



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Desarrollo de un envase activo adicionado
con aceites esenciales de cítricos para el
control de la podredumbre gris en fresa**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

YADIR ALARCÓN GARCÍA

ASESORAS:

DRA. MARÍA ANDREA TREJO MÁRQUEZ

M. EN C. SELENE PASCUAL BUSTAMANTE

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Desarrollo de un envase activo adicionado con aceites esenciales de cítricos para el control de la podredumbre gris en fresa.

Que presenta el pasante: Yadir Alarcón García
Con número de cuenta: 306341289 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de Marzo de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. María Elena Vargas Ugalde	
VOCAL	Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza	
SECRETARIO	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
1er. SUPLENTE	M. en C. María Guadalupe Amaya León	
2do. SUPLENTE	M. en C. Alma Adela Lira Vargas	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

*La presente tesis se realizó con el financiamiento del Proyecto:
Desarrollo tecnológico para el aprovechamiento integral de frutas y
hortalizas (PAP99T 9T201216) de la Dirección General de Asuntos
del Personal Académico de la UNAM.*

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a quienes me dieron la vida, a quienes con amor y cariño me guiaron y apoyaron para poder concluir una etapa más en mi vida.

A mi Mama gracias por ser la mujer más valiente que junto con mi padre nos han enseñado a no rendirnos, gracias por enseñarme a ser responsable, brindarme tu apoyo, dedicación y esfuerzo.

A mi Papa porque eres un hombre con una fortaleza inquebrantable que nos ha enseñado a salir adelante en los momentos más difíciles de la vida, porque nos enseñaste a no rendirnos y valorar lo que se tiene. Gracias papa porque siempre luchaste para darme lo mejor.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por todo el apoyo y confianza que me brindaron para alcanzar mis metas, porque nunca me dejaron solo y estar siempre para mí cuando más los necesite, por eso y más les estaré eternamente agradecido.

A mis hermanos, Mario y Uriel, por todo el apoyo que me han brindado, por animarme en los momentos difíciles, con mucho cariño les dedico esta tesis.

Al amor de mi vida Karen, este trabajo de investigación también te lo dedico a ti, que has sido un apoyo fundamental, gracias por estar ahí cuando más lo he necesitado, por impulsarme a seguir adelante y sobre todo por enseñarme que la vida es más hermosa a tu lado. Te amo princesa.


A mis amigos, Ademir, Hugo y Darky, por todos esos momentos inolvidables que pasamos en la universidad, y sobre todo por su apoyo y consejos que me brindaron.

A mis compañeras de trabajo, Maira, Gaby y Marisol, por su compañerismo y por hacer mis días de trabajo más amenos y divertidos con todas sus ocurrencias.

A la Dra. Andrea Trejo, por darme la oportunidad de tenerla como asesora, por el apoyo brindado y sobre todo por guiarme y compartir sus conocimientos a la largo de todo esta investigación, le agradezco todas las experiencias que me permitió vivir durante el taller.

Selene Pascual, por su apoyo incondicional, por compartir sus conocimientos durante la elaboración y experimentación de este trabajo.

A mis sinodales, por el tiempo que invirtieron en la revisión de esta investigación, por sus observaciones y correcciones pertinentes para la mejora de este trabajo de investigación.



*Gracias a la **Universidad Nacional Autónoma de México** por permitirme ser parte de la máxima casa de estudios, por brindarme los medios necesarios para lograr una de mis metas más importantes de mi vida.*



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN	2
1. INTRODUCCIÓN	5
2. ANTECEDENTES	8
2.1. Generalidades de la fresa.....	8
2.1.1. Morfología.....	8
2.1.2. Composición química	10
2.1.3. Importancia económica.....	11
2.1.4. Variedades cultivadas en México.....	12
2.1.5. Plagas y enfermedades de la fresa.....	15
2.1.6. Podredumbre Gris.....	18
2.1.7. Métodos de control de <i>Botrytis cinerea</i>	20
2.1.8. Métodos de conservación de la fresa	21
2.2. Envasado	23
2.1.5. Envases activos.....	25
2.1.6. Aplicaciones de envases activos.....	27
2.3. Aceites esenciales	29
2.3.1. Aceite esencial de naranja	30
2.3.2. Aceite esencial de limón.....	32
2.3.3. Aceite esencial de toronja	32
2.3.4. Clasificación de los aceites esenciales.....	33
2.3.5. Métodos de obtención de los aceites esenciales.....	34
2.3.6. Toxicidad de los aceites esenciales	36
2.3.7. Mecanismo de acción.....	37
2.3.8. Aplicaciones de los aceites esenciales	38
3. OBJETIVOS	41
3.1. Objetivo general	41
3.2. Objetivos particulares	41



4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
4.1.	Materiales biológicos	45
4.2.	Extracción de los aceites esenciales de naranja, limón y toronja.	45
4.2.1.	Rendimiento volumétrico.....	46
4.3.	Caracterización química y fisicoquímica de los aceites esenciales.	46
4.4.	Evaluación de las propiedades antifúngicas de los aceites esenciales.....	46
4.4.1.	Crecimiento del hongo de <i>Botrytis cinerea</i>	46
4.4.2.	Pruebas <i>in vitro</i> de las propiedades antifúngicas de los aceites esenciales.	47
4.5.	Elaboración de los prototipos de envases activos en forma de barniz y esferas de gel. .	48
4.5.1.	Prototipo en forma de barniz.....	48
4.5.2.	Prototipo en forma de esferas de gel.....	49
4.6.	Pruebas <i>in vitro</i> de los prototipos de envases activos.	49
4.6.1.	Prototipo de envase activo en forma de barniz	49
4.6.2.	Prototipo de envase activo en forma de esferas de gel.....	50
4.7.	Evaluación de los prototipos de envases activos en la inhibición de la enfermedad en fresas.	51
4.7.1.	Tratamiento de la muestra.....	51
4.7.2.	Obtención del inóculo	51
4.7.3.	Inoculación de las fresas	53
4.7.4.	Aplicación de los envases activos y no activos en fresas	53
4.8.	Técnicas analíticas.....	54
4.8.1.	Métodos empleados para la caracterización de los aceites esenciales.....	54
4.8.2.	Parámetros de calidad evaluados en las pruebas <i>in-vivo</i>	57
4.8.3.	Parámetros fisicoquímicos	59
4.8.4.	Parámetros fisiológicos	60
4.8.5.	Atributos sensoriales.....	61
4.8.6.	Análisis estadístico	62
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	64
5.1.	Evaluación del rendimiento en la extracción de aceites esenciales de naranja, limón y toronja por hidrodestilación.	64
5.2.	Análisis fisicoquímico de los aceites esenciales	67
5.2.1.	Color	68



5.2.2.	Densidad relativa.....	70
5.2.3.	Índice de refracción.....	71
5.2.4.	Residuos a la evaporación.....	72
5.3.	Evaluación de las propiedades antifúngicas de los aceites esenciales.....	73
5.3.1.	Pruebas <i>in vitro</i> de capacidad antifúngica en <i>Botrytis cinerea</i>	74
5.3.2.	Pruebas <i>in vitro</i> de las propiedades antifúngica de los prototipos de envases activos.....	86
5.4.	Efectos en los parámetros físicos de las fresas.....	90
5.4.1.	Determinación de color.....	90
5.4.2.	Firmeza.....	96
5.4.3.	Pérdida de peso.....	98
5.4.4.	Índice de decaimiento.....	100
5.5.	Parámetros fisicoquímicos.....	102
5.5.1.	<i>pH</i>	102
5.5.2.	Acidez titulable.....	105
5.5.3.	Sólidos solubles.....	107
5.6.	Efecto de los parámetros fisiológicos.....	109
5.6.1.	Respiración.....	109
5.7.	Evaluación sensorial.....	110
6.	CONCLUSIONES.....	115
7.	REFERENCIAS.....	117



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Morfología de la fresa.....	9
Tabla 2. Composición química de la fresa.....	10
Tabla 3. Variedades de la fresa.....	13
Tabla 4. Plagas de la fresa.....	15
Tabla 5. Enfermedades de la fresa.....	17
Tabla 6. Métodos de Conservación de la fresa.....	22
Tabla 7. Métodos de extracción aceites esenciales.....	35
Tabla 8. Aplicaciones de los aceites esenciales.....	39
Tabla 9. Índice de decaimiento.....	58
Tabla 10. Parámetros sensoriales de la fresa.....	61
Tabla 11. Rendimientos de los aceites esenciales.....	65
Tabla 12. Parámetros cromáticos L*a*b* en aceite esencial de limón y naranja.....	69
Tabla 13. Densidad del aceite esencial de naranja y limón.....	70
Tabla 14. Índice de refracción del aceite esencial de limón y naranja.....	71
Tabla 15. Residuos a la evaporación del aceite esencial de naranja y limón.....	72
Tabla 16. Seguimiento fotografico de la inhibicion de crecimiento del hongo <i>Botrytis cinerea</i> por la actividad del aceite esencial de naranja a concentraciones de 9000, 1000 y 11000 ppm.	83
Tabla 17. Seguimiento fotografico de la inhibicion de crecimiento del hongo <i>Botrytis cinerea</i> por la actividad del aceite esencial de limón a concentraciones de 9000, 1000 y 11000 ppm. 84	
Tabla 18. Seguimiento fotografico de la inhibicion de crecimiento del hongo <i>Botrytis cinerea</i> por la actividad de la mezcla del aceite esencial de naranja y limon (50-50%) a concentraciones de 9000, 10000 y 11000 ppm.	85
Tabla 19. Seguimiento fotográfico de la inhibición del crecimiento del hongo <i>Botrytis cinerea</i> por la actividad de los prototipos de envases activos adicionados con aceite esencial de limón a 11000 ppm.	89
Tabla 20. Seguimiento fotográfico de las fresas almacenadas en un envase activo adicionado con aceite esencial de limón a 11000 ppm para el parámetro de índice de decaimiento.	102



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de producción anual de fresa 2015 en diferentes Estados de la República Mexicana.....	12
Figura 2. Hongo <i>Botrytis cinerea</i>	18
Figura 3. Fruto de fresa infectado por el hongo <i>B. cinerea</i>	20
Figura 4. Partes de la naranja.	31
Figura 5. Compuestos bioactivos del aceite esencial de naranja.	31
Figura 6. Estructura química de Limoneno.	32
Figura 7. Material biológico para la experimentación.	45
Figura 8. Hidrodestilación de aceites esenciales	46
Figura 9. Siembra de un cultivo nuevo de <i>Botrytis cinerea</i>	47
Figura 10. (A) Vaciado de agar PDA-Natural. (B) Explante de <i>Botrytis cinerea</i> . (C) Prueba in vitro de los aceites esenciales.....	48
Figura 11. Elaboración del barniz.	49
Figura 12. (A) Formación de esferas de gel en una solución de calcio. (B) Esferas de gel	49
Figura 13. Prueba <i>in vitro</i> con el prototipo de envase activo en forma de barniz.....	50
Figura 14. Prueba <i>in vitro</i> con el prototipo de envase activo en forma de esferas de gel.....	51
Figura 15. Desinfección de las fresas.	51
Figura 16. Preparación del inóculo.	52
Figura 17. Cámara de NeuBauer para el conteo de esporas.....	52
Figura 18. Diagrama de aplicación de los envases activos en fresas frescas.....	53
Figura 19. Espectrofotómetro Minolta CM-600d.....	55
Figura 20. Picnómetro.....	55
Figura 21. Refractómetro.....	56
Figura 22. Residuos de aceites esenciales	56
Figura 23. Penetrómetro digital.....	57
Figura 24. Balanza semianalítica.....	58
Figura 25. Potenciómetro digital.....	59
Figura 26. Titulación de una muestra de fresa.....	59
Figura 27. Analizador de gases.....	60
Figura 28. Porcentaje de inhibición de los aceites esenciales de (a) naranja, (b) limón y (c) la mezcla aceite esencial de limón y naranja (50-50%) en pruebas <i>in vitro</i> a tres distintas concentraciones (9000, 10000 y 11000 ppm).	74
Figura 29. Porcentaje de inhibición de los prototipos de envases activos adicionados con aceite esencial de limón a una concentración de 11000 ppm.....	86
Figura 30. Cambios en la luminosidad de las fresas durante el almacenamiento en refrigeración. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular.....	91
Figura 31. Cambios en el croma de las fresas durante el almacenamiento en refrigeración. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular.....	92



Figura 32. Cambios en el tono de las fresas durante el almacenamiento en refrigeración. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular.....	95
Figura 33. Firmeza de las fresas durante el almacenamiento en envases activos. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular.....	96
Figura 34. Pérdida de peso de las fresas durante el almacenamiento en envases activos. . Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular.....	99
Figura 35. Índice de decaimiento de las fresas durante el almacenamiento en envases activos. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular.....	100
Figura 36. Cambios de pH de las fresas durante el almacenamiento en envases activos. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular.....	103
Figura 37. Cambios en la acidez titulable de las fresas durante el almacenamiento en envases activos. . Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular.....	105
Figura 38. Sólidos solubles de las fresas durante el almacenamiento en envases activos. . Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular.....	108
Figura 39. Respiración de fresas durante el almacenamiento en envases activos. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular.....	110
Figura 40. Perfiles sensoriales de las fresas durante el almacenamiento en envases activos (Día 0). Donde (C) fresas control.....	111
Figura 41. Perfiles sensoriales de las fresas durante el almacenamiento en envases activos (Día 8). Donde (C) fresas control, (F-EA) fresas con envase activo sin inocular.....	112



RESUMEN



RESUMEN

La fresa es un fruto que se consume a nivel mundial en un gran número de productos, debido a su sabor, aroma y propiedades nutrimentales; sin embargo es muy perecedera debido a enfermedades durante su vida en postcosecha. Por lo que el objetivo de este trabajo fue desarrollar un envase activo adicionado con aceites esenciales de cítricos (naranja, limón y toronja) para controlar el hongo *Botrytis cinerea* en la fresa y alargar su vida útil.

Se emplearon fresas de la variedad Camarosa, así como cáscaras de cítricos (naranja, limón y toronja) para la obtención de aceites esenciales por hidrodestilación. Previamente las cáscaras frescas se limpiaron de materiales extraños y se molieron dejando un tiempo de extracción de 210 minutos con una relación de 300g cáscara en un litro de agua. Se evaluaron los parámetros físicos (densidad, residuos a la evaporación, índice de refracción, color y sólidos solubles) de los aceites esenciales para determinar sus especificaciones técnicas.

Para establecer el efecto antifúngico de los aceites esenciales de naranja, limón y la mezcla de estos (50-50%) se realizaron pruebas *in vitro* empleando tres concentraciones (9000, 10000 y 11000 ppm) seleccionando el aceite que tuvo mayor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea*. Posteriormente se desarrollaron dos prototipos de envases conteniendo el aceite esencial de cítricos como principio activo; uno en forma de barniz y otro en esferas de gel donde se evaluó el efecto antifúngico de los prototipos de los envases activos. Una vez establecida la concentración con mayor poder inhibitorio de aceite esencial de limón y el prototipo de envase activo se realizaron pruebas *in vivo* en fresas almacenadas en el prototipo de envases activo para determinar el efecto en los parámetros de calidad (acidez, color, firmeza, índice de decaimiento, pH, pérdida de peso, sólidos solubles), fisiológicas (respiración), así como las características sensoriales de la fresa.

El mejor rendimiento en la extracción del aceite esencial se obtuvo con el remojo de la cáscara de naranja en un tiempo de 3.5 horas. La concentración de aceite que tuvo mayor efecto inhibitorio fue la de 11000ppm con un 24.28% al décimo día de incubación del hongo. En la evaluación antifúngica de los prototipos de envases



activos, se eligió el prototipo en forma de esferas ya que presentó el mayor efecto inhibitorio (98.2%) al décimo día de incubación.

En las pruebas *in vivo*, el efecto sobre las fresas sin inocular en el envase activo presentaron menor índice de decaimiento y presentaron menor incidencia de la enfermedad. Se concluye que los envases activos desarrollados en esta investigación fueron una buena alternativa para el control de la podredumbre gris y la conservación de la fresa.



INTRODUCCIÓN



1. INTRODUCCIÓN

La fresa es un fruto que se consume a nivel mundial tanto en fresco como procesado en un gran número de productos, debido a su sabor y aroma, y sus propiedades nutrimentales como su contenido de vitamina A y C y de compuestos antioxidantes (Álvarez, 2012).

La fresa pertenece a la familia de las Rosáceas y al género *Fragaria*. La familia Rosáceas incluye más de 2 mil especies de plantas herbáceas, arbustos y árboles distribuidos por las regiones templadas de todo el mundo (SAGARPA-SIAP, 2014). Aunque son varios los estados productores de México, solamente tres tienen producción significativa: Michoacán es el primer estado y participa con 64.57% de la superficie sembrada, cosechada y producción del país, Baja California es el segundo estado productor del país, participando con el 21.04% en la superficie sembrada, Guanajuato es el tercer estado productor del país, participando con el 8.13% en producción (SAGARPA-SIAP, 2017).

La fresa tiene una vida de anaquel muy corta. Su epidermis turgente y su elevada tasa de respiración la hacen susceptible a daños mecánicos y la invasión de algunos microorganismos patógenos. Estos factores contribuyen a pérdidas potenciales en postcosecha, aunque el fruto de fresa no es climatérico (no continua con el proceso de maduración después de cosechado) (Fraire *et al.*, 2003). Sin embargo las pérdidas postcosecha se deben principalmente a la podredumbre gris causada por la infección de *Botrytis cinerea* generando daños en la fresa tales como: pérdida de firmeza, color y sabor que conducen a una disminución en la vida útil (Pérez y Ramos, 2006).

El control de enfermedades fungosas en postcosecha, no solo se basa en el uso de bajas temperaturas, una atmósfera adecuada durante el almacenamiento y una buena planeación de técnicas y métodos de las cadena postcosecha, sino que se complementa con prácticas realizadas en el campo (Pérez, 2013). Para preservar la calidad de la fresa y extender su vida útil pueden utilizarse diversos métodos de conservación como la aplicación de atmósferas controladas, refrigeración, recubrimientos a base de proteínas, polisacáridos y lípidos, así como el envasado activo, cuyo término hace



referencia a la incorporación de ciertos aditivos al material de envase o en el envase, como son los aceites esenciales que son compuestos aromáticos producidos por varios géneros de plantas que poseen actividad biológica y/o extractos de vegetales con actividad antifúngica contienen compuestos que son sintetizados por las plantas como mecanismo de defensa contra algunos microorganismos (Contreras y Olivares, 2014).

