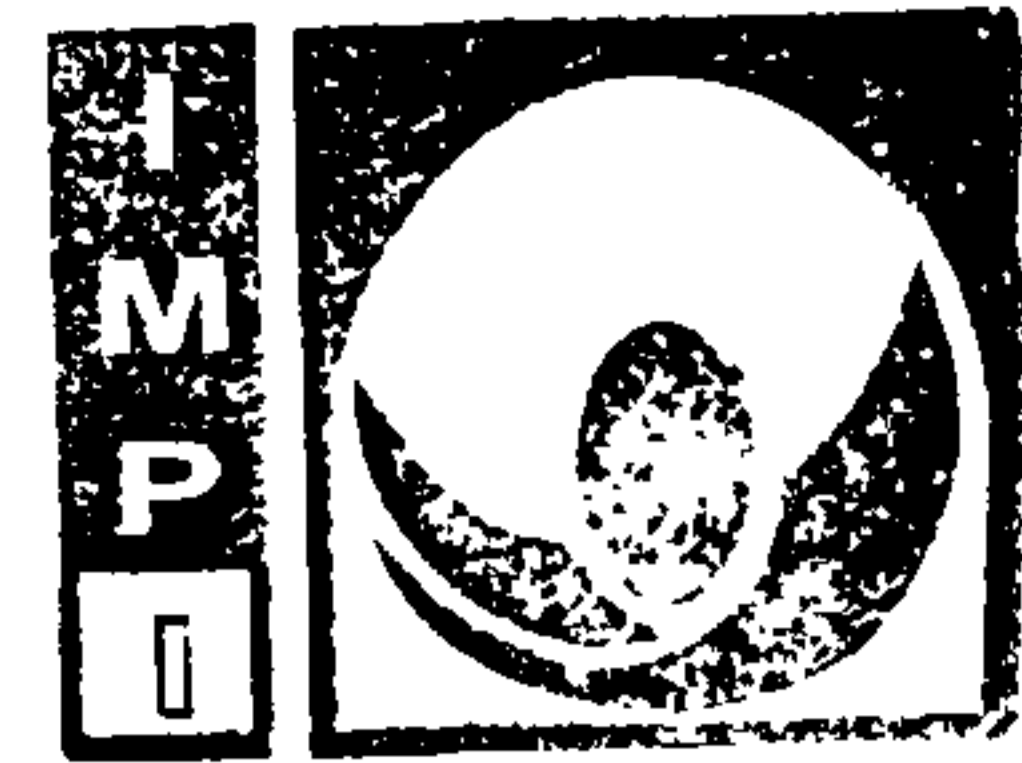
Instituto Mexicano de la Propiedad Rural
un incremento del 96% en la parte externa del fruto, 67% en la parte media y 43% en la parte interna. Los datos de la cantidad de licopeno se analizaron estadísticamente con la prueba T-student y se encontró que en los tres casos las diferencias fueron estadísticamente significativas. El incremento en la parte externa del fruto fue altamente significativa (t-student 0.018), en la parte media fue significativa (t-student 0.054) y en la parte interna fue significativa con 90% de confianza (t-student 0.086).