Los aceites esenciales son aditivos naturales que más interés han generado en los últimos años en la industria de alimentos ya que han demostrado poseer propiedades antimicrobianas que no solo se limitan al efecto antibacterial sino que incluyen características antivirales, antimicóticos, antioxidantes, antitoxigenicas, antiparasitarias, insecticidas (Valdés, 2014) así como actividades fungicidas, incluyendo actividad frente a hongos patógenos en postcosecha comunes de la fruta. Hoy en día los aceites esenciales (AE) se aplican cada vez más en la conservación de alimentos, debido al interés de los consumidores en los aditivos alimentarios naturales (Perdones *et al.*, 2016). Es por esto que el objetivo de este trabajo es desarrollar un envase activo adicionado con aceites esenciales de cítricos (naranja, limón y toronja) para controlar el hongo *Botrytis cinerea* en la fresa y alargar su vida útil.



ANTECEDENTES



2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades de la fresa

La fresa pertenece a la familia de las Rosáceas y al género *Fragaria*. La familia Rosáceas incluye más de 2 mil especies de plantas herbáceas, arbustos y árboles distribuidos por las regiones templadas de todo el mundo. Se tienen documentadas más de mil variedades de fresa (Santoyo y Martínez, 2009).

La fresa es una planta de tallos rastreros, nudosos y con estolones; hojas grandes, trifoliadas, pecioladas y blancas por el envés. El fruto es de forma cónica a casi redonda, de color rojo brillante o rojo anaranjado; presenta una carne perfumada, jugosa y mantecosa que se deshace en la boca a la mínima presión, con un sabor que varía: de ácido a muy dulce. Lo que más caracteriza a esta fruta es su intenso aroma (Santoyo y Martínez, 2009).

La fresa es un fruto que se consume a nivel mundial tanto en fresco como procesado en un gran número de productos, debido a su sabor y aroma, y sus propiedades nutricionales como su contenido de vitamina A y C, y de compuestos antioxidantes (Álvarez, 2012).

2.1.1. Morfología

La fresa tiene una marcada estacionalidad, periodos específicos de plantación, producción de estolones, flor y fruto y cosecha. La planta de fresa es pequeña. De unos 25-30 cm por arriba del suelo, y la raíz profundiza a unos 40 cm es perenne y de consistencia herbácea. Como una roseta de hojas verdes y florales blancas (Pimentel y Velázquez, 2010). La planta de la fresa está formada por raíces, tallos y corona; hojas, estolón, flores y frutos (ver Tabla 1) (Pérez y Ramos, 2006).



Tabla 1. Morfología de la fresa.

Parte de la Planta	Características
<p>Raíces</p> 	<p>Las raíces son bastante superficiales, sin embargo varían según el tipo de suelo. De esta forma, en terrenos arenosos, suelen ser numerosísimas y muy finas, de color casi blanco, mientras que en suelos fuertes son escasas, más gruesas y también lógicamente más profundas.</p>
<p>Tallos y corona</p> 	<p>El tallo es muy corto, en muchos casos casi reducido a un disco. El tallo que sobresale del terreno se llama normalmente corona, no es otra cosa que un tallo acortado que contiene los tejidos vasculares y por encima de él se forman otras coronas secundarias o brotes. Del tallo salen largos peciolos que llevan las hojas.</p>
<p>Estolón</p> 	<p>De las axilas de las hojas salen unos filamentos que poseen unos nudos; estos nudos son los que dan lugar a los estolones. El estolón es un brote largo, delgado, rastrero sobre el terreno, en el extremo del estolón se forma una roseta de hojas que en contacto con el suelo emite raíces que forman una nueva planta.</p>
<p>Hojas</p> 	<p>Son pinnadas o palmadas, subdivididas en tres folíolos. Tienen muchas escamas en la axila de las hojas se forman yemas, que en función del número de horas de luz y de la temperatura serán fructíferas o vegetativas y darán origen a coronas secundarias, estolones o inflorescencias</p>
<p>Inflorescencias</p> 	<p>Las inflorescencias se encuentran formadas con una flor al extremo de cada eje. Las inflorescencias pueden ser de forma basal o distal y el fruto es comestible denominado botánicamente "eterio" un fruto falso formado por engrosamiento del receptáculo floral, siendo los aquenios (semillas) sobre el receptáculo, el verdadero fruto.</p>
<p>Flores</p> 	<p>Las flores pueden ser hermafroditas o unisexuales con solo órganos femeninos o masculinos. En el extremo del receptáculo, se encuentran los órganos femeninos o pistilos dispuestos en un espiral y un número muy variable, formados cada uno por un ovario, estilo y estigma que contienen un óvulo, el cual una vez fecundado dará origen a un aquenio.</p>
<p>Fruto</p> 	<p>El fruto del fresa es un eterio (término utilizado en bioquímica para describir un receptáculo floral engrosado y convertido en fruto) donde el tálamo se desarrolla extraordinariamente durante la maduración y constituye un cuerpo carnoso comestible, de forma cónica, color rojo y sobre el cual se disponen los verdaderos frutos de la planta, pequeños aquenios de color oscuro que en número de entre 150 y 200 se alojan en cada eterio.</p>

Fuente: Álvarez (2012), Tenorio (2010), Robertson (1994).



2.1.2. Composición química

La fresa contiene una cantidad moderada de hidratos de carbono (fructosa, glucosa y xilitol) y un valor calórico bajo, destaca su aporte de vitamina C, sustancia de acción antioxidante (Almenar, 2005) y en menor proporción su contenido de vitamina E, B6 y los flavonoides, pigmentos vegetales que le confieren a la fresa su color característico (Pérez y Ramos, 2006).

Los principales ácidos orgánicos en orden de importancia contenidos en la fresa son el cítrico, málico, salicílico, y pectico igualmente la mayor parte de azúcares es la levulosa con pequeñas cantidades de glucosa y sacarosa (Pérez y Ramos, 2006). Otro constituyente importante es el ácido fólico, ya que 200g de fresa cubren la sexta parte de las necesidades de este ácido. Dada su riqueza en antioxidantes, ácido fólico, potasio y salicilatos es especialmente recomendada en dietas de prevención de riesgo cardiovascular y de enfermedades degenerativas y cáncer (Tenorio, 2010). En la Tabla 2 se presenta la composición básica de la fresa por cada 100 g de fruta

Tabla 2. Composición química de la fresa.

Propiedad	Valor	Propiedad	Valor
Agua	80-90%	Tiamina	0.03 mg
Hidratos de carbono	5-10%	Riboflavina	0.03 mg
Proteínas	0.5-0.9%	Niacina	0.6 mg
Lípidos	0.1-0.4%	Hierro	1 mg
Cenizas	1-3%	Sodio	1 mg
Valor Energético	37 Calorías	Potasio	164 mg
Vitamina C	50-90 mg	Calcio	21 mg
Vitamina E	0.20 mg	Fósforo	21 mg
Vitamina B6	0.06 mg		

Fuente: Tenorio (2010).



2.1.3. Importancia económica

El sector agropecuario ha jugado un papel importante en la trayectoria de la economía mexicana a lo largo de su historia. A través de los años el sector ha generado un fuerte dinamismo en las exportaciones agrícolas y una ampliación de su mercado tanto interno como externo (Ávila y Gonzáles, 2012).

El cultivo de la fresa en México se inició a mediados del siglo pasado en el estado de Guanajuato. Sin embargo, no fue hasta 1950 que cobró mayor importancia por la creciente demanda de los EE. UU. Originando que el cultivo de esta fruta se extendiera a Michoacán, pasando a ser el de mayor productor de fresa a nivel nacional (Jiménez, 2008).

Aunque en México la fresa ocupa solamente el 1% de la superficie dedicada a la agricultura, es muy importante debido a que genera divisas por ser un producto de exportación (Santoyo y Martínez, 2009).

2.1.3.1. Mercado Nacional

Aunque son varios los estados productores de México, solamente tres tienen producción significativa (Figura 1): Michoacán, Baja California y Guanajuato, los cuales tienen una participación del 93.92% de la producción nacional (SAGARPA-SIAP, 2017).

Michoacán es el primer estado productor de país y participa con 64.57% de la superficie sembrada y cosechada, dentro de la entidad destacan 3 zonas de producción, valle de Zamora, la región de Panindicuario y el valle de Maravatio. Baja California es el segundo estado productor del país, participando con el 21.04% de la superficie sembrada. Guanajuato es el tercer estado, participando con el 18.31% en producción (SAGARPA-SIAP, 2012).

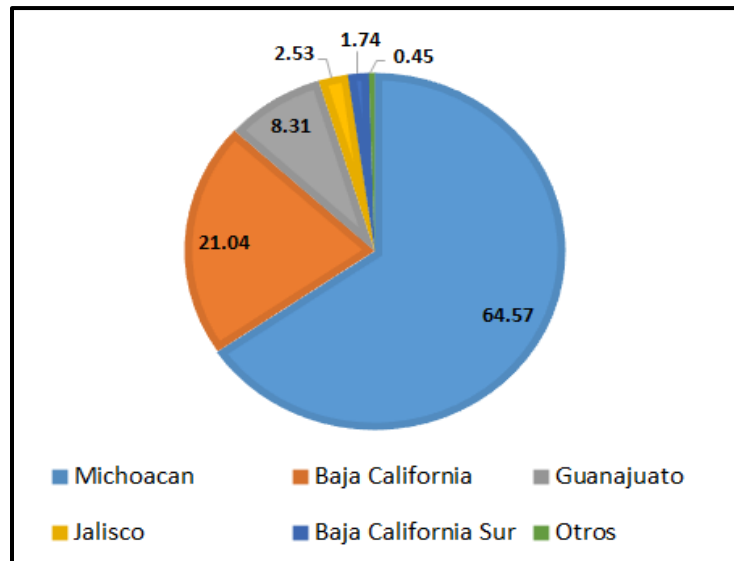


Figura 1. Porcentaje de producción anual de fresa 2015 en diferentes Estados de la República Mexicana.

Fuente: SIAP-SAGARPA (2017).

La fresa en México es un cultivo que relativamente va en aumento, no solo en cuanto a la producción, si no en términos de la aplicación de la tecnología también. Cada vez es mayor el número de hectáreas cultivadas en las modalidades de Semitecnificado (en las cuales se utilizan los acolchados al surco y el riego por goteo) o tecnificada (en la cual además del acolchado y el riego por goteo, se emplea el macrotunel), mediante estas tecnologías se obtienen fresas de calidad, sanidad e inocuidad que los mercados nacional e internacional demandan (Guzmán, 2012).

En el cultivo de fresa, la selección de las variedades apropiadas es muy importante, pues además de que determinan el rendimiento y calidad, éstas también delimitan las temporadas de producción y las prácticas de control de plagas (Santoyo y Martínez, 2009).

2.1.4. Variedades cultivadas en México

En México se cultivan diferentes variedades, cada una con características específicas; como son los rendimientos, épocas de producción, resistencia a plagas y enfermedades, sabor, tamaño, por mencionar algunas. Las variedades se pueden expresar de manera diferente dependiendo de la región donde éstas se establezcan (Guzmán, 2012).



Las variedades de fresa se clasifican en variedades de día corto y neutral. Las primeras forman sus brotes en invierno, cuando los días se hacen cortos y las temperaturas bajan. Las variedades de día corto florecen en primavera y empiezan a producir fruta en esta época. Por su parte, las variedades neutrales son insensibles a la longitud del día y producen fruta en la temporada en que las temperaturas bajan de noche a 15.5 °C.

La mayoría de las variedades de fresa que se cultivan en México y en muchas regiones del mundo provienen de Estados Unidos. En México se cultivan variedades como (ver Tabla 3): Carisma, Camino Real, Albión, Diamante, Aromas, Oso Grande y Camarosa (Santoyo y Martínez, 2009).

Tabla 3. Variedades de la fresa.





Variedad	Descripción
<p>Camarosa</p> 	<p>Es una variedad de día corto que presenta un fruto grande, muy precoz, de color rojo brillante externamente, interior muy coloreado y de buen sabor y firmeza. Está adaptada a las condiciones agroclimáticas de la mayoría de las zonas frutícolas del mundo. Esta variedad es originada en la Universidad de California. Su densidad es de 5 plantas por metro.</p>
<p>Tudla</p> 	<p>Esta variedad se caracteriza por su buena aptitud para el transporte, así como su resistencia a la clorosis férrica, por lo que resulta útil en zonas que presentan problemas de aguas salinas. La planta es vigorosa de follaje erecto, producción precoz, frutos grandes, aromáticos, alargados, de color rojo intenso, tanto externa como internamente. Su productividad es elevada y se adapta bien tanto a la plantación con planta fresca en zonas cálidas, como a la plantación con planta frigo-conservada en zonas de invierno frío.</p>
<p>Oso Grande</p> 	<p>De color rojo anaranjado, forma de cuña achatada, y tendencia a parecer bilobulado de calibre grueso y buen sabor. La planta es vigorosa y de follaje oscuro. Presenta una tendencia al rajado del fruto, lo que supone un inconveniente. En zonas cálidas bajo protección de plástico, se trasplanta con plantas producidas en viveros de altitud durante octubre para producción a finales de invierno.</p>



Tabla 3. Variedades de la fresa (continuación)

Variedad	Descripción
<p>Cartuno</p> 	<p>Fruto de forma cónica perfecta, con calibre uniforme, color rojo brillante de sabor azucarado, ligeramente más precoz que Oso Grande, con curva de producción homogénea durante toda la campaña. Es bien adaptada a plantaciones de otoño y de verano. Resistente a la clorosis férrica. Planta vigorosa, de follaje importante, con flores destacadas del mismo.</p>
<p>Carisma</p> 	<p>Variedad muy vigorosa y rústica, capaz de adaptarse a todo tipo de suelos y climas, precoz y muy productiva. El fruto es de forma cónica, a veces acostillada, de gran tamaño y color rojo suave. Se recomienda para plantación en otoño como planta fresca y en verano como planta frigo-conservada.</p>
<p>Albion</p> 	<p>Su principal característica es su excepcional calidad de fruta, tanto por tamaño como por sabor y firmeza. Esta variedad posee alta resistencia a condiciones meteorológicas adversas y a enfermedades, como antracnosis, <i>Vercillium</i> y <i>Phytophthora</i>, y a la plaga araña roja.</p>
<p>Camino Real</p> 	<p>Es una variedad de día corto. Produce fruta de primera calidad: su fruto es grande, firme y de color oscuro. La planta camino real produce fruta muy resistente a daños por lluvia, resiste enfermedades importantes del suelo como <i>Phytophthora</i>, <i>Verticillium</i> y antracnosis; también es resistente a araña roja, <i>Xanthomonas</i> y a manchas comunes de la hoja.</p>

Fuente: Almenar (2005), Santoyo y Martínez (2009).

Otras variedades de la fresa son: la Tioga, Fresno, Talismán, Chandler y Douglas.

Sin embargo, el fruto de fresa presenta pérdidas importantes al enfrentarse a diversos problemas tecnológicos y biológicos, ya que el fruto es muy susceptible a plaga y enfermedades después de la cosecha, además de su vida corta de anaquel (Álvarez, 2012).



2.1.5. Plagas y enfermedades de la fresa

Las plagas de la fresa lo conforman un grupo de diversos principalmente de insectos y ácaros que reducen los rendimientos y la calidad de los frutos, si estos no son controlados eficaz y oportunamente (Vázquez y López, 2008).

Por otro lado las enfermedades son la principal causa de pérdidas postcosecha en la fresa. No se aplican a la fruta fungicidas en postcosecha, lo que aumenta las pérdidas en grandes volúmenes de producción. La principal causa de pérdidas postcosecha en fresa se debe a la presencia del hongo *Botrytis cinerea* que genera daños en el color, textura y firmeza del fruto. Los daños mecánicos y las malas condiciones de humedad y temperatura en el transporte aumentan de forma significativamente dichas pérdidas. En algunos casos esta enfermedad es capaz de atacar hasta 95% de los frutos después de 48 horas de cosechados (Sudziki, 1997).

2.1.5.1. Plagas

Entre las plagas más comunes que afectan las fresas se encuentran las mencionadas en la Tabla 4:

Tabla 4. Plagas de la fresa.






Plaga	Características
<p>Gusano cogollero (<i>Spodoptera spp.</i>)</p> 	<p>Esta plaga se presenta en el cultivo de la fresa, durante el mes de octubre y los meses calurosos, dañando el cogollo de la planta, debilitándola y disminuyendo gradualmente su desarrollo normal.</p>
<p>Chinche Lygus (<i>Lygus huesperus</i> y <i>Lygus lineolaris</i>)</p> 	<p>Esta plaga causa daños directos al fruto de la fresa. Se alimenta al perforar cada una de las semillas, detiene el desarrollo del fruto y termina desfigurándolos. Invernan en las hierbas que crecen a la orilla de los caminos y de los canales de riego, en campos con elevada infestación de maleza.</p>



Tabla 4. Plagas de la fresa (continuación)

Plaga	Características
<p>Trips occidental de las flores (<i>Frankliniella occidentalis</i>)</p> 	<p>El trips es un insecto común en los plantíos de fresa que se alimenta de las flores, los estigmas y los estambres, que se tornan de un color café cobrizo y se secan prematuramente.</p>
<p>Araña de dos puntos (<i>Tetranychus urticae</i> Koch)</p> 	<p>La araña de dos puntos o manchas, es la plaga más común y grave de la fresa. Inverna en las plantas espontáneas o en las hojas viejas de la fresa para atacar a las jóvenes con la llegada del calor. Los primeros daños de esta plaga son pequeñas picaduras en el envés de la hoja, que al incrementarse cambian su apariencia al perder el brillo natural de la superficie y causa daño en el tamaño, la cantidad y la apariencia de la fruta.</p>
<p>Gusano del fruto (<i>Helicoverpa zea</i>)</p> 	<p>Esta plaga ha cobrado una mayor importancia en los últimos años, debido a que la regulación de inocuidad, establece una nula tolerancia a la contaminación que producen las larvas a los frutos que son objeto de exportación. El daño es causado al cultivo por las orugas al alimentarse y contaminar los frutos de fresa, llegando a perforarlos e introducirse en ellos.</p>

Fuente: Pérez y Ramos (2006); Vázquez y López (2008).






2.1.5.2. Enfermedades

La mayoría de las enfermedades del fruto, son causadas por patógenos que sobreviven en el suelo y son dispersados por el viento y la salpicadura del agua. Los patógenos foliares comienzan causando síntomas en las hojas y pecíolos, pero también pueden afectar a los frutos y se dispersan por el viento, agua y algunas veces por la infección de la plántula desde los viveros (Vázquez y López, 2008).

El cultivo de la fresa como cualquier otro cultivo agrícola, es susceptible al ataque de patógenos. Las infecciones fúngicas son las principales enfermedades que afectan al cultivo de fresa tanto en el campo como en postcosecha. Algunas se describen a continuación en la Tabla 5 (Álvarez, 2012):



Tabla 5. Enfermedades de la fresa.

Enfermedad	Característica
<p>Antracnosis (<i>Colletotrichum spp</i>)</p> 	<p>Es una enfermedad que causa múltiples problemas en los cultivos de fresa empezando por que el inóculo original puede estar presente en la planta madre. Cuando la enfermedad es agresiva puede infectar la corona, se presenta como un repentino marchitamiento y cuando la infección es avanzada, aparece una coloración café canela en el centro de la corona. También presenta muerte progresiva en ramas y tallos, pequeñas manchas de color negro en los tallos.</p>
<p>Pudrición de la corona (<i>Phytophthora cactorum</i>)</p> 	<p>El síntoma de pudrición de corona y raíz por <i>Phytophthora cactorum</i>, puede ser distinguido de otras pudriciones por la apariencia del tejido decolorado en la corona acompañado de pequeños puntos rojizos. La pudrición inicia en un punto de la corona y se dispersa alrededor de la misma hasta que la planta es totalmente estrangulada.</p>
<p>Cenicilla polvorienta (<i>Sphaeroteca macularis</i>).</p> 	<p>La cenicilla afecta hojas, flores y frutos, reduciendo el rendimiento y la calidad. El hongo debe ser controlado con fungicidas cuando aparecen los primeros síntomas, ya que si se deja avanzar la infección, la situación se puede complicar, dado que los fungicidas con que se cuenta para su control son escasos.</p>
<p>Pudrición de la piel (<i>Phytophthora cactorum</i>)</p> 	<p>Los frutos pueden verse afectados en cualquier estado de desarrollo. En los frutos verdes, las áreas afectadas adquieren una coloración marrón o marrón oscuro. En los frutos maduros aparecen descoloridas y con tonalidades que van desde color crema rosado y al final un rojizo. Una característica para diferenciar la enfermedad, es cuando estos frutos los abrimos y tienen un olor característico a vinagre, que la diferencia de otras enfermedades.</p>
<p>Moho Gris (<i>Botrytis cinerea</i>)</p> 	<p>Es la enfermedad más importante que daña al fruto, pero también perjudica a las hojas y peciolo, yemas, pétalos y pedículos florales. El daño suele ser a los frutos, tanto verdes como maduros e incluso una vez cosechadas. La infección suele tomarse muy agresiva por su viabilidad dentro de un intervalo amplio de temperaturas, aunque el óptimo se encuentra entre los 15 y 20°C y ser la humedad el factor desencadenante. El hongo produce un moho de coloración grisáceo sobre los tejidos afectados y con frecuencia su patogenicidad va seguida de un cambio hacia una invasión agresiva del fruto recolectado.</p>

Fuente: Pérez (2013), Pérez y Ramos (2006), Vázquez y López (2008).



2.1.6. Podredumbre Gris

Generalmente llamado “Moho gris” o pudrición de fruto, es el más común y seria enfermedad en el mundo en plantas del genero *Rubus spp.* (Alencastro, 2011).

El nombre *Botrytis cinerea* aparece por primera vez mencionado por Von Haller en 1771, en su “sinopsis *Methodica Fungorum*”: En 1886, de Bary descubre la conexión genérica entre esta patógeno y *Botryotinia fuckeliana* (Chávez, 2011).

Botrytis cinerea es un hongo fitopatógeno (Figura 2) que causa importantes pérdidas económicas en un amplio rango de cultivos de importancia agrícola, constituyendo actualmente en Ecuador, México, Chile, Bolivia y otros países uno de los principales problemas fitosanitarios.

Este patógeno infecta cualquier parte de la planta, colonizando tallos, hojas, flores y frutos, por lo que las infecciones por este hongo afectan no solo el rendimiento; sino además la calidad de los cultivos, provocando deterioros de gran magnitud incluso durante las etapas de transporte y almacenamiento de los productos (Alencastro, 2011).

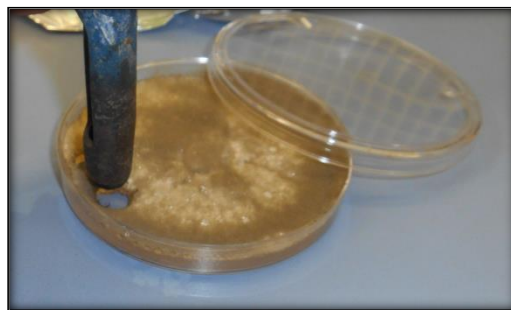


Figura 2. Hongo *Botrytis cinerea*.

El patógeno *Botrytis sp.* produce gran cantidad de micelio gris y varios conidióforos largos y ramificados, cuyas células apicales redondeadas producen racimos de conidios ovoides, unicelulares, incoloros o de color gris (INFOAGRO, 2014) por un conjunto de hifas o filamentos tabicados y cilíndricos, los cuales se multiplican de forma vegetativa mediante división citoplasmática (Álvarez, 2012). Los conidióforos y



los racimos de conidios se asemejan a un racimo de uvas. El hongo libera fácilmente sus conidios cuando el clima es húmedo y luego éstos son diseminados por el viento. El hongo a menudo produce esclerocios irregulares, planos, duros y de color negro (INFOAGRO, 2014).

Botrytis inverna en el suelo en forma de esclerocios o de micelio, el cual se desarrolla sobre restos de plantas en proceso de descomposición. Los esclerositos germinan y forman micelio en una amplia gama de temperaturas formando conidios, y en óptimas condiciones (15-18°C, HR) Los conidios pueden ser transportados largas distancias por las corrientes de aire y en gotas de agua (Molina *et al.*, 2004).

El patógeno muestra actividad a bajas temperaturas y produce pérdidas considerables en cosechas que se han mantenido almacenadas durante largos periodos, aun cuando las temperaturas estén entre 0 y 10^o C. Las esporas que han germinado rara vez penetran directamente en los tejidos que muestran un crecimiento activo, pero lo hacen en tejidos de la planta a través de heridas o después de que se han desarrollado durante un cierto tiempo y han formado micelio sobre los pétalos de flores senescentes, follaje moribundo de las plantas, escamas de bulbos muertos, etc. (INFOAGRO, 2014).

El hongo *Botrytis cinerea* es el más severo de los ataques que presentan las fresas (Ceponis *et al.*, 1997). La mayoría de los frutos recién recolectados son resistentes a contaminaciones fúngicas, pero durante su maduración y senescencia se vuelven más susceptibles a infecciones (Almenar, 2005). Esto es debido a que *Botrytis* es capaz de mantenerse quiescente en la base del receptáculo (Figura 3), manifestándose en forma de podredumbre cuando el fruto alcanza su madurez (Powelson, 1960).



Figura 3. Fruto de fresa infectado por el hongo *B. cinerea*.

2.1.7. Métodos de control de *Botrytis cinerea*

El enfoque agrícola convencional ha tratado de controlar la podredumbre mediante la aplicación de fungicidas químicos, que han derivado de la aparición de resistencia del patógeno a los químicos con múltiples casos bien documentados.

Además, debido a que se han tomado conciencia acerca de los efectos adversos de los pesticidas sintéticos sobre el medio ambiente y la salud humana, el uso de fungicidas está cada vez más limitado y en algunos casos prohibido en agricultura convencional (Pérez, 2013).

El método preventivo es uno de los aspectos más importantes para el control de esta enfermedad y debería de condicionar el dimensionamiento y tipo de invernadero para las comarcas donde *Botrytis cinerea* es un problema grave. Los procedimientos de control de *Botrytis* son complejos e inciertos en sus resultados, al menos en condiciones muy favorables para el parásito, pero se pueden resumir en (INFOAGRO, 2014):

- Es importante evitar las siembras demasiado densas en condiciones de baja luminosidad.
- Desinfección de semillas.
- La solarización es efectiva para el control de esclerocios.



- Manejar la aireación, calefacción y el riego en invernadero con el fin de reducir la duración de los periodos diarios que combinan humedad a saturación y condensaciones y temperaturas de 15-17° C.
- Hacer podas y deshojados a ras del tallo para no dejar tocones que sirvan al desarrollo del parásito. Aplicación de una pasta fúngica en las heridas.
- Controlar los niveles de nitrógeno en el suelo, ya que niveles elevados favorecen el desarrollo de la enfermedad.
- Es fundamental la retirada de restos de cultivo y plantas afectadas por la enfermedad tanto del exterior del invernadero como alrededores.
- Aplicación de cubiertas plásticas de invernadero con absorción de luz ultravioleta ya que reducen la esporulación y la tasa de colonización epidermal.

2.1.8. Métodos de conservación de la fresa

Las tecnologías postcosecha son métodos que se pueden aplicar al fruto o vegetal después de cosecharlo. El fin último de la tecnología postcosecha es el desarrollo de métodos que disminuyan en cuanto sea posible, el deterioro de los productos durante la recolección y su consumo (Wills *et al.*, 1999).

Se requiere almacenar los productos frescos para incrementar su vida útil, asegurar la oferta constante en el producto y mantener la estabilidad de los precios. Las bodegas refrigeradas son de uso común para el almacenamiento de las frutas.

La fresa tiene una vida de anaquel muy corta que se debe a su elevada velocidad de respiración y su susceptibilidad al daño por hongo (Pérez, 2013).

En la Tabla 6 se muestran los principales tratamientos postcosecha aplicados en fresa para preservar la calidad.



Tabla 6. Métodos de Conservación de la fresa.







Método de conservación	Características
<p data-bbox="331 289 500 321">Refrigeración</p> 	<p data-bbox="634 289 1386 415">La reducción de temperatura tiene un efecto sobre los procesos fisiológicos de los frutos. Se recomienda para la fresa una temperatura de 0°C y una humedad relativa de 85%.</p>
<p data-bbox="266 573 565 604">Atmósferas modificadas</p> 	<p data-bbox="634 573 1386 835">Es un método de conservación utilizando películas flexibles, que implica la modificación de la composición del aire, estableciéndose en base al metabolismo del fruto y la permeabilidad del material que lo envuelve. También puede crearse al aplicar vacío y/o por sustitución de un gas o mezcla de gases (atmósfera activa) que evoluciona, por combinación entre los fenómenos de respiración del producto y permeabilidad del material a los gases.</p>
<p data-bbox="266 919 565 951">Atmósferas controladas</p> 	<p data-bbox="634 919 1386 1056">Es una técnica de conservación de productos perecederos basada en el uso de composiciones gaseosas óptimas, controlados acorde a los requerimientos del producto almacenado.</p> <p data-bbox="634 1056 1386 1192">Tiene como objeto modificar y monitorear la presión de la composición del aire atmosférico en el almacenamiento, minimiza el proceso de maduración, prolonga su período de vida y mantiene la calidad en el almacenamiento.</p>
<p data-bbox="240 1234 586 1266">Recubrimientos comestibles</p> 	<p data-bbox="634 1234 1386 1497">Las películas y cubiertas comestibles han demostrado ser potenciales para transferencia a la humedad, oxígeno, dióxido de carbono, lípidos, aromas y compuestos de sabor en sistemas alimenticios. Al recubrir los frutos con barreras comestibles semipermeables a gases y vapor de agua se logra controlar la respiración, transpiración y el deterioro debido a microorganismos mejorando la apariencia, textura y manejo de estos.</p>
<p data-bbox="347 1539 488 1570">Irradiación</p> 	<p data-bbox="634 1539 1386 1707">La irradiación es una técnica sustancialmente benéfica utilizada en el procesamiento de alimentos para la eliminación de microorganismos patógenos y puede utilizarse en combinación con otras técnicas postcosecha para extender la vida útil en frutos.</p>



Tabla 6. Métodos de conservación de la fresa (continuación)

Método de conservación	Características
<p data-bbox="318 296 513 323">Envases activos</p> 	<p data-bbox="634 296 1393 562">El objetivo del envasado activo es aumentar la vida útil del producto, protegiéndolo contra los agentes responsables de la alteración física, química, enzimática o microbiológica. En el envasado activo se cambian las propiedades de permeación del envase o la concentración durante el almacenamiento. Se adicionan agentes mejorantes de calidad, a través del material de envase durante el almacenamiento.</p>

Fuente: Almenar (2005), Pérez (2013), Pérez y Ramos (2006), Sánchez (2013).

2.2. Envasado

El envasado de alimentos tradicional se entiende como apoyo mecánico de alimentos protegiéndolos de influencias externas y daño. Esta función principal del envasado implica: minimizar la pérdida; el mantenimiento de la calidad, la seguridad e inocuidad del alimento envasado (Córdova, 2012).

De acuerdo a la NOM-130-SSA1-1995, un envase, es todo recipiente destinado a contener un producto y que entra en contacto con el mismo, conservando su integridad física, química y sanitaria.

Según Coles *et al.* (2004) , un envase es todo producto fabricado con materiales de cualquier naturaleza y que se utilice para contener, proteger, manipular, distribuir y presentar mercancías, desde materias primas hasta artículos acabados, en cualquier fase de la cadena de fabricación, distribución y consumo. Las funciones primordiales del envase son:

- Contener el producto en envases de tamaños y formas diferentes.
- Proteger y preservar al producto, evitando daños mecánicos, cambios químicos, bioquímicos y microbiológicos durante su almacenamiento, transporte, etc.
- Conveniencia, para un mejor manejo de los productos, además de bajar los costes de distribución reduciendo pérdidas.



- Informa al consumidor y presenta colores, formas y tamaños muy atractivos.
- Publicidad de la marca, en el envase se pueden poner anagramas, colores, ilustraciones, símbolos, etc., típico de una marca que ayude a identificarlos.
- Promoción, economía y preservación del medio ambiente.

Algunos de los factores de los que el envase protege al alimento son: calor, luz la presencia o ausencia de humedad, microorganismos, plagas (insectos y roedores), suciedad y partículas de polvo, emisiones gaseosas, etc. que causan el deterioro de los alimentos y bebidas (Córdova, 2012).

Otras funciones principales del envase incluyen contención pasiva, comodidad, comercialización, y la comunicación. La contención permite garantizar que un producto no sea intencionalmente derramado o dispersado. La función de comunicación es realizar el enlace entre los consumidores y el procesador del alimento. Contiene información obligatoria tal como peso, fuente, ingredientes, y ahora valor nutrimental y precauciones de manipulación como uso requerido por la ley. La promoción del producto o la comercialización por las compañías se logra mediante los empaques en el punto de compra. Otras funciones secundarias en aumento incluyen la trazabilidad, indicación de manipulación y porción de control. Es bien sabido que el objeto clave de la seguridad para estos materiales tradicionales en contacto con los alimentos es ser lo más inerte posible, esperando que exista una mínima interacción entre el alimento y el envase (Córdova, 2012).

En la actualidad los plásticos como el tereftato de polietileno (PET), cloruro de polivinilo (PVC), polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS) y poliamida (PA) han incrementado su uso como materiales de envase debido a su gran disponibilidad y bajo costo además de su buena función mecánica, resistencia a la tensión y fricción, buena barrera al oxígeno, bióxido de carbono, vapor de agua y compuestos aromáticos, así como a la posibilidad de sellado con calor (Siracusa *et al.*, 2008), además influyen y se moldean bien bajo determinadas condiciones para poder



conseguir todo tipo de estructuras, formas y tamaños y en la mayoría de los casos son químicamente inertes, aunque no necesariamente impermeables (Castillo, 2010).

El mundo del envasado está en cambio constante con la introducción de nuevos envases, tecnologías y procesos. De esta forma se trata de mejorar la calidad del producto, la productividad, el ambiente y los beneficios a la empresa (Coles *et al.*, 2004).

2.1.5. Envases activos

Durante muchos años el envase cumplía tres funciones básicas: contener, conservar y proteger al producto envasado. Con el paso del tiempo, esas funciones tradicionales se han visto ampliadas con otras exigencias como que presenten comportamientos físico-químicos específicos en relación con el producto contenido, que se adecúen a los requisitos de la moderna distribución comercial, que cumplan con las nuevas reglamentaciones y legislaciones relacionadas con los alimentos o con el medio ambiente, que sus costos sean adecuados al producto final y, tanto más, que presenten un cierto atractivo para captar la atención del consumidor (López de Dicastillo, 2011).

Un envase activo es un concepto innovador que ha sido introducido como respuesta a los continuos cambios actuales, la demanda del consumidor y las tendencias del mercado (Castillo, 2010). El término envase activo hace referencia a la incorporación de ciertos aditivos al material de envase o en el envase (Coles *et al.*, 2004) manteniendo su calidad, seguridad y propiedades sensoriales sin agregar directamente agentes activos en el producto (Castillo, 2010).

Existe una gran cantidad de opiniones en cuanto a la definición de envase activo dada por diversos autores. Un envase activo, es aquel que interacciona directamente con el producto y/o con su entorno para mejorar uno o más aspectos de su calidad o seguridad. De otro modo podemos definir el envase activo como el sistema alimento-envase-entorno que actúa de forma coordinada para mejorar la salubridad y la calidad del alimento envasado y aumentar su vida útil (Avedaño, 2009).



El envasado activo tiene como finalidad incrementar el tiempo de conservación de los alimentos y preservar o potenciar sus propiedades organolépticas. Para ello se liberan sustancias de interés (antimicrobianos, antioxidantes, aromas) y/o se retiran compuestos indeseables (oxígeno, etileno, olores) del producto envasado o de su entorno.

Algunos de estos envases actúan sobre la composición gaseosa del interior del paquete con el fin de establecer una atmósfera protectora. Entre ellos se encuentran absorbedores de oxígeno, generadores y absorbedores de carbono, absorbedores y reguladores de humedad, absorbedores de etileno, generadores de gases con actividad antimicrobiana y dispositivos donde se combinan los anteriores (García *et al.*, 2006)

Los sistemas activos se pueden clasificar en absorbedores y emisores. Los absorbedores eliminan sustancias no deseadas como oxígeno, exceso de agua, etileno, dióxido de carbono, olores, sabores y otros componentes específicos de los alimentos. Los emisores aportan activamente al alimento envasado sustancias como dióxido de carbono, agua, antioxidantes o conservadores. Existen dos formas de aplicar el componente activo al envase (Castillo, 2010):

- 1) En el interior del envase. El uso de pequeñas bolsas o sobres que contienen el principio activo constituyen el sistema más desarrollado y utilizado. Estas bolsas están fabricadas con un material permeable que permite actuar al compuesto e impide el contacto con el alimento.
- 2) El material del envase. Materiales para envasado, películas sintéticas y comestibles, que contienen el principio activo en su estructura (aditivos agentes, antimicrobianos, etc.) se basa en los fenómenos deseables de migración, cediendo al producto envasado sustancias beneficiosas.