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

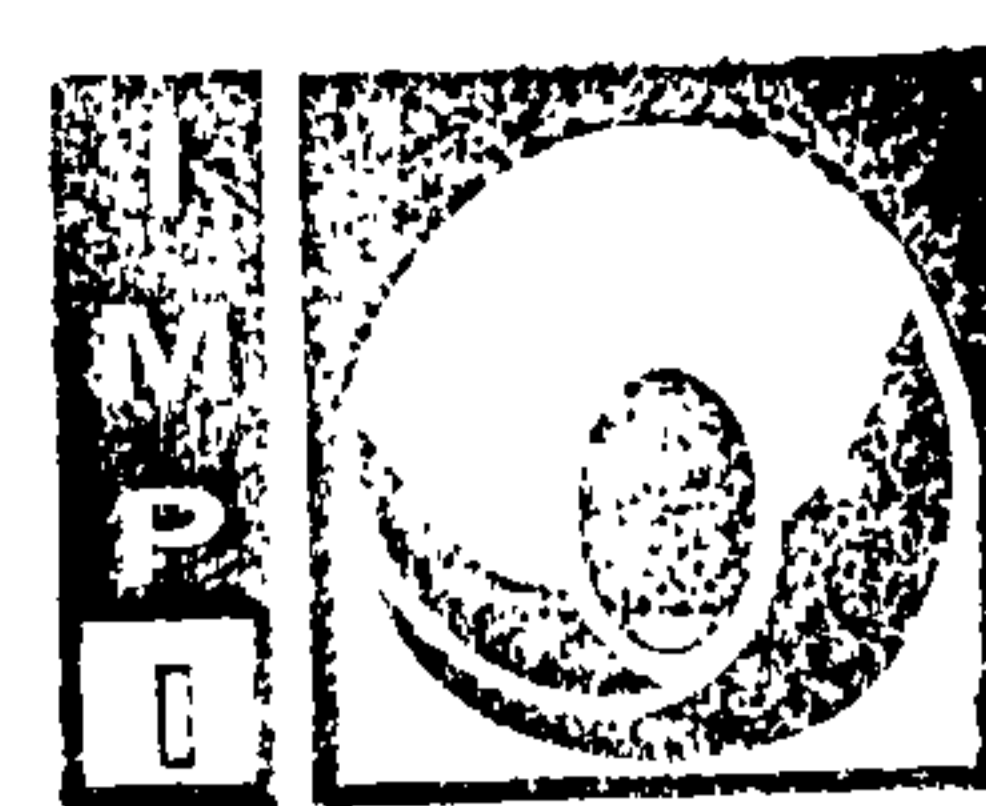
DOCUMENTOS CITADOS

- CN 1,608,509. Shaorong Q, Jingqing Z y Rui H. 2005. Lycopene health food and its production process.
- 5 KR 2,006,009,7107. 2006. Bortlik K, Duruz E, Kolodziejczyk E, Fernández-Graf MR. Natural lycopene concentrate and method for production thereof.
- US 2,004,013,0714 A1. 2004. Gellerman W, McClane RW y Bernstein PS. Optical method and apparatus for determining status of agricultural products.
- US 2,006,024,6153 A1. 2006. Bombardelli Ezio, Morazzoni P, Riva A. Herbal compositions
10 for the treatment and prevention of prostate disorders.
- US 6,205,354. 2001. Gellermann W, , Katz NB, Bernstein PS. Method and apparatus for noninvasive measurement of carotenoids and related chemical substances in biological tissue.
- US 6,362,221 B1. 2002. Clark JP y Dunker MS. Composition containing natural lycopene
15 and natural tocopherol.
- WO 02085137 A1. 2002. Tomás-Barberán F, Espín de Gea JC y Cantos-Villar E. Post.harvest treatment of fruit and vegetables using ultraviolet irradiation pulses.
- WO 03079816 A1. Giori A. 2003. A process for the preparation of tomato extracts with high content in lycopene.
- 20 Alba R, Cordonier-Pratt M, Pratt LH. 2000. Fruit localized phytochromes regulate lycopene accumulation independently of ethylene production in tomato. *Plant Physiol.* 123: 363-370.
- Bramle PM. 2002. Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development. *J. Exp. Bot.* 53: 2107-2113.
- 25 Cantos E, García-Viguera C, dePascual-Teresa S, Tomas-Barberan FA (2000) Effect of postharvest ultraviolet irradiation of resveratrol and other phenolics of cv. Napoleon table grapes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 48: 4606-4612.



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

- Casal JJ, Sánchez AR, Botto FJ. 1998. Modes of action of phytochromes. *J. Exp Bot* 49:127-138.
- Dixon S (2005) A two-for-one in tomato nutritional enhancement. *Nat Biotech* 23, 7.
- Fraser PD, Truesdale MR, Colin RB, Schuch W, Bramley PM. 1994. Carotenoids biosynthesis during tomato fruit development. *Plant Physiol.* 105:405-413.
- Giovanelli GI, Lavelli V, Peri C, Nobili S. 1999. Variation in antioxidant components of tomato during vine and post-harvest ripening. *J. Sci. Food. Agric.* 79:1583-1588.
- Kataoka I, Beppu K, Yanagi T y Okamoto K (2004) Light components contributing to accumulation of anthocyanins in "cros colman" grape berries. *Acta Horticulturae (ISHS)* 640:333-339.
- Kevei E y Nagy F. 2003. Phytochrome controlled signalling cascades in higher plants. *Physiol. Plant.* 117:305-313.
- Kozukue NI y Friedman M. 2003. Tomatine, chlorophyll, β -carotene and lycopene content in tomatoes during growth and maturation. *J. Sci. Food Agric.* 83: 195-200.
- Lee GH, Bunn JM, Han YJ y Christenbury GD. 1997. Ripening Characteristics of Light Irradiated Tomatoes. *Journal of Food Science* 62(1),138-140.
- Sargent SA, Brecht JK, Olczyk T y Kan EL. 2003. Series del Manejo de Vegetales en Florida - Tipos de Tomate Roma y Redondo. Publicación HS329. Horticultural Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, University of Florida/IFAS. Diciembre. <http://edis.ifas.ufl.edu/HS329>
- Martínez-Valverde I, Periago JM, Provan G, Chesson A. 2002. Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *J. Sci. Food. Agric.* 82:323-330.
- Minorsky PV. 2002. Lycopene and the prevention of prostate cancer: the love apple lives up to its name. *Plant Physiol.* 130:1077-1078.
- Omoni OA y Aluko ER. 2005. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a reviews. *Trends Food Sci. Tech.* 16:344-350.