Los envases activos son promisorios principalmente para productos cárnicos y mínimamente procesados, donde la contaminación microbiana ocurre principalmente en la superficie, debido al manejo pos-proceso, donde la aplicación directa de sustancias antibacteriales en la superficie de los alimentos tienen beneficios limitados debido a que las sustancias activas se neutralizan al contacto o se difunden rápidamente la superficie al interior del alimento.

2.1.6. Aplicaciones de envases activos

Los conceptos más importantes de envases activos: son absorbedores de oxígeno y etileno, absorbedores o emisores de CO₂, reguladores de humedad, envases antimicrobianos, liberación de antioxidantes u adsorción de sabores y olores (Castillo, 2010).

a) Absorbedores de oxígeno

Los absorbedores de oxígeno resultan de gran utilidad en el envasado de alimentos sensibles a este gas (García *et al.*, 2006). En muchos casos, el deterioro de los alimentos es causado por la oxidación de sus constituyentes o por acción de mohos en presencia de O₂ (Castillo, 2010). Aparte de esta protección frente a las alteraciones oxidativas, la incorporación de absorbedores de oxígeno en los envases inhibe el crecimiento de microorganismos aerobios patógenos y alterantes y de insectos (García *et al.*, 2006). Los absorbedores de O₂ utilizan uno o más de los siguientes principios: oxidación de polvos de hierro, oxidación de ácido ascórbico, oxidación de tintes fotosensibles, oxidación enzimática, ácidos grasos insaturados e inmovilización de levaduras en un material sólido (Castillo, 2010).

b) Absorbedores y emisores de CO₂

El CO₂ es producido en algunos alimentos debidos, a su deterioro y a las reacciones de oxidación, por tal motivo el CO₂ tiene que ser removido para disminuir el deterioro del producto. Los absorbedores de CO₂ en sobres se utilizan para evitar los cambios en el sabor y para absorber el CO₂ incluido, si no se elimina puede causar daños en el envase. En otros casos, los altos niveles de CO₂ (de 60 a 80%) inhiben el crecimiento microbiano de la superficie de productos cárnicos y avícolas prolongando la vida útil de anaquel, en estos casos es conveniente el uso de emisores de CO₂. Los



absorbedores de CO₂ en sobre utilizan hidróxido de calcio, sodio o potasio, óxido de calcio y sílica gel.

C) Controladores de humedad

El principal propósito del control de la humedad es disminuir la actividad de agua del producto, evitando el crecimiento de microorganismos. Muchos productos alimenticios requieren un control de agua líquida y gaseosa, por ejemplo productos hortofrutícolas que generan vapor de agua durante la respiración. Un controlador de humedad es un sistema capaz de regular el contenido de agua líquida o gaseosa de la atmósfera que rodea al alimento dentro de su envase (Castillo, 2010).

Se consideran varios sistemas de regulación del contenido de humedad en alimentos envasados como: absorbentes de humedad, plásticos con aditivos antivaho, reguladores de humedad y películas. Otra forma de controlar la humedad consiste en el uso de desecadores que utilizan sílica gel, óxido de calcio y arcillas (Castillo, 2010).

d) Absorbedores de etileno

El etileno actúa como una hormona durante la maduración de frutas y hortalizas, y cataliza el envejecimiento, índice de florecimiento, acelera el reblandecimiento, incrementa de degradación de la clorofila y reduce el tiempo de vida útil de frutas y vegetales frescos o mínimamente procesados (Castillo, 2010).

Los dispositivos que retiran el etileno de la atmósfera interna del envase contienen compuestos químicos con capacidad de adsorción/ absorción y pueden presentarse en bolsas o en láminas (García *et al.*, 2006). Muchos absorbedores de etileno utilizan permanganato de potasio, el cual oxida al etileno en acetato y alcohol (Castillo 2010).

e) Liberación de antioxidantes

Los antioxidantes son ampliamente utilizados como aditivos alimentarios para evitar la oxidación de lípidos y prolongar la vida de anaquel, principalmente en alimentos deshidratados o sensibles al O₂. Los antioxidantes pueden ser incorporados en películas de plástico para estabilizar al polímero y protegerlo de la degradación, la concentración del antioxidante en las películas poliméricas disminuye durante el



almacenamiento debido a la oxidación, pero también por la difusión a través del volumen del polímero hasta la superficie, permitiendo la evaporación del antioxidante (Castillo, 2010).

f) Liberación y adsorción de olores y sabores

Son sistemas empleados para eliminar efectos indeseables en los alimentos envasados como olor y sabor. Generalmente, la pérdida de sabor en los alimentos disminuye su calidad, sin embargo, esta desventaja podría ser usada de manera positiva para absorber selectivamente olores y sabores indeseables. La incorporación de sabores en los materiales de envase podría utilizarse para minimizar las pérdidas de sabor, mejorando la calidad organoléptica del producto. En cuanto a la absorción de olores, hay dos tipos de olores que pueden ser removidos por los envases activos: aminas y aldehídos (Castillo, 2010).

g) Liberadores de sistemas antimicrobianos

Los sistemas antimicrobianos son sistemas capaces de liberar sustancias que actúan de forma efectiva sobre los microorganismos que influyen negativamente sobre los alimentos envasados. Los compuestos con acción antimicrobiana utilizados son: etanol, dióxido de carbono, dióxido de azufre, dióxido de cloro, ácidos orgánicos, aceites esenciales, compuestos quelantes, metales (plata), enzimas (glucosa oxidasa, muramidasa), bacteriocinas, antibióticos y fungicidas.

Las sustancias antimicrobianas incorporadas en los materiales de envase pueden controlar la contaminación microbiana mediante la reducción de la velocidad de crecimiento y el crecimiento máximo de población y/o extender la fase lag del microorganismo, o por la inactivación del microorganismo al contacto (Castillo, 2010).

2.3. Aceites esenciales

Los aceites esenciales son conocidos desde la Edad Media por sus propiedades antisépticas, terapéuticas y por su intenso aroma, despertando un gran interés para la conservación de alimentos. Debido a sus propiedades antimicrobianas, actualmente se está potenciando el uso de este compuesto en la industria farmacéutica y alimentaria



reduciendo así el uso de productos químicos de síntesis y protegiendo el equilibrio ecológico (Hernández, 2011).

Los aceites esenciales son compuestos de naturaleza compleja formados por varias sustancias orgánicas volátiles, solubles en solventes orgánicos no polares, su densidad es generalmente menor a la del agua, con olor característico fuerte y son sintetizados por los distintos órganos de las plantas: semillas, flores, hojas, tallos, raíces y ramas, y se almacenan en canales, células epidérmicas o en tricomas glandulares para su posterior secreción. Los aceites esenciales pueden ser alcoholes, cetonas, éteres, aldehídos. Su presión de vapor es suficientemente alta para volatilizarse a temperatura ambiente (Hernández, 2011; Medina, 2011).

Los aceites esenciales (AE) son mezclas complejas que pueden contener entre 20 y 60 compuestos de diferentes estructuras químicas en concentraciones muy diferentes. Normalmente sus propiedades son atribuidas a dos o tres componentes mayoritarios (20-70%) que son los que determinan la actividad biológica de los mismos. Entre los componentes mayoritarios de los AE se encuentran sustancias terpenoides junto con oxigenadas (alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos y compuestos fenólicos).

Los compuestos más activos derivan biológicamente del ácido mevalónico y se les cataloga como terpenos, siendo los más abundantes los monoterpenos (C_{10}) y los sesquiterpenos (C_{15}) (Valdés, 2014).

2.3.1. Aceite esencial de naranja

Las frutas cítricas como la naranja consisten de una cáscara exterior la cual se forma de un flavedo, glándulas de aceite, albedo y sacos donde se encuentra el jugo. Las diferentes partes de la naranja contienen compuestos volátiles, enzimas, ácidos, proteínas, lípidos, azúcares y vitaminas. La naranja posee el aroma distintivo de la fruta cítrica debido al lanzamiento continuo de cantidades pequeñas de volátiles a la atmósfera (Velázquez, 2008).



La naranja debe su aroma a la presencia de diversos terpenoides que se sintetizan en las glándulas que están distribuidas en forma heterogénea en las capas pigmentadas del flavedo (cáscara externa) ver Figura 4, esta contiene aproximadamente 1 mL del correspondiente aceite esencial por cada 100 cm² de cáscara. La cáscara externa entre el 8-10% de la naranja es donde se encuentran los sacos de aceite (Velázquez, 2008).

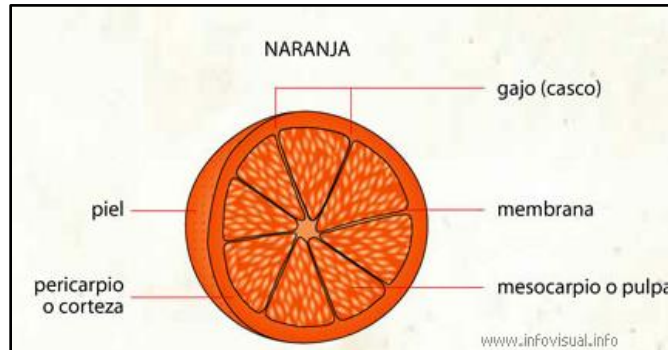


Figura 4. Partes de la naranja.

Los monoterpenos (ver Figura 5) pineno, carvona, limoneno, linalool, micreno, son sustancias típicas que se encuentran en los volátiles de diversas frutas como la naranja; dada su estructura química algunos presentan carbonos asimétricos y por lo tanto existen en dos formas ópticamente activas. El limoneno es el hidrocarburo que más abunda en la naranja y en los cítricos en general; el cual es fácilmente oxidable y tiene un umbral de detección de 10 µg/L (Badui, 1993).

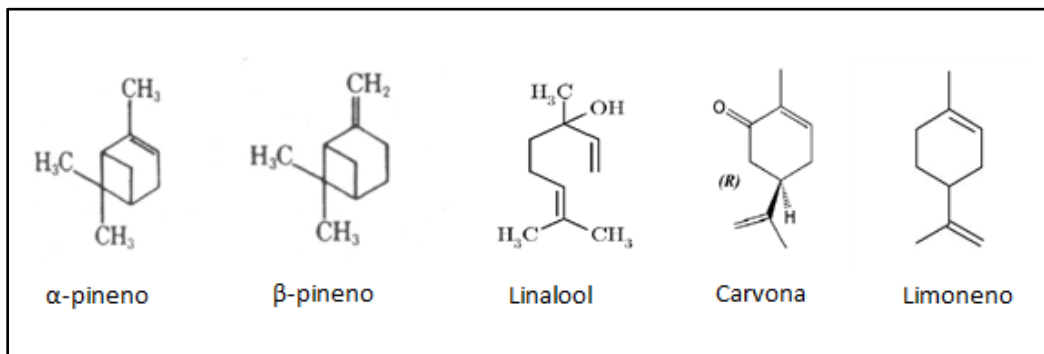


Figura 5. Compuestos bioactivos del aceite esencial de naranja.



2.3.2. Aceite esencial de limón

El limón está compuesto por 3 partes, el flavedo o exocarpio, albedo o mesocarpio y endocarpio. El flavedo es una capa delgada que posee pigmentos que cambian de color durante la maduración de verde amarillo, de gran aroma debido a los compuestos terpénicos que componen los aceites esenciales que allí se encuentran. El albedo es la parte blanca que contiene las pectinas que le confieren la firmeza a la corteza. El endocarpio está formado por la pulpa que contiene las vesículas con el jugo.

La mayoría de los aceites esenciales extraídos de cítricos tienen propiedades antifúngicas, ya que producen fitoalexinas que son sustancias segregadas por las plantas. En el aceite esencial de limón, el limoneno es el componente mayoritario (Figura 6) y posee apreciables cantidades de β -pineno, terpineno y menor cantidad de compuestos oxigenados (Hernández, 2014).

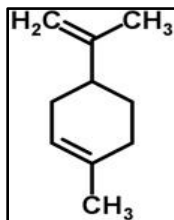


Figura 6. Estructura química de Limoneno.

2.3.3. Aceite esencial de toronja

La toronja o pomelo (*Citrus x paradisi*) es un árbol de la familia de las rutáceas, cultivado por su fruta. Es un híbrido, probablemente producido de forma espontánea entre la pampelmusa (*Citrus máxima*) y la naranja dulce (*Citrus x sinensis*) (Escobedo, 2013).

Los aceites esenciales son mezclas homogéneas de compuestos químicos orgánicos, constituidos principalmente por terpenoides. A condiciones ambientales, son líquidos menos densos y más viscosos que el agua. Poseen un color en la gama del amarillo, hasta ser transparentes en algunos casos. Sufren degradación química en presencia de la luz solar, del aire, del calor, de ácidos y álcalis fuertes (Contreras y Ruiz, 2012).



En el aceite esencial de toronja, el limoneno es el monoterpeno presente en mayor proporción con un 70.04%. Entre los monoterpenos detectados en mayor proporción que le siguen al limoneno son: mirceno con 4.0%, α pineno con 1,60%, seguido de sabineno y trans- β -ocimeno. El alcohol en mayor proporción es el linalool (2.07%), es importante destacar que el linalool, carvacrol y thymol han sido reportados como principales constituyentes que exhiben propiedades antibacterianas. Los aldehídos representan el 6,32% del aceite esencial de toronja. El aldehído que se encuentra en mayor proporción es el n- octanal (2,48%). En general, los aldehídos representan un parámetro importante para establecer el valor del aceite, y por tanto conllevan a una referencia de calidad, porque contribuyen a la fragancia y al aroma característico de los aceites esenciales de cítricos.

2.3.4. Clasificación de los aceites esenciales

En la naturaleza los aceites esenciales juegan un papel importante para las plantas, dándoles protección contra bacterias virus, hongos e insectos. También atraen a los insectos para que sirvan como dispersores de polen y de semillas (Medina, 2011).

Los aceites esenciales se clasifican con base en diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios (Márquez, 2003).

➤ **Consistencia**

De acuerdo con su consistencia los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas (Márquez, 2003; Medina, 2011):

- Esencias: son líquidos volátiles a temperatura ambiente
- Bálsamos: son extracto naturales obtenidos de un arbusto o árbol. Son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización.
- Oleorresinas: Tienen el aroma de las plantas en forma concretada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas como por ejemplo caucho, gutapercha, de pimienta negra, de clavelo.

➤ **Origen**

De acuerdo a su origen los aceites esenciales se clasifican como naturales, artificiales y sintéticas (Márquez, 2003; Medina, 2011):



- Naturales: se obtiene directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosos.
- Artificiales. Se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes.
- Sintéticos: Como su nombre lo indica son elaborados a partir de la combinación de sus componentes, son producidos por procesos de síntesis química. Son más económicos siendo más utilizados como aromatizantes y saborizantes.

➤ **Naturaleza química**

De acuerdo con la naturaleza de sus componentes mayoritarios se clasifican en aceites tipo monoterpenoides, sesquiterpenoides y compuestos oxigenados (Luna, 2007).

2.3.5. Métodos de obtención de los aceites esenciales

Para obtener un extracto, primero que todo es identificar la hierba deseada y la parte que contiene los constituyentes útiles (Azuola y Vargas, 2007). Se deben de considerar las características generales del compuesto de interés antes de comenzar con el proceso de extracción, las características del solvente así como también analizar el proceso a emplear en función de obtener el compuesto de interés sin riesgos y con un alto rendimiento (Márquez ,2003). Adicionalmente, la determinación de una técnica precisa de cosecha y métodos de preservación de la planta por utilizar es de crucial importancia. El mecanismo de extracción involucra dos fenómenos físicos: difusión a través de la pared celular y el lavado de los contenidos celulares, una vez que las paredes se han roto (Azuola y Vargas, 2007).

Aunque la tendencia es aplicar una técnica estándar para obtener el extracto crudo, es conveniente tener presente que un gran número de compuestos de origen natural no permite que un solo proceso de extracción se adecue a la extracción de todo ellos, si no que existen procesos individuales de acuerdo al tipo de compuesto (Márquez ,2003).



Los aceites esenciales se pueden extraer mediante diferentes métodos como: presión en frío, destilación con agua- vapor, extracción con disolventes volátiles, enfleurage o enflorado (Velázquez, 2008), con fluidos supercríticos, ultrasonido y extracción asistida por microondas (Rodríguez *et al.*, 2012) los cuales se describen a continuación en la Tabla 7.

Tabla 7. Métodos de extracción aceites esenciales.

Método	Descripción
Presión en frío	El material vegetal es exprimido mecánicamente para liberar el aceite y este es recolectado y filtrado. Este método es usado para el caso de esencias de cítricos.
Destilación con agua- vapor	Es un método en el que el material vegetal se coloca sobre una malla y no permite el contacto directo con el agua que se sitúa por debajo. Una vez iniciado el proceso, el agua se lleva a ebullición y el vapor que se genera pasa a través del material vegetal. De este modo se evita que el material vegetal se queme.
Hidrodestilación	La materia prima vegetal se carga en un matraz bola, formando un lecho fijo compactado, se agrega agua se calienta hasta ebullición, el vapor atraviesa la cámara y arrastra las esencias, con un refrigerante se condensa el agua. Posee un ramal lateral, por el cual el agua es desplazada para favorecer la acumulación del aceite. El vapor condensado acompañante del aceite esencial, es llamado “agua floral”. El proceso termina cuando el volumen del aceite esencial acumulado no varíe con el tiempo.
Extracción con solventes volátiles	La muestra seca y molida se pone en contacto con disolventes tales como: alcohol, cloroformo, etc. Estos disolventes solubilizan la esencia pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a escala de laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los disolventes, porque se obtienen esencias impurificadas con otras sustancias y además por el riesgo de explosión e incendio característico de muchos disolventes orgánicos volátiles.
Extracción con fluidos supercríticos (FSC)	El punto crítico corresponde a las condiciones de temperatura y presión por encima de las cuales la sustancia ya no puede ser condensada por incremento de presión. Adicionalmente, las propiedades de la fase líquida y/o vapor son las mismas, es decir no hay diferenciación visible ni medible entre gas y líquido.