Instituto

Percival GC y Baird L (2000) Influence of storage upon light-induced chlorogenic acid accumulation in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). J. Agric. Food Chem. 48: 2476-2482.

5 Reay PF y Lancaster JE (2001) Accumulation of anthocyanins and quercetin glycosides in "Gala" and "Royal Gala" apple fruit skin with UV-B- visible irradiation: modifying effects of fruit maturity, fruit side and temperature. Scientia horticulture. 90: 57-68.

Taiz L. y Zeiger E. (1998). Plant Physiology. Sinahuer Associates, Inc., Publishers

10

15

20

25



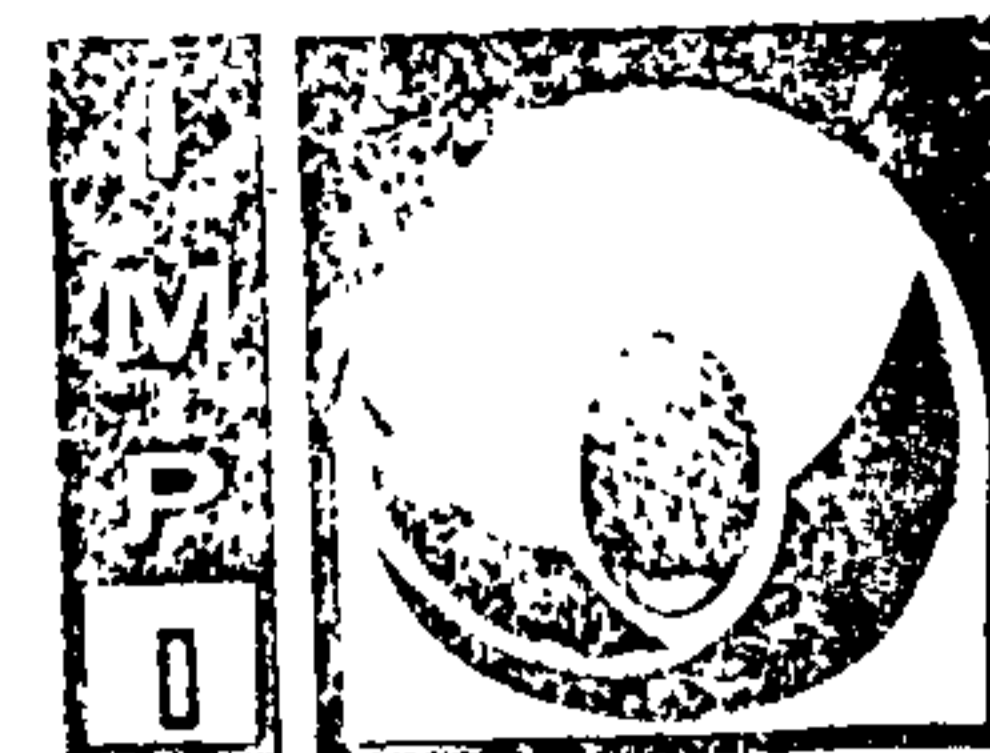
- 14 -

EJEMPLOS DE APLICACIÓN DE LA INVENCION:

Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

Utilizar este método de irradiación con láser rojo para incrementar el contenido de carotenoides en *Lycopersicon esculentum* L., descrito en esta invención, tiene un incremento de licopeno del 96% en la parte externa del fruto, 67% en la parte media y 43% en la parte interna. En seguida se describe un ejemplo de aplicación, el cual no es una limitante para la presente invención.

En una base giratoria construida con madera la cual tiene capacidad de rotar cuatro frutos simultáneamente en bases individuales a una velocidad de rotación baja de (1.5 rpm) se colocan los tomates en un estado de madurez verde sin daño mecánico. Estos tomates se mantienen a temperatura ambiente y se colocan a una distancia de 1.5 m del sistema láser durante 6 horas para ser sometido a irradiación con láser rojo de 632 nm de longitud de onda y 30 mW de potencia, con un objetivo de microscopio 40X para que la luz monocromática emitida por el láser alcance a cubrir toda la cara del fruto como se describe en la etapa II de la descripción de la invención. Posteriormente, se incuba entre 20 y 22° C y humedad del 85% durante 3 a 6 días hasta alcanzar un color rojo, adecuado para su comercialización en fresco.