Tabla 7. Métodos de extracción de los aceites (continuación)

Método	Descripción
Ultrasonido	El ultrasonido es una clase de onda mecánica longitudinal cuya frecuencia de vibración es mayor a los 20,000 ciclos por segundo, por ese motivo el oído humano no lo puede percibir. Las partículas sólidas y líquidas vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica, como resultado el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al solvente.
Enflorado o enfleurage	El material vegetal (generalmente flores) es puesto en contacto con una grasa. La esencia es solubilizada en la grasa que actúa como vehículo extractor. Se tiene inicialmente una mezcla de aceite esencial y grasa la cual es separada posteriormente por otros medios físico-químicos, los cuales generalmente se basan en la adición de alcohol caliente a la mezcla y su posterior enfriamiento para separar la grasa (insoluble) y el extracto aromático.
Extracción asistida por microondas	La irradiación de microondas causa movimiento de moléculas por la migración de iones y rotación de dipolos que contribuyen a una rápida transferencia de energía al solvente y material vegetal.

Fuente: Hernández (2011); Valdés (2014); Velázquez (2008).

2.3.6. Toxicidad de los aceites esenciales

Este aspecto del conocimiento de los aceites esenciales es muy importante, ya que el desarrollo de prácticas como la aromaterapia, así como la connotación de “producto natural” atribuida a estos productos, lleva una utilización generalmente abusiva. La automedicación se ve favorecida por el hecho de que buen número de estos productos se distribuyen fuera del sector farmacéutico (Flores, 2010).

Por regla general, los aceites esenciales por vía oral poseen una toxicidad débil o muy débil: la mayoría de los que se utilizan frecuentemente tienen una DL_{50} comprendida entre 2 y 5 g/kg (anís, eucalipto, clavo, etc.), o lo que es más frecuente, superior a 5 g/kg (manzanilla, lavanda, etc.), similar caso se da con los componentes de los aceites esenciales. Son raros aquellos que tienen una DL_{50} inferior a 2 g/Kg (Shiva, 2007).

La principal ventaja de los aceites esenciales es que pueden utilizarse en cualquier alimento y la FDA las ha considerado como sustancias GRAS (Generally Regarded as



Safe), siempre y cuando su efecto se logre con el mínimo cambio en las propiedades organolépticas del alimento.

2.3.7. Mecanismo de acción

En cuanto a los mecanismos de acción de los metabolitos todavía quedan muchas interrogantes. Se ha probado que los terpenos son los principales responsables de la actividad antimicrobiana está basado en su habilidad para dañar las biomembranas. En función de sus características lipofílicas interactúan con las enzimas de la membrana e interfieren procesos vitales como la osmosis, la síntesis de esteroides y fosfolípidos. Se ha demostrado que los alcoholes fenólicos (timol, Carvacrol, eugenol) son los más fuertes inhibidores de los presos enzimáticos. Esto se atribuye a su característica lipofílica y sus grupos OH libres (Montes, 2009).

Se conoce que el cineol reduce la división celular y que el limoneno, el α -pineno y el β -pineno inhiben el consumo de oxígeno; también se sabe que el 1-8 cineol inhibe la respiración mitocondrial, la fosforilación oxidativa y la síntesis de ADN (Montes, 2009).

A pesar de que las propiedades antibacterianas de los aceites esenciales y sus componentes derivados han sido ampliamente estudiados el mecanismo de acción no ha sido estudiado en detalle. Esta actividad antibacteriana no se le atribuye a un solo mecanismo específico si no que su acción se ha atribuido a la acción multifactorial que los distintos componentes del aceite esencial tienen sobre la célula.

Una de las características más importantes de los aceites esenciales es su hidrofobicidad. Esto hace que sean capaces de penetrar a través de las membranas celulares, alterando sus estructuras y haciéndolas más permeables. La fuga de estos compuestos a bajas concentraciones puede ser tolerada por la célula sin la pérdida de la viabilidad de la misma. Sin embargo, la pérdida excesiva o salida de las moléculas críticas pueden llevar a la muerte celular. Existen evidencias con estudios de aceite



esencial del árbol del té y *Escherichia coli* en los que la muerte celular puede ocurrir antes de la lisis celular (Hernández, 2011).

La mayoría de los estudios sobre la acción de los aceites esenciales frente al deterioro de los alimentos por patógenos coinciden con que, los aceites esenciales son más activos frente a microorganismos gram (+) que frente a gram (-). El hecho de que estas bacterias gram (-) sean menos susceptibles a la acción de los aceites esenciales quizás sea debido a que la membrana externa que poseen y que rodea la pared celular restringe la difusión de compuestos hidrofóbicos a través de la membrana celular (Hernández, 2011).

Los antimicrobianos usados en alimentos inhiben el metabolismo y por lo tanto, el crecimiento de bacterias, mohos y levaduras. La acción de estos puede ser inhibitoria o letal, dependiendo de las concentraciones en las que se utilicen.

Aunque los mecanismos de acción de los agentes antimicrobianos son distintos y no todos conocidos, se sabe que la muerte de los microorganismos se basa en una serie de acontecimientos altamente selectivos. La actividad se debe principalmente a que “atacan” a la pared celular, membrana celular, enzimas metabólicas, la síntesis de proteínas y el sistema genético. Siendo que cada uno de estos puntos es esencial para el desarrollo celular, si uno es atacado o inactivado, la velocidad de crecimiento de los microorganismos se ve minimizada (Hernández, 2011).

2.3.8. Aplicaciones de los aceites esenciales

Desde la edad media, los aceites esenciales han sido ampliamente utilizados como bactericidas, fungicidas, antiparacitos, insecticidas, en medicina, en la industria farmacéutica, cosmética, sanitaria, agrícola y de alimentos (Medina, 2011).

Los aceites esenciales tienen un amplio campo de aplicaciones en diversas ramas de la industria. Por ejemplo, son utilizados para otorgar un olor agradable a los productos en la industria perfumista (perfumes, aguas de tocador, colonias, etc.), en la industria



cosmética se usan para hacer más agradable o impartir identidad a un producto (jabones, desodorantes, pasta de dientes, etc.) (Luna, 2007).

Su sabor también es utilizado por varios sectores de la industria de alimentos, en confitería, en lácteos, en productos cárnicos, en licores, en condimentos, en bebidas, en medicamentos y en la industria tabacalera (Luna, 2007).

Las aplicaciones industriales y terapéuticas de los aceites esenciales dependen, principalmente, de su composición química, calidad, propiedades organolépticas, así como el grado de refinamiento de la esencia. Por tal motivo, resulta de vital importancia el control de calidad de los mismos, así como el estudio de su composición en función de las condiciones de cultivo de la especie. En la Tabla 8 se resumen alguna de las aplicaciones más importantes de los aceites esenciales en diferentes áreas de la industria de aromas y sabores, cuidado personal, farmacéutica y química (Hernández, 2011).

Tabla 8. Aplicaciones de los aceites esenciales.

Industria de aromas y sabores	Cuidado personal	Industria farmacéutica	Productos industriales
Alimentos y bebidas	Cosméticos	Medicamentos	Pesticidas
Aromatizantes para fármacos	Aseo personal	Fármacos de uso veterinario	Papeles y Tintas
Tabaco	Productos dentales		Cauchos/Plásticos
	Productos para hogar		Textiles

Fuente: Hernández, (2011).



OBJETIVOS



3. OBJETIVOS

3.1. . Objetivo general

Desarrollar un envase activo adicionado con aceites esenciales de cítricos (naranja, limón y toronja) para controlar *Botrytis cinerea* en la fresa y alargar su vida útil.

3.2. Objetivos particulares

Objetivo Particular 1. Realizar la extracción de los aceites esenciales de cítricos (limón, naranja, toronja) por el método de hidrodestilación, evaluando su rendimiento y sus propiedades físicas (densidad, residuos a la evaporación, índice de refracción, color y sólidos solubles) para determinar su calidad.

Objetivo Particular 2. Evaluar el efecto antifúngico de los compuestos volátiles de los aceites esenciales obtenidos de la piel de la naranja, limón y toronja mediante pruebas *in vitro*, estableciendo la concentración (9000, 10000 y 11000 ppm) que inhiba el crecimiento micelial del hongo *Botrytis cinerea*.

Objetivo particular 3. Evaluar el efecto antifúngico de diferentes prototipos de envases activos (barniz y esferas) adicionado con aceites esenciales de cítricos (naranja, limón y toronja) mediante pruebas *in vitro* sobre el crecimiento de *Botrytis cinerea*.

Objetivo Particular 4 Evaluar el efecto del envase activo seleccionado sobre los parámetros de calidad (acidez, color, firmeza, pH, pérdida de peso, sólidos solubles), fisiológicos (respiración), sensoriales (sabor, aroma y textura) y control de podredumbre gris (índice de decaimiento) durante la conservación refrigerada de fresa.



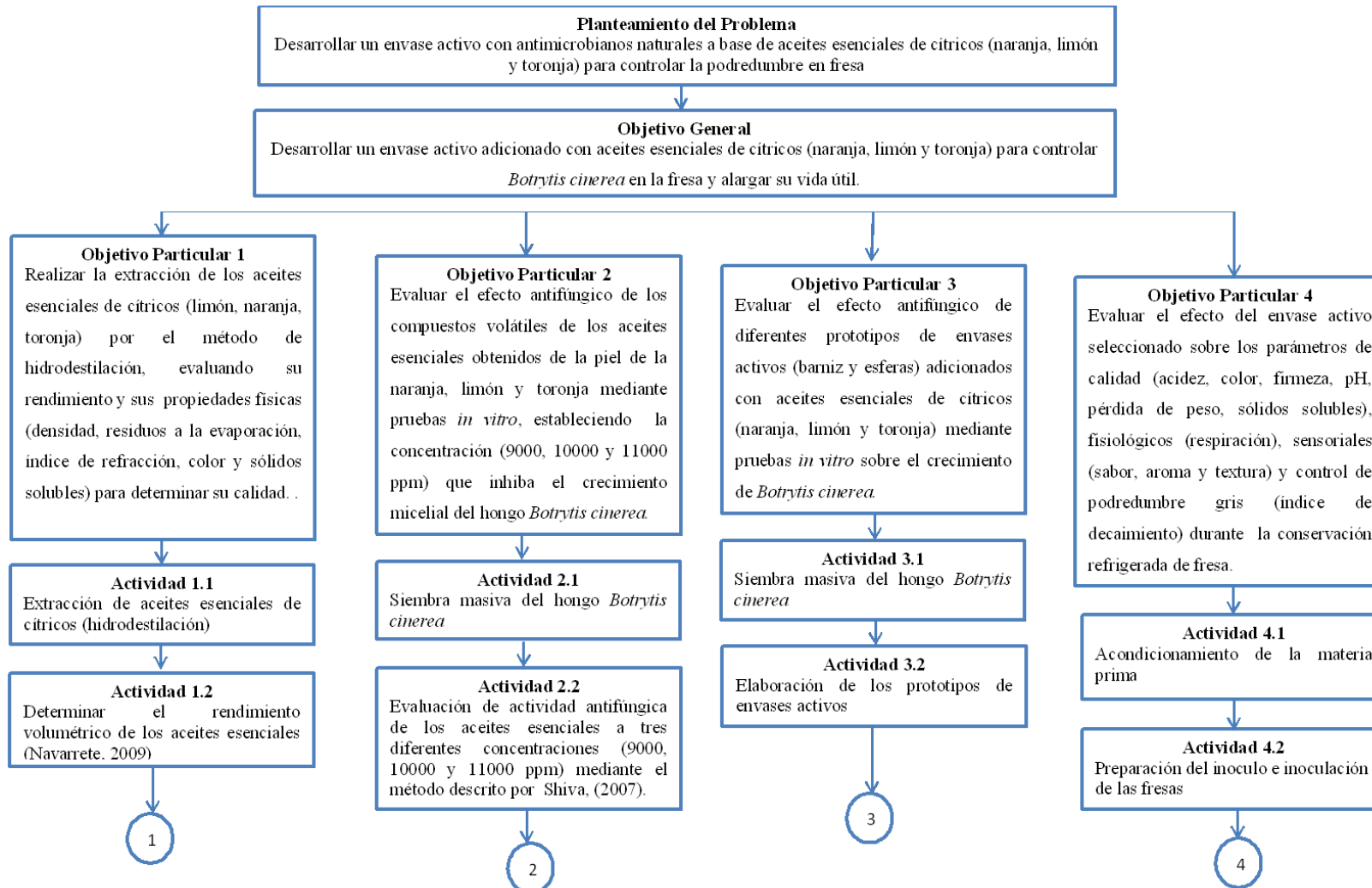
MATERIALES

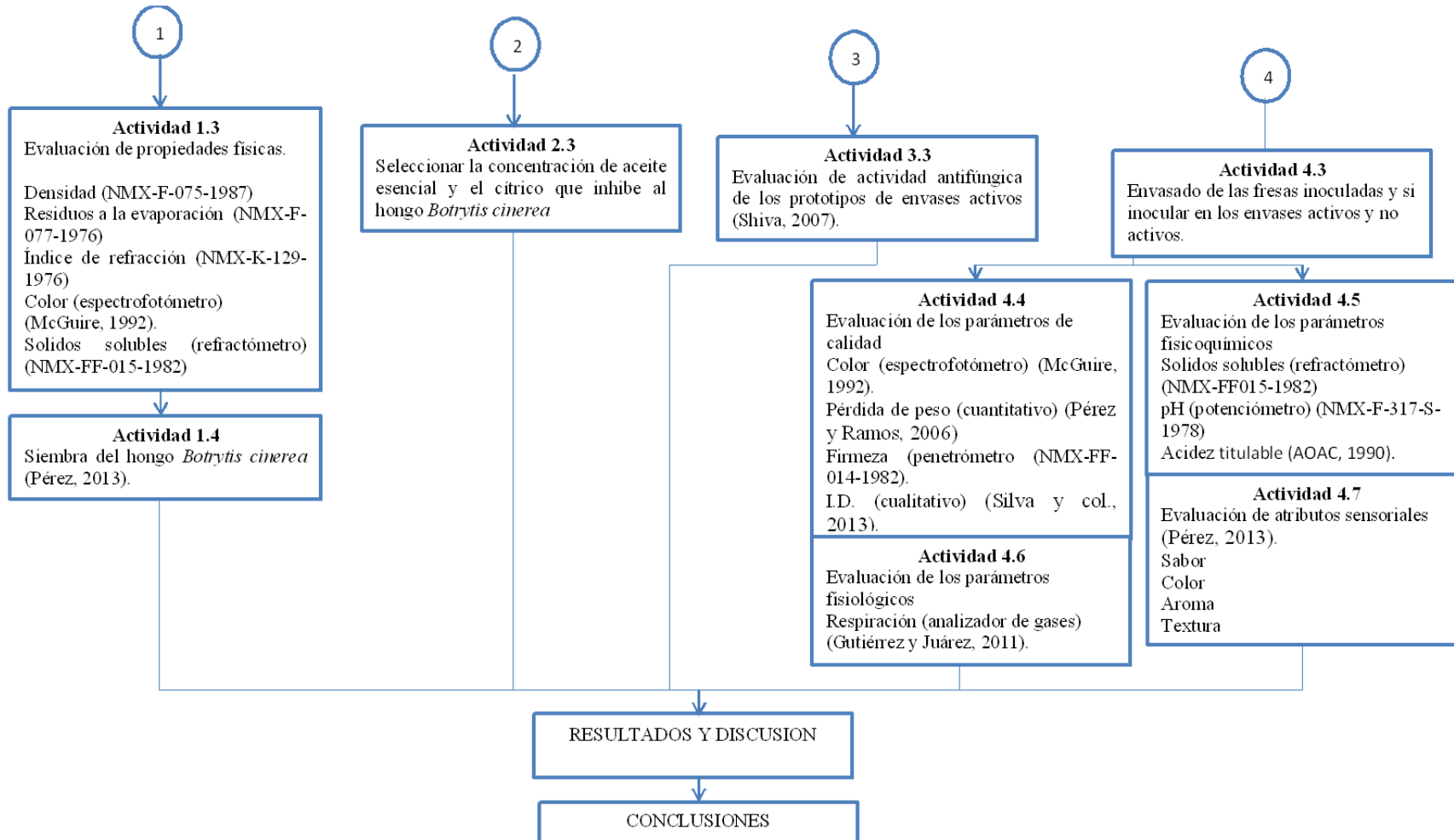
Y

MÉTODOS



4. MATERIALES Y MÉTODOS







4.1. Materiales biológicos

Los frutos utilizados fueron fresas de la variedad Camarosa, adquiridas en la Central de Abastos de la Ciudad de México, las cuales se trasladaron al Laboratorio de Postcosecha de productos vegetales del Centro de Asimilación Tecnológica (CAT) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, para su posterior estudio (Figura 7).



Figura 7. Material biológico para la experimentación.

Para la extracción de los aceites esenciales se emplearon cáscaras de tres cítricos naranja, limón y toronja, provenientes de desechos, las cuales fueron adquiridas en Tultitlán Estado de México. Por lo tanto, la materia prima no es homogénea en cuanto a la variedad de naranja, limón y toronja utilizada, estado de madurez, origen y condiciones físicas (por ejemplo, tamaño y color de la cáscara).

4.2. Extracción de los aceites esenciales de naranja, limón y toronja.

La extracción de los aceites esenciales se llevó a cabo mediante la técnica de hidrodestilación (Figura 8). Las cáscaras de los cítricos se limpiaron de materiales extraños eliminando el gabazo y semillas. Posteriormente se lavaron con agua y se molieron 300g de la piel del cítrico en un litro de agua donde fue sometida a una hidrodestilación durante 3.5 horas a una temperatura de $98\pm 3^{\circ}\text{C}$. Se evaluó la extracción de los aceites esenciales mediante un remojo de las pieles de los cítricos durante una hora y sin el remojo. Finalmente se almacenó a 0°C en un recipiente ámbar.



Figura 8. Hidrodestilación de aceites esenciales

4.2.1. Rendimiento volumétrico

Una vez obtenidos los aceites esenciales de los diferentes cítricos se evaluaron los rendimientos, primero se midió el volumen obtenido y se utilizó la ecuación (Ec. 1) de acuerdo a Navarrete (2009):

$$\text{Rendimiento: } \frac{\text{Kg Aceite obtenido}}{\text{Kg Carga vegetal}} \times 100 \dots \text{Ec.(1).}$$

Los resultados se expresaron en porcentaje para cada cítrico.

4.3. Caracterización química y fisicoquímica de los aceites esenciales.

Debido a que los aceites empleados en este trabajo fueron extraídos, fue necesario caracterizarlos como dato para futuros trabajos, se evaluó, color, densidad relativa, índice de refracción y residuos de la evaporación, las metodologías de las técnicas empleadas se describen en el apartado 4.8.1.

4.4. Evaluación de las propiedades antifúngicas de los aceites esenciales.

4.1.1. Crecimiento del hongo de *Botrytis cinerea*.

El crecimiento del hongo se realizó en un medio de cultivo de agar-papa dextrosa natural, elaborado a partir de 500g de papas previamente lavadas y picadas en trozos pequeños, posteriormente se hirvieron en 500mL de agua destilada durante 30 minutos, pasado el tiempo se filtraron a través de una gasa. De la infusión se colocaron 90 mL en un matraz de 500 mL y se le adicione 2.25 g de agar bacteriológico y 3 g de Dextrosa donde se completó el volumen con agua destilada a 150 mL, se agitó hasta



homogenizar y se calentó hasta su ebullición. Se esterilizó en un autoclave durante 20 min a 121°C (Pérez, 2013). Una vez solidificado se tomaron muestras de micelio de otro cultivo de hongo ya crecido previamente por 10 días, se incrustaron en 3 puntos formando un triángulo en el agar y se dejó crecer el hongo a una temperatura de 25°C durante 10 días (Sánchez, 2013) (Figura 9).



Figura 9. Siembra de un cultivo nuevo de *Botrytis cinerea*.

4.4.2. Pruebas *in vitro* de las propiedades antifúngicas de los aceites esenciales.

Las evaluaciones se realizaron en cajas Petri estériles de 8 cm de diámetro, agregando 20 mL de agar papa dextrosa (PDA) previamente esterilizado. En el agar solidificado con ayuda de un sacabocados de 1 cm de diámetro se obtuvo un explante del cultivo de *Botrytis cinerea* de 10 días de crecimiento a 25°C en agar-papa dextrosa natural, el explante se colocó en el centro del agar ya solidificado. Posteriormente se llevó a cabo la técnica de Shiva (2007) para la evaluación de la capacidad antifúngica por volatilización, donde una vez inoculadas las placas de agar PDA. Al igual que en el ensayo por difusión por discos, se dejó reposar 15 minutos. A continuación, se invierte la placa y en la parte de la tapa se colocó el disco estéril, impregnado con la concentración del aceite esencial (9000, 10000 y 11000 ppm), sin diluir. Finalmente se dejó crecer al hongo a una temperatura de 25°C y diariamente se midió el crecimiento micelial del hongo adicionando de los aceites esenciales de limón, naranja, y la mezcla limón-naranja 50%-50% (cada uno adicionado por separado) para determinar la inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea*. Las pruebas se realizaron por duplicado.



El crecimiento micelial de las muestras se evaluó al transcurrir los días midiendo los mm de extensión del micelio a la derecha, izquierda, arriba y debajo de la línea inicial marcada en la caja Petri. Finalmente, se calculó el porcentaje de crecimiento de la siguiente manera (Ec.2 y Ec. 3) (Valdés, 2014):

$$\% \text{ Crecimiento} = \frac{\text{Diametro de crecimiento del hongo con aceite esencial}}{\text{Diametro de crecimiento del control}} \dots\dots\text{Ec. (2)}$$

$$\% \text{ inhibición} = 100 - \% \text{ Crecimiento} \dots\dots\text{Ec. (3)}$$

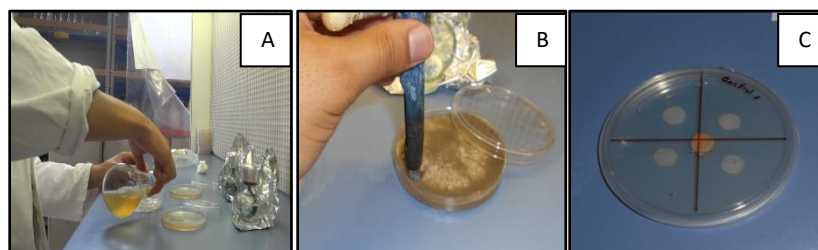


Figura 10. (A) Vaciado de agar PDA-Natural. (B) Explante de *Botrytis cinerea*. (C) Prueba in vitro de los aceites esenciales.

4.5. Elaboración de los prototipos de envases activos en forma de barniz y esferas de gel.

4.5.1. Prototipo en forma de barniz

La elaboración del barniz a base de gretina se basó en la metodología descrita por Jian-Hua *et al.* (2014).

La preparación del barniz se llevó a cabo mezclando gretina en una proporción de 4% (w/v) bajo agitación mecánica aproximadamente 20 minutos a 45°C hasta que se disolvió completamente. Una vez hidratado el polisacárido se añadió glicerol con 30 % de gretina (w/w) como plastificante en todas las películas y tween 80 al 1% como emulsificante y la cantidad necesaria de aceite esencial para llegar a la concentración deseada. Homogenizando durante 1 minuto (Figura 11).

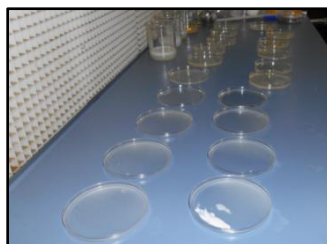


Figura 11. Elaboración del barniz.

4.5.2. Prototipo en forma de esferas de gel

Las esferas se prepararon con alginato y gelatina (1:1) al 2% disueltas a 65°C durante 30 min bajo agitación mecánica. Una vez disueltos los solutos se dejó enfriar y se añadió la cantidad necesaria de aceite esencial para generar la concentración requerida, se homogenizó y a partir de esta mezcla se formaron las esferas mediante la técnica de esferificación en una solución de cloruro de calcio al 3%; se dejaron inmersas en la solución de calcio durante 15 minutos (Figura 12).

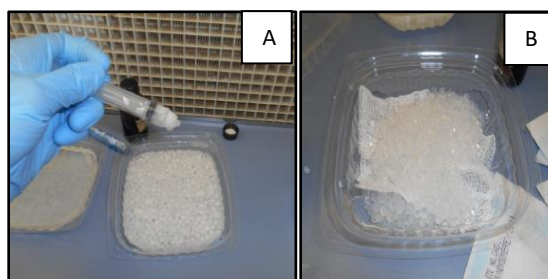


Figura 12. (A) Formación de esferas de gel en una solución de calcio. (B) Esferas de gel

4.6. Pruebas *in vitro* de los prototipos de envases activos.

4.6.1. Prototipo de envase activo en forma de barniz

La elaboración de las pruebas *in vitro* con el prototipo de envase activo en forma de barniz fue similar a la descrita en el apartado 4.4.2 con modificaciones: el biodisco impregnado con la concentración en estudio de aceite esencial no se llevó a cabo, sin embargo se colocaron 3 mL de barniz a una concentración de 11000 ppm de aceite esencial de limón en la tapa de la caja Petri, donde la elaboración del barniz se describe en el apartado 4.5.1 y se dejó secar durante 2 horas en una campana de flujo laminar evitando así la aplicación de una corriente de aire que pudiese contaminar el medio.



Tanto la gelatina como los aditivos (glicerol y Tween 80) fueron esterilizados en una cámara ultravioleta durante 20 minutos. Finalmente con el barniz ya seco, se colocó un explante del cultivo de *Botrytis cinerea* de 10 días de crecimiento en el agar solidificado. El hongo se dejó crecer a una temperatura de 25°C y diariamente se midió el crecimiento micelial del hongo. El control consistió en la mezcla del barniz sin la adición del aceite esencial (Figura 13).

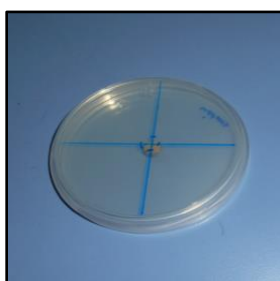


Figura 13. Prueba *in vitro* con el prototipo de envase activo en forma de barniz

4.6.2. Prototipo de envase activo en forma de esferas de gel

La elaboración de las pruebas *in vitro* con el prototipo de envase activo en forma de esferas de gel fue similar a la descrita en el apartado 4.4.2 con modificaciones, donde en la tapa de la caja Petri se colocaron 180 esferas (5% del volumen total de la caja Petri) a una concentración de 11000 ppm de aceite esencial de limón; la elaboración de las esferas de gel se describe en el apartado 4.5.2.

El alginato, gelatina, glicerol y tween 80 fueron esterilizados en una cámara ultravioleta durante 20 minutos. Una vez elaboradas las esferas de gel se colocó en el agar ya solidificado un explante del cultivo de *Botrytis cinerea* con un crecimiento previo de 10 días. El hongo se dejó crecer a una temperatura de 25°C y diariamente se midió el crecimiento micelial del hongo. El control consistió en las esferas de gel sin la adición del aceite esencial.

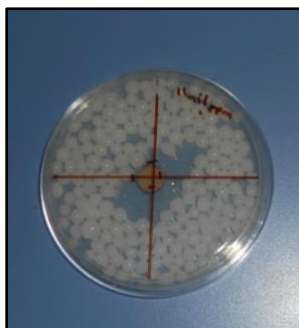


Figura 14. Prueba *in vitro* con el prototipo de envase activo en forma de esferas de gel.

4.7. Evaluación de los prototipos de envases activos en la inhibición de la enfermedad en fresas.

4.7.1. Tratamiento de la muestra

Los frutos fueron seleccionados y clasificados, eliminando aquellos que presentaron cualquier enfermedad o daño mecánico. Posteriormente de la selección se eliminó el pedúnculo de las fresas y se realizaron 2 lotes de 500 fresas cada uno, uno de esos lotes se colocó en una malla y fue sometido a una desinfección por aspersión con una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto, posteriormente el lote fue enjuagado por aspersión con agua estéril durante 1 minuto. Una vez enjuagados se dejaron secar durante 30 min a temperatura ambiente (Figura 15).



Figura 15. Desinfección de las fresas.

4.7.2. Obtención del inóculo

Para la obtención del inóculo se trabajó con 12 cajas del hongo *Botrytis cinerea* con un crecimiento previo de 10 días en agar PDA incubadas a 25°C y a cada caja se le agregaron 3 mL de una solución de Tween 80 al 0.5% (la cual fue previamente esterilizada), posteriormente cada caja fue raspada con un bisturí para poder arrastrar las esporas del hongo, finalmente el volumen de cada caja se filtró obteniendo así el inóculo (Figura 16).



Figura 16. Preparación del inóculo.

Para realizar el conteo de esporas, se colocó sobre la cámara de NeuBauer un cubre objetos específico, para luego colocar una gota de inóculo en la parte central, la cámara de NeuBauer se llevó al microscopio en el cual se realizaron los ajustes necesarios (ajuste de luz y resolución) para poder realizar el conteo.

La cámara de NeuBauer cuenta con dos áreas y cada una de ellas está dividida a su vez en: 4 cuadros divididos en 16 cuadrantes y un cuadro central en 25 cuadros como se muestra en la Figura 17.

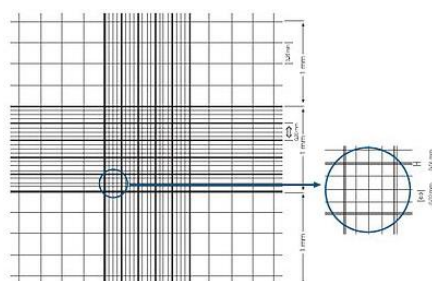


Figura 17. Cámara de NeuBauer para el conteo de esporas.

Como el inóculo se encontraba muy concentrado se realizaron diluciones para facilitar el conteo en el microscopio, hasta obtener una concentración de 1×10^6 esporas/mL.

Durante el conteo se consideró que si una de las esporas se encontraba cruzando una de las líneas divisoras de los cuadrantes, esta no sería tomada en cuenta (Gutiérrez y Juárez, 2011).



4.7.3. Inoculación de las fresas

La inoculación de las fresas se realizó colocando 100 μ L del inóculo de *Botrytis cinerea* en el pedúnculo de la fresa con una solución de 1x10⁶ esporas/mL en un lote de 500 fresas y se incubaron 24 horas a 25°C en una cámara húmeda para permitir la implantación del hongo.

4.7.4. Aplicación de los envases activos y no activos en fresas

Los dos lotes de 500 fresas se separaron en grupos de 10 fresas para su empaquetado y evaluación durante 12 días de almacenamiento.

Para llevar a cabo el envasado activo de las fresas se llevó a cabo el siguiente proceso:

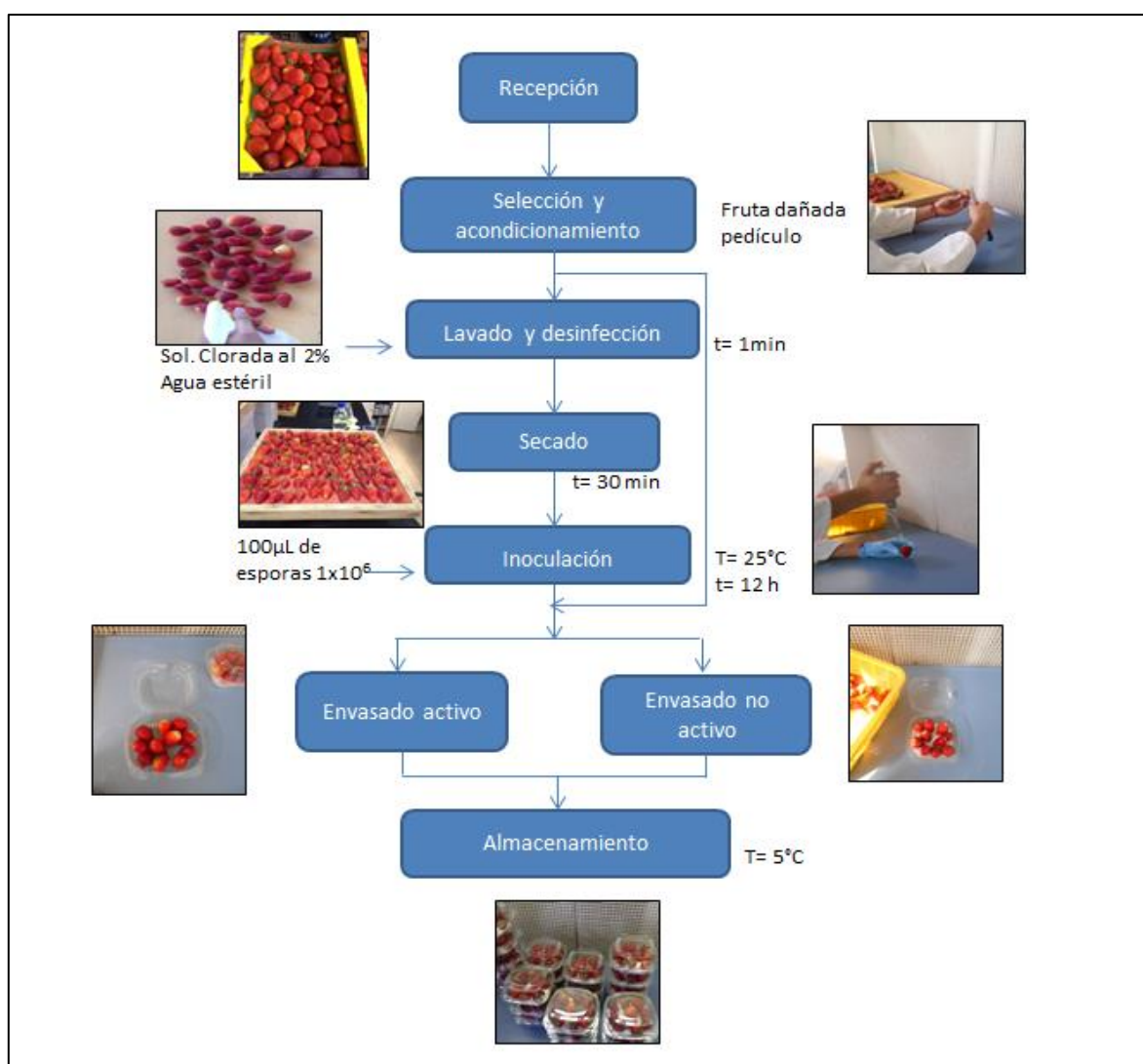


Figura 18. Diagrama de aplicación de los envases activos en fresas frescas.



Recepción: La fresa de adquirió en la Central de Abastos de la Ciudad de México

Selección y acondicionamiento: se eliminó todo la materia extraña y aquellos frutos que presentaron daño por enfermedad o daño mecánico, se aceptaron aquellos frutos que presentaron una apariencia firme, fresco y de color rojo característico. Posteriormente se cortaron las hojas y el pedículo.

Lavado y desinfección: a uno de los lotes se le realizó una desinfección por aspersión con hipoclorito de sodio al 2% durante 1 minuto, seguidamente fue enjuagado con agua estéril.

Secado: se dejaron secar las fresas desinfectadas por 30 minutos a temperatura ambiente.

Inoculación: se colocaron 100 μ L en el pedúnculo de la fresa, y se incubaron durante 12 horas en una cámara húmeda a 25°C para permitir la implantación del hongo.

Envasado activo: se colocó el 5% de la tarrina de esferas de gel que contenían el aceite esencial de limón en almohadillas de papel filtro para facilitar la liberación de los compuestos volátiles y para que las fresas no estuvieran en contacto directo con las esferas de gel. Posteriormente se colocaron 10 fresas en las tarrinas de plástico (PET) y se selló correctamente para evitar contaminaciones y pérdida de los compuestos volátiles del aceite esencial.

Envasado no activo: se colocaron 10 fresas en tarrinas de plástico (PET) y se selló correctamente para evitar contaminantes.

Almacenamiento: las fresas se almacenaron a una temperatura de 4°C hasta el día de su evaluación (cada dos días).

4.8. Técnicas analíticas

4.8.1. Métodos empleados para la caracterización de los aceites esenciales

4.8.1.1. Determinación de color

La determinación del color se llevó a cabo con un espectrofotómetro (Marca KONICA Minolta, Modelo CM-600d) (Figura 19) por el sistema Hunter Lab, que representa la cromaticidad en coordenadas rectangulares; Luminosidad (L) que define el grado de



intensidad lumínica desde negro=0 y blanco=100, “a” en el eje horizontal muestra desde valores negativos una inclinación al verde-azulado hasta un rojo purpura en sus valores positivos y “b” en el eje vertical contribuye en sus valores negativos con azul hasta amarillo en los positivos. Estos dos últimos parámetros representan las coordenadas del croma o saturación de color el cual se calculó a partir de la ecuación ($C = \sqrt{a^2 + b^2}$) y a su vez también se obtuvo el tono del ángulo hue con la ecuación ($h = \arctan(\frac{a}{b})$) que representa el color rojo-purpura=0, amarillo=90, verde azulado=180 y azul=270 (McGuire, 1992).



Figura 19. Espectrofotómetro Minolta CM-600d.

4.8.1.2. Densidad relativa

La densidad relativa es la relación de la masa de un volumen dado de una sustancia y la masa de un volumen igual de agua en las mismas condiciones de presión y temperatura. La densidad relativa se determinó mediante un picnómetro (Figura 20) de acuerdo al método descrito por la norma NMX-F-075-1987.



Figura 20. Picnómetro.



4.8.1.3. Índice de refracción

El índice de refracción se determinó de manera directa, este es un método que se basa en la medida directa del ángulo de refracción; o bien, en la observación del límite de reflexión total, manteniendo la sustancia dentro de condiciones de isotropismo y transparencia. El método se llevó a cabo de acuerdo a la norma NMX-K-129-1976, en un refractómetro de mano Marca Atago PAL-BX/RI (Figura 21) a 20°C. Los resultados se expresaron como índice de refracción.



Figura 21. Refractómetro.

4.8.1.4. Residuos a la evaporación

La determinación del residuo a la evaporación se lleva a cabo mediante el método descrito en la norma NMX-F-077-1976 para aceites esenciales. El residuo de evaporación se basa en la medición de la diferencia de pesos, que sufre la muestra, al pasar por un proceso de calentamiento controlado, en la cual se evaporan las sustancias volátiles (Figura 22).

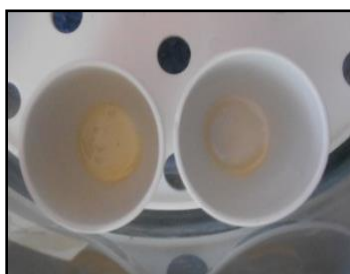


Figura 22. Residuos de aceites esenciales

4.8.1.5. Sólidos solubles

El contenido de sólidos solubles se determinó por lectura directa el cual se fundamenta en la propiedad de los líquidos de refractar la luz en proporción a su



contenido de sólidos solubles totales. La medición se realizó colocando una gota de aceite esencial, extraído de la piel de los cítricos sobre el prisma de medición mediante un refractómetro de mano Marca Atago PAL-BX/RI (Figura 21) a 20°C. Los resultados se expresaron como °Brix (NMX-FF-015-1982).

4.8.2. Parámetros de calidad evaluados en las pruebas *in-vivo*

4.8.2.1. Determinación de firmeza

En la determinación de la firmeza se utilizó un penetrómetro PCE-FM200 con punta cilíndrica de 8mm de diámetro, para medir el esfuerzo necesario para vencer la resistencia que presenta la pulpa a la introducción de un embolo de metal (Figura 23). Los resultados se expresaron como la fuerza necesaria para penetrar la pulpa N/nm (NMX-FF-014-1982).



Figura 23. Penetrómetro digital.

4.8.2.2. Determinación de color

La determinación de color se llevó a cabo mediante el mismo colorímetro y sistema descrito en el apartado 4.8.1.1, con la diferencia que las mediciones fueron realizadas en la parte exterior de las fresas.

4.8.2.3. Determinación de pérdida de peso

Se determinó de acuerdo al método descrito por Pérez y Ramos (2006), donde se evaluó mediante la diferencia entre pesos, tomando como base el peso inicial de cada una de los envases menos su peso final (Figura 24). El resultado se expresó como %



de pérdida de peso durante el almacenamiento. La determinación se realizó para cada tratamiento, así como para el grupo control, en todos los días del almacenamiento.



Figura 24. Balanza semianalitica.

4.8.2.4. Determinación de índice de decaimiento

El índice de daños por hongos en los frutos de fresa se determinó visualmente durante todo el experimento. Los frutos que presentaron crecimiento de hongos en la superficie fueron considerados como daños, conforme a la siguiente escala subjetiva (Tabla 9):

Tabla 9. Índice de decaimiento.

Nivel	% de daño
1	0
2	1-25
3	26-50
4	51-75
5	76-100

Los resultados se expresaron como índice de decaimiento: $ID = (1n + 2n + 3n + 4n + 5n) / N$, donde n = número de frutos en cada rango establecido en la escala subjetiva, para un tiempo de análisis dado; N = número total de frutos examinados (Silva *et al.*, 2013).



4.8.3. Parámetros fisicoquímicos

4.8.3.1. Determinación de pH

El pH es una medición de la actividad de iones H^+ e indica acidez. Esta puede ser medida por uso de un electrodo patrón de hidrogeno y otro de referencia (potenciómetro digital Marca HANNA HI 208) (Figura 25). Se utiliza buffers de pH estándar para su calibración (AOAC, 1990). Se tomaron 10 mL de muestra filtrada, la cual se separó previamente con 10g de muestra del fruto homogenizado y 90 ml de agua destilada, la medición del pH se realizó de manera directa al sumergir el electrodo en la solución a temperatura ambiente (NMX-F-317-S-1978)



Figura 25. Potenciómetro digital.

4.8.3.2. Determinación de acidez titulable

Se determinó con una solución de hidróxido de sodio 0.1N empleando fenolftaleína 1% como indicador con una alícuota de solución filtrada (Figura 26). Los resultados se expresan en porcentaje de ácido cítrico (AOAC, 1990).

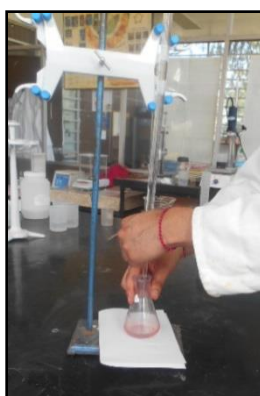


Figura 26. Titulación de una muestra de fresa.



4.8.3.3. Determinación de sólidos solubles

La determinación de sólidos solubles se llevó a cabo mediante el mismo refractómetro y sistema descrito en el apartado 4.8.1.3, con la diferencia que las mediciones fueron realizadas con una gota del jugo extraído de las fresas, el cual se tomó de 10 gramos de fresa previamente homogenizadas.

4.8.4. Parámetros fisiológicos

4.8.4.1. Determinación de respiración

Los cambios en la concentración de oxígeno y dióxido de carbono en el envase activo se determinaron utilizando un analizador de gases (Quantek DualTrack 902D) con el cual se midió del porcentaje de CO₂ retenido en el espacio de cabeza de cada envase (Figura 27).



Figura 27. Analizador de gases.

El equipo consta de 3 partes: una fuente de infrarrojo, la celda donde se coloca el gas a medir y un detector y trabaja sobre el principio de que el gas CO₂ absorbe luz infrarroja, de manera que una determinada cantidad de este gas que penetre en dicho analizador originara una señal que es proporcional a la concentración del CO₂ en la corriente de aire que entra por acción de una bomba (Gutiérrez y Juárez, 2011).



4.8.5. Atributos sensoriales

4.8.5.1. Determinación de parámetros sensoriales

Dentro del experimento fue necesaria la evaluación de los atributos sensoriales de los frutos, esto con el objetivo de determinar si la presencia de los aceites esenciales dentro del envase no alteraba las características organolépticas de las fresas, para ello se utilizaron hedónicas para evaluar la aceptación o rechazo de un producto determinado, el formato empleado se muestra en la Tabla 10 (Pérez, 2013).

Tabla 10. Parámetros sensoriales de la fresa.

	FRESA			
Parámetro	M1	M2	M3	M4
Apariencia visual ^A				
Intensidad de color ^D				
Olor ^A				
Olores extraños ^B				
Sabor ^A				
Sabor extraño ^A				
Textura ^C				
Calificación global ^A				



Tabla 10. Parámetros sensoriales de la fresa (continuación).

<p>A) Escala general</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Muy mala 2. Mala 3. Aceptable como límite de consumo 4. Buena 5. Muy buena 	<p>B) Escala de olores y sabor extraño</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. mucho 2. Alguno 3. aceptable 4. Leve 5. Ninguno
<p>C) Escala de textura</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Muy blanda 2. Blanda 3. aceptable como límite de consumo 4. Firme 5. Muy firme 	<p>D) Escala de intensidad de color</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Rojo muy claro 2. Rojo claro 3. Rojo 4. Rojo intenso 5. Extremadamente rojo

4.8.6. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron con un paquete estadístico IBM SPSS Statistics versión 20, donde se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias mediante pruebas de rango múltiple (Tukey y Duncan) aplicando un nivel de significancia del $p \leq 0.05\%$, para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos de estudio



RESULTADOS Y DISCUSIÓN



5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Evaluación del rendimiento en la extracción de aceites esenciales de naranja, limón y toronja por hidrodestilación.

Los aceites esenciales son compuestos aromáticos producidos por varios géneros de plantas que poseen actividad biológica y/o extractos vegetales con actividad antifúngica contienen compuestos que son sintetizados por las plantas como mecanismo de defensa contra algunos microorganismos (Contreras y Olivares, 2014).

Los aceites esenciales de cítricos, localizados en sacos oleosos de flavedo, son utilizados en la industria de alimentos como bebidas, confitería, aromas, saborizantes, helados, y gomas entre otros. Un problema común en la producción de los aceites esenciales radica en la diversidad de los rendimientos obtenidos para una misma planta aromática (Cerpa, 2007).

El rendimiento del aceite esencial depende, entre otros factores, de la variedad, condiciones de cultivo, incidencias climatológicas, tamaño de fruto, grado de madurez, época de cosecha (Olaeta *et al.*, 2002), nivel de producción, tipo de método de extracción del aceite y a otros factores adicionales (Cerpa, 2007).

Cabe señalar que las cáscaras de los cítricos no pueden ser almacenadas ya que presentarían pérdida de compuestos importantes del aceite esencial. Por lo tanto debe ser ingresada al proceso directamente después de la extracción del jugo (Cerón y Cardona, 2010).

En la Tabla 11 se muestran los rendimientos obtenidos de la cáscara de los cítricos de naranja, limón y toronja en las diferentes condiciones propuestas, donde los mayores rendimientos se obtuvieron por parte de la cascara de naranja, seguido del limón y en menor cantidad de la toronja el cual obtuvo un rendimiento del 0.12% con remojo y



0.15% sin remojo. Por lo que se decidió no considerar el aceite esencial de toronja para continuar con la experimentación por sus bajos rendimientos que presentó.

Tabla 11. Rendimientos de los aceites esenciales.

Cítrico	Condición	Rendimiento (%)
Naranja	s/ remojo	1.40±0.20 d
Limón		0.80±0.10 b
Toronja		0.15±0.04 a
Naranja	c/ remojo	1.09±0.08 c
Limón		0.85±0.01 b,c
Toronja		0.12±0.04 a

Los valores representan la media de tres repeticiones \pm desviación estándar. Letras diferentes en cada fila indican diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre tipo de cáscaras.

Respecto a las extracciones llevadas a cabo con las diferentes condiciones (remojo y sin remojo) presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la cantidad de aceite esencial obtenido entre ellos, siendo los rendimientos obtenidos con remojo de las cáscara de naranja y limón no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$), mientras que el aceite esencial de toronja si presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a la cantidad de aceite esencial obtenido de la cáscaras de naranja y limón.

En los dos tratamientos empleados (con remojo y sin remojo de la cascara por 1 hora) el aceite esencial de naranja presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$), obteniendo mayor rendimiento sin remojo de la cáscara. Por lo que decidió trabajar con la extracción del aceite esencial de naranja con remojo ya que se obtuvo el mayor rendimiento (1.4%); además en lo que respecta a la extracción de aceite esencial de limón al no presentar diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los procedimientos, se decidió trabajar sin remojo para reducir el tiempo de extracción del aceite esencial.



Luna (2007) estudio la extracción de aceite esencial de cuatro variedades de naranja (naranja común A y B, *tangelo* y *grey*) por el método de hidrodestilación asistida por microondas reportando que el remojo mejoró notablemente el rendimiento de los aceites esenciales, sobre todo el de la naranja *tangelo*, que presentó un aumento del 230%. Además de que hace mención que el remojo evitó que la parte del material biológico se quemara; estos resultados difieren con lo obtenido en este trabajo, ya que con el remojo se obtuvo una disminución del 22.35% para el aceite esencial de naranja, esto pudo deberse a los diferentes métodos de extracción de los aceites esenciales.

Andreatta *et al.* (2012) estudiaron aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación a partir de limón, orégano, peperina, laurel *E.Globulus* y *E. Camaldulensis*. reportando rendimientos del aceite esencial de limón del 2.935% donde secaron la cáscara de limón hasta obtener una humedad aproximada del 10%, empleando un tiempo de extracción de 2 horas, estos resultados difieren con los obtenidos, ya que se obtuvieron menores cantidades de aceite esencial de limón siendo hasta 3.5 veces menor que los reportados por Andreatta *et al.* (2012) con un mayor tiempo de extracción, a pesar de que la humedad de la cáscara de naranja no se controló, de mismo modo se realizó una disminución del tamaño de partícula en este experimento lo cual también realizó Andreatta *et al.* (2012) por lo cual puede deberse al control de humedad la diferencia entre los rendimientos obtenidos.

De acuerdo con Rojas *et al.* (2008) se han reportado rendimientos del 0.4% para los aceites esenciales de naranja y del 0.05% para los de mandarina extraídos por prensado en frío, reportando rendimientos para los mismos aceites (mandarina y naranja) obtenidos mediante destilación por arrastre de vapor de 0.2% y de 0.14%, mientras que para el aceite esencial de toronja obtuvo un rendimiento del 0.07% difiriendo con los resultados obtenidos en este proyecto donde se obtuvieron rendimientos de 1.4033 y 0.1508 % para el aceite esencial de naranja y toronja, respectivamente. Cabe mencionar que Rojas *et al.* (2008) atribuye la disminución de los rendimientos de los aceites esenciales en la técnica de destilación por arrastre de



vapor a la absorción de agua por el albedo, difiriendo con lo mencionado anteriormente con los trabajos de Luna (2007).

Por otro lado Soto *et al.* (2013) trabajaron en la caracterización química del aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi* L.) mediante el método de hidrodestilación donde obtuvieron un rendimiento final de 0.30% de aceite esencial de toronja, difiriendo con lo obtenido en este trabajo ya que se obtuvo entre 0.12% 0.15% de aceite esencial de toronja.

De lo que se concluye que existen diferentes factores externos e internos que influyen en la calidad y rendimiento del aceite esencial. Entre los factores externos se encuentra el clima, el suelo, enfermedades y plagas, las condiciones técnicas de cultivo, cosecha y postcosecha. Entre los factores internos se encuentra la variedad o selección dentro de una misma especie, etapa de desarrollo de una especie, a la parte vegetal que se utilice así como a las condiciones previas al proceso de extracción y el método de extracción del aceite esencial (Fontenla, 2006).

Asimismo, Fontenla (2006) menciona que el grado de madurez de la especie utilizada es uno de los factores más influyentes en el rendimiento y la composición del aceite esencial.

Las diferencias entre las cantidades relativas encontradas en este estudio y las reportadas en la bibliografía, pueden atribuirse a los diferentes factores anteriormente mencionados.

5.2. Análisis fisicoquímico de los aceites esenciales

El control analítico de los aceites esenciales permite determinar la calidad y el grado de pureza, además de ofrecer información sobre la tecnología de producción y el área geográfica de procedencia. El desarrollo de estos métodos está estrechamente ligado al proceso del conocimiento de la composición de los aceites esenciales para lo cual ha



sido determinante el desarrollo de las técnicas de análisis instrumental (Albaladejo, 1999).

Los parámetros fisicoquímicos de los aceites esenciales han constituido, junto a la evaluación sensorial, hasta la introducción del análisis instrumental el método más adecuado para definirlos y, aunque, no resultan muy específicos para cada una de las muestras, permiten detectar de forma rápida alteraciones en alguna de las fases de producción o son indicativos de la presencia más o menos destacada de algunos constituyentes del aceite (Liberti *et al.*, 1973). Sin embargo, las determinaciones tanto de carácter fisicoquímico como espectrofotométrico, presentan márgenes de valores más o menos amplios y esto implica la necesidad de utilizar otras técnicas complementarias en el control real de la genuidad y estado de conservación de un determinado aceite esencial (Albaladejo, 1999).

5.2.1. Color

Para un mismo método de extracción la medida de color de la muestra es el resultado de la madurez del fruto procesado, así como la variedad de cítrico o la zona de cultivo. Esta medida se viene realizando a simple vista calificando la tonalidad entre amarillo claro y verde amarillento (Albaladejo, 1999) para el aceite esencial de limón, mientras que Velázquez (2010), menciona que el aceite esencial de naranja es un líquido cristalino cuyo color varía del amarillo claro al anaranjado oscuro.

El valor numérico de “L” define la luminosidad y los parámetros “a” y “b” la cromaticidad. Cuando “a” toma valores negativos, la cromaticidad se aproxima al color verde, mientras que para valores de “a” positivos tiende hacia cromaticidad roja. En relación a la notación cromática de “b”, los valores más negativos, presentan tonalidad azul y los positivos tonalidad amarilla (Albaladejo, 1999) los valores obtenidos mediante determinación colorimétrica para dos aceites esenciales (naranja y limón) se describen en la Tabla 12.



Tabla 12. Parámetros cromáticos L*a*b* en aceite esencial de limón y naranja.

Parámetro	Naranja	Limón
L	43.11±1.82	45.70±2.59
a	0.61±0.03	-0.32±0.04
b	-1.71±0.11	0.76±0.06
Tono	70.34±1.92	67.21±2.58
Croma	1.81±0.10	0.81±0.07

Los valores representan la media de 5 repeticiones ± desviación estándar

Los valores de “a y b” para el aceite esencial de naranja se encuentran muy cercanos al cero lo que indicaron que es un color neutro o que son colores acromáticos (no tienen color). Por otro lado, los resultados obtenidos en el parámetro “b” del aceite esencial de limón (Tabla 12), indicaron que las muestras poseen un color amarillo y los valores de “a”, muestran una tendencia ligera a una coloración verde., por lo que se puede deducir que el aceite de limón es transparente con cierta tonalidad. Esta descripción corresponde a la apariencia descrita en la norma NMX-F-063-1978, que es un líquido cristalino cuyo color varia del amarillo claro al anaranjado oscuro.

De acuerdo a Albaladejo (1999) quién realizó un estudio de las características físico-químicas de 12 muestras de aceite esencial de limón producido en España reporta valores máximos para Luminosidad= 35.05, a= -0.78 y b=3.6, mientras que Velázquez (2010) reporta valores de 95.34, 0.024 y 0.70 para “Luminosidad, a y b” respectivamente en aceite esencial de naranja, difiriendo con los resultados obtenidos en este trabajo en “L”; ya que para el aceite esencial de naranja presenta 52.23 puntos por arriba de lo obtenido, mientras que para el aceite esencial de limón se encuentra a 10.35 puntos por debajo, por otra lado tanto Velázquez (2010) como Albaladejo (1999) presentan valores similares de los parámetros “a y b” ; los cuales se encuentran muy cercanos al cero, estas diferencias con respecto a los demás autores puede deberse los diferentes factores internos y externos que influyen en las características físicoquímicas de los aceites esenciales como son los métodos de extracción o las variedades y estado de madurez de los cítricos estudiados.



5.2.2. Densidad relativa

La densidad del aceite esencial de naranja a 25°C es de 0.833g/cm³, lo cual se acerca estrechamente con lo reportado en la Norma NMX-F-063-1978, de 0.842 - 0.846 g/cm³ para el aceite esencial de naranja, difiriendo con lo reportado con Luna (2007) y Velásquez (2010) donde obtuvieron una densidad de 0.850 y 0.848g/cm³, respectivamente (Tabla 13).

Tabla 13. Densidad del aceite esencial de naranja y limón.

Propiedad	Naranja	Limón
Densidad g/cm ³	0.833±0.002	0.874±0.008

Los valores representan la media de 3 repeticiones ± desviación estándar

Del mismo modo, la densidad del aceite esencial de limón a 25°C es de 0.874 g/cm³ difiriendo con el valor reportado por la Norma NMX-F-062-1974, donde reporta un valor mínimo de 0.855 g/cm³ y un máximo de 0.863 g/cm³ de igual modo con lo obtenido por Liberti *et al.*, (1973) quienes reportan un valor de 0.8575 g/cm³ y con los datos obtenidos por Di Giacomo y Mincione (1994) donde reportan una densidad de 0.8590 g/cm³.

De acuerdo a Ramírez (2008) la densidad de los aceites varía dependiendo de la especie y lugar de origen. Por otro lado, Fontenla (2006) menciona que las diferencias en los valores de densidad pueden deberse al método de extracción y a la trituration de la materia prima lo que puede ocasionar que ciertos compuestos se volatilicen antes de ingresar al equipo de destilación.

De acuerdo a lo reportado por Guenther (1948), es importante tener en cuenta que el valor de la densidad es un indicador de la calidad y pureza del aceite, cuando más alto el valor, el aceite es más puro, es decir, el componente activo se encuentra en mayor proporción. De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo el aceite esencial de limón tiene un alto grado de pureza ya que su densidad se encuentra por arriba de



0.874 g/cm³ mientras que el aceite esencial de limón presentó un densidad de 0.83% g/cm³ menor a la reportada por otros autores.

5.2.3. Índice de refracción

El índice de refracción observado en las muestras es de 1.4688 para el aceite esencial de naranja (Tabla 14), difiriendo con lo reportado en la Norma NMX-F-063-1978 donde se indican valores máximos y mínimos de 1.4720 y 1.4740 respectivamente, mientras que para el aceite esencial de limón se encontró muy cerca del intervalo reportado con la norma NMX-F-062-1974 donde reporta un valor mínimo de 1.4745 y un máximo de 1.4770.

Tabla 14. Índice de refracción del aceite esencial de limón y naranja

	Naranja	Limón
Índice de Refracción	1.4688±0.0005	1.4704±0.001

Los valores representan la media de 3 repeticiones ± desviación estándar

Los resultados registrados para este parámetro difieren con lo reportado por Viuda *et al.* (2008) donde reportan un índice de refracción del aceite esencial de la cáscara de naranja de 1.47 a 20°C.

Por otro lado Sinclair (1984), menciona que el índice de refracción disminuye al aumentar la temperatura y es directamente proporcional a la densidad, los valores encontrados en el aceite esencial de limón, permiten observar variaciones que no son significativas, mientras que las variaciones de aceite esencial de naranja pudieron ser afectadas por diversos factores como son: variaciones climáticas, riesgos, enfermedades entre otras sin embargo estos valores se encuentran muy cercanos del rango de los valores del aceite esencial de limón.

Fontela (2006) en su estudio indica que el índice de refracción está en estrecha relación con la calidad del aceite, a mayor índice de refracción es más puro y por lo



tanto de mayor calidad, de igual manera Velázquez (2010), atribuye la medición de esta propiedad como prueba fisicoquímica para el control de pureza y calidad de aceites puros mientras que Ramírez (2008), menciona que el grado de pureza está relacionado directamente con el porcentaje del principal componente del aceite esencial. De acuerdo con los valores obtenidos en este estudio y a lo reportado por Fontela (2006) y Ramírez (2008) el aceite esencial de limón presenta en mayor medida un alto de grado de pureza y calidad con respecto al aceite esencial de naranja.

5.2.4. Residuos a la evaporación

Los residuos a la evaporación representan la fracción no volátil del aceite esencial que generalmente está constituido por ceras, parafinas, camarinas, furocumarinas de carácter y componentes de elevado peso molecular. Parece estar relacionado con el tipo de proceso de extracción que produce un mayor o un menor esfuerzo mecánico sobre la corteza del fruto (Albaladejo, 1999).

Los aceites esenciales (AE) contienen entre 85-99% de componentes volátiles y 15.01% de componentes no volátiles. Los constituyentes volátiles son una mezcla de monoterpenos (limoneno) y los hidrocarburos de sesquiterpeno y sus derivados oxigenados incluyendo: aldehídos (cital), cetonas, ácidos, alcoholes (linalol) y ésteres (Fisher y Phillips, 2008). El limoneno es el componente químico principal de los AE de cítricos que va desde un 32 a un 98% (Espina *et al.*, 2011). En la determinación de residuos a la evaporación se obtuvieron los siguientes porcentajes que se presentan en la Tabla 15.

Tabla 15. Residuos a la evaporación del aceite esencial de naranja y limón.

	Naranja	Limón
Residuos a la evaporación (%)	0.964±0.133	3.777±0.276

Los valores representan la media de 3 repeticiones ± desviación estándar

Los resultados obtenidos en este proyecto son de 0.964 % para el aceite esencial de naranja, encontrándose dentro del intervalo reportado en la norma NMX-F-063-1978



donde el valor establecido es de un máximo de 5%, mientras que para el aceite esencial de limón se obtuvo un porcentaje de 3.77% el cual sobrepasa el intervalo presentado en la NMX-F-062-1974, donde se reporta un mínimo de 0.2% y un máximo de 2.2%. De acuerdo a Blanco *et al.* (1995) se ha observado que, en la cáscara de limón, la concentración máxima de compuestos volátiles es cuando el fruto está en la etapa de maduración intermedia, por lo que un mayor porcentaje en los residuos a la evaporación del aceite esencial de limón encontrado en esta investigación, indicarían que el fruto se encontraba en esta etapa de maduración.

5.3. Evaluación de las propiedades antifúngicas de los aceites esenciales.

La actividad antimicrobiana de aceites esenciales extraídos de plantas y especias adicionados en forma directa a sistemas modelo ha sido estudiada y evaluada constantemente durante los últimos años. Sin embargo, la actividad antimicrobiana de diversos aceites esenciales en fase vapor y su efectividad contra mohos, levaduras y bacterias empezó a investigarse recientemente, siendo aún escasos los aceites esenciales y los microorganismos evaluados (Reyes *et al.*, 2012).

El efecto antimicrobiano de los aceites esenciales es evaluado mediante pruebas *in vitro*, generalmente por el método de difusión en disco, donde un disco de filtro se impregna con el agente antimicrobiano colocado sobre la superficie de las placas de agar inoculadas y se observa la inhibición del crecimiento. A finales de la década de 1950 este método fue adaptado para la detección de vapores de AE colocando el disco de filtro en la tapa de la caja Petri (Maruzzella y Sicurella, 1960). Otro método de evaluación de la actividad antimicrobiana es hacer un pozo en el agar inoculado y añadir la sustancia de ensayo. Ninguno de los métodos de detección son cuantitativos y solo dan una indicación de las propiedades antimicrobianas que contienen (Fisher y Phillips, 2008) por otra parte, numerosas investigaciones indican el efecto antimicrobiano que tienen los aceites esenciales extraídos de plantas y especias (Reyes *et al.*, 2012) mostrando una actividad antifúngica contra patógenos postcosecha en un amplio intervalo de hongos (Ramos *et al.*, 2010).



5.3.1. Pruebas *in vitro* de capacidad antifúngica en *Botrytis cinerea*.

El poder antifúngico del aceite esencial de naranja, limón y la combinación de ambos aceites se evaluaron en tres concentraciones sobre el crecimiento micelial de *Botrytis cinerea*, los resultados obtenidos se muestran en la Figura 28.

La incidencia de la enfermedad causada por el hongo *Botrytis cinerea* tuvo una tendencia a aumentar, pero el crecimiento del hongo por la aplicación de las diferentes concentraciones de AE de naranja, limón y la combinación de estos fue retrasando el crecimiento micelial en comparación con el control, ya que este mostro un 100% de crecimiento al quinto día de estudio.

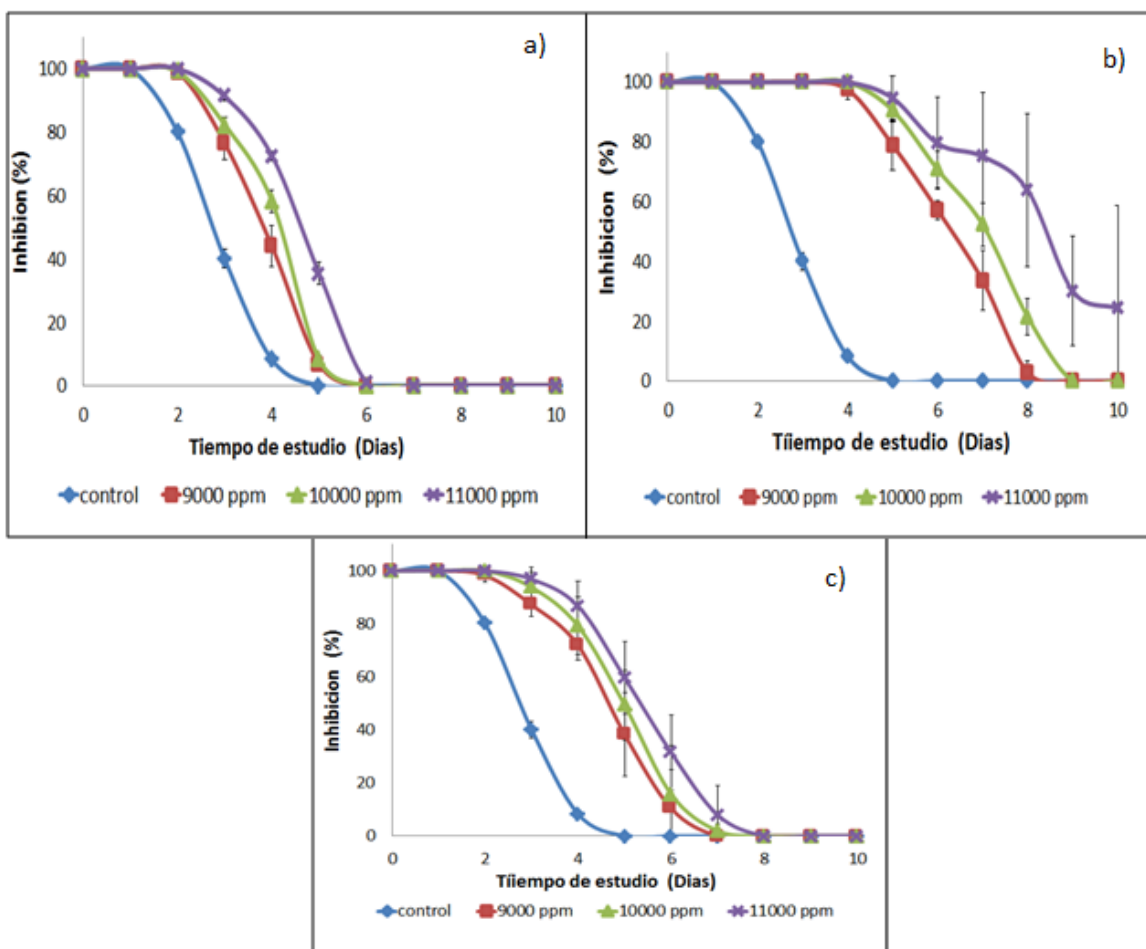


Figura 28. Porcentaje de inhibición de los aceites esenciales de (a) naranja, (b) limón y (c) la mezcla aceite esencial de limón y naranja (50-50%) en pruebas *in vitro* a tres distintas concentraciones (9000, 10000 y 11000 ppm). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



El aceite esencial de naranja (Figura 28a), presentó inhibición en el crecimiento micelial del hongo en los primeros dos días de la prueba *in vitro* con las diferentes concentraciones propuestas, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto al crecimiento micelial del control. A partir del cuarto día de incubación, se observó una disminución en la inhibición del crecimiento micelial en las tres concentraciones de aceite esencial propuesta siendo dicho porcentaje de 43.92, 58.21 y 72.5% para las concentraciones de 9000, 10000 y 11000 ppm respectivamente, registrando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la concentración de 11000 ppm en el porcentaje de inhibición con respecto a la demás concentraciones utilizadas y destacando que esta concentración inhibió en mayor medida el crecimiento del microorganismo. A partir del quinto día se observó que la inhibición en el crecimiento del hongo fue del 35.35% para la concentración de 11000 ppm, mientras que para las concentraciones de 9000 ppm y 10000 ppm el porcentaje de inhibición fue de 6.78 y 8.21% respectivamente; observándose que el efecto de los compuestos activos presentes en el aceite esencial de naranja tiene una actividad inicial de alrededor de 5 días sobre el crecimiento del hongo *Botrytis cinerea*.

Algunos estudios realizados por Viuda *et al.* (2008) quienes trabajaron con aceite esencial de naranja, limón y toronja para inhibir el crecimiento de dos variedades del hongo *Aspergillus* y *Penicillium*, reportan que a una concentración de 0.94% se inhibió por completo el crecimiento de *Aspergillus Níger*; siendo el AE de naranja el que produjo la mayor reducción en el crecimiento del micelio con este hongo en 0.27%, 0.47% y 0.71%, con reducciones porcentuales del 29.5%, 36.4% y 48.1%, respectivamente, lo cual indicaría que la efectividad del aceite esencial está en función no solo de la concentración empleada, sino también el tipo de microorganismo que se pretenda combatir. En el estudio realizado por Velázquez *et al.* (2013) sobre la actividad antifúngica del aceite esencial de la cáscara de naranja (*Citrus sinensis* var. Valencia) comparó la eficiencia antifúngica del aceite esencial en 6 concentraciones diferentes (500, 1000, 2000, 4000, 8000 y 16000 ppm) aplicándolo por la exposición al vapor y por la adición directa sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus*; en donde reportó una concentración mínima inhibitoria para el crecimiento de *A. flavus* por



adición directa de 16000ppm , mientras que para el contacto con vapor fue de 8000 ppm difiriendo con lo reportado en esta investigación; ya que a una concentración de 11000 ppm por contacto con vapor inhibió al hongo *Botrytis cinerea* en 5 días de estudio un 35.35%, también indicaron que para ambos métodos el crecimiento de *A. flavus* disminuyó al aumentar la concentración de AE, similar a lo observado en esta investigación, por otro lado menciona que el efecto del AE de la cáscara de naranja por adición directa es más rápido, mientras que los vapores del AE de naranja son más eficaces ya que se requieren concentraciones más bajas para conseguir el mismo efecto antifúngico.

En el caso del aceite esencial de limón (Figura 28b), se observó que el efecto inhibitorio fue mayor en comparación con el aceite esencial de naranja, obteniendo que para el cuarto día de incubación las tres concentraciones propuestas presentaron un 100% de inhibición en el crecimiento micelial de *Botrytis cinerea*, en el día cinco empieza un descenso en el porcentaje de inhibición en las concentraciones de 10000 y 11000 ppm con un porcentaje de inhibición de 90.53 y 94.64%, respectivamente, mientras que la concentración de 9000 ppm presentó un porcentaje de inhibición de 78.92%, disminuyendo gradualmente conforme pasaban los días de incubación, siendo la concentración de 11000 ppm, la que presentó mayor porcentaje de inhibición al día 10 de incubación (24.2%) observándose que el porcentaje de inhibición estuvo en función de la concentración del aceite utilizado, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto al control.

Viuda *et al.* (2008) quienes trabajaron con aceite esencial de naranja, limón y toronja para inhibir el crecimiento de dos variedades del hongo *Aspergillus* y *Penicillium* encontraron que el aceite esencial de limón fue el segundo más eficaz con reducciones en el crecimiento de micelio de 21.6, 26.0 y 40%, en concentraciones de 0.27, 0.47 y 0.71% respectivamente, durante 9 días de incubación de los hongos, mostrando así que el aceite esencial de naranja y limón poseen actividad antifúngica contra otros hongos además de *Botrytis cinerea*, además de que en este caso el aceite esencial de naranja fue el que presentó un mayor efecto antifúngico, difiriendo con los obtenido



en este estudio ya que el aceite esencial de limón fue el que registró un mayor efecto antifúngico frente al hongo *Botrytis cinerea*.

El efecto antifúngico de los aceites esenciales sobre el crecimiento del hongo se basa en el daño que ocasionan los compuestos bioactivos producido por un solo compuesto principal o por el efecto sinérgico o antagónico de diversos compuestos (Sharma y Tripathi, 2008) y mediante la reducción o inhibición total del crecimiento fúngico de una manera dosis respuesta (Viuda *et al.*, 2008). En el estudio realizado por Velázquez *et al.* (2013), identificaron al limoneno (representando el 96.62%), β -mirceno, β -pineno, α -pineno, así como citral Z y E, como los principales compuestos del aceite esencial de la cáscara de naranja. Mientras que Perdonés *et al.* (2016) identificaron al limoneno, γ -terpineno, β -pineno, mirceno, p-cimeno, sabineno, y α citral como los principales compuestos del aceite esencial de limón. Dichos compuestos mencionados anteriormente son los causantes de la actividad antifúngica y microbiana de cada uno de los aceites esenciales.

La efectividad antifúngica y antimicrobiana de los aceites esenciales de cítricos se ha demostrado en numerosas investigaciones, sin embargo, no se tiene