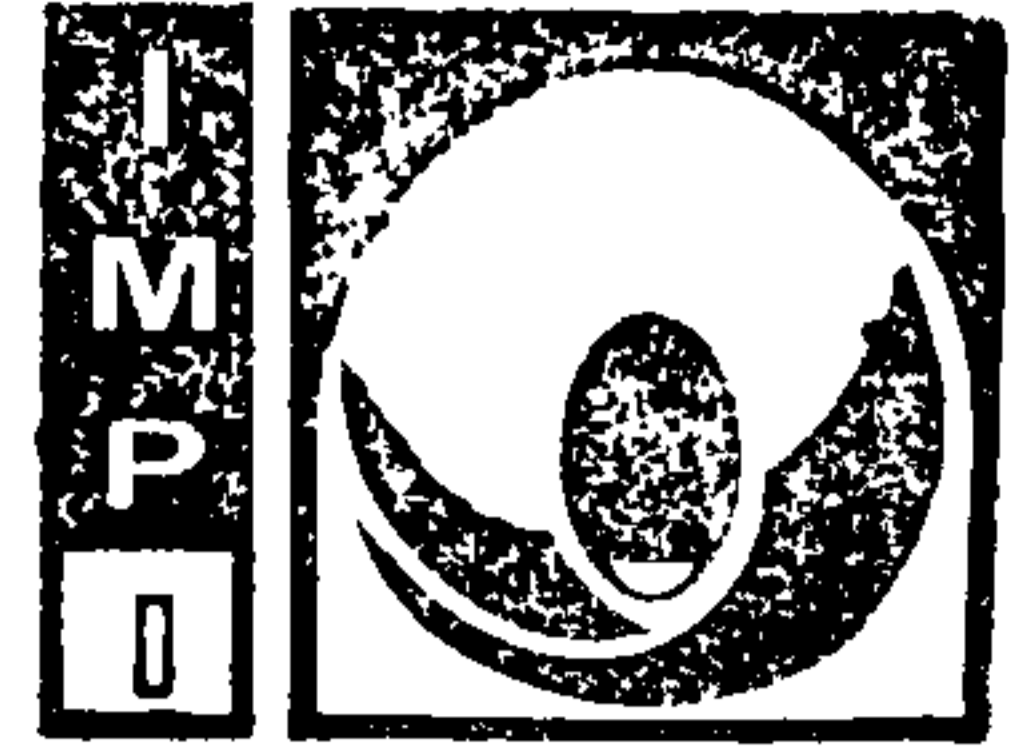
Instituto
Mexicano

REIVINDICACIONES

Habiendo descrito y ejemplificado suficientemente la invención como ~~antecede~~, se ~~considera~~ considera de nuestra exclusiva propiedad lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

- 5 1. Un método para incrementar la acumulación de licopeno en tomate por la irradiación con láser rojo, en donde no se estimula el ablandamiento del fruto caracterizado porque se compone de las siguientes etapas:
 - a. etapa I.- seleccionar la materia prima: tomar un tomate en un estado de madurez verde;
 - 10 b. etapa II.- irradiar con láser: someter el material vegetal seleccionado a irradiación con láser rojo de entre 600 y 690 nm de longitud de onda, preferentemente de 632 nm y 30 mW de potencia, considerando que la salida del láser es un haz de luz y que el fruto debe estimularse en toda su superficie, utilizar un objetivo de microscopio 40X, utilizar una base
15 giratoria con velocidad baja (1.5 rpm) y colocar ahí los frutos a una distancia de 1.5m del sistema láser, la fluencia (número de fotones incidentes a una unidad de área) que llega a la parte externa del fruto es de 7.6 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$, a la parte media de 4.28 / m^2 y a la parte interna de 1.79 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$, dejando expuestos los frutos a la irradiación láser por 6 horas a
20 temperatura ambiente;
 - c. etapa III.- incubar el fruto: una vez aplicada la irradiación láser; con temperatura de 20 a 22°C y humedad del 85% por un lapso de 3 a 6 días hasta que alcance un color rojo.
- 25 2. Método de conformidad con la reivindicación 1, en donde el tomate es *L. esculentum*.

RESUMEN DE LA INVENCION



La invención se refiere al método para incrementar el contenido de carotenoides en frutas y verduras por medio de irradiación con láser rojo con la finalidad de incrementar los efectos benéficos para la salud que les confieren los carotenoides.

- 5 La estimulación es de 6 horas con un láser He-Ne de 633 nm con 30mW de potencia el cual se hace pasar por un objetivo 40X para amplificar el área de iluminación del láser. El fruto se mantiene en incubación entre 20 y 22°C por 3-4 días hasta alcanzar el color rojo requerido para su distribución en fresco. El contenido de licopeno y otros carotenoides es superior tanto en la parte externa como interna del fruto respecto a los frutos de *L. esculentum* no tratados.
- 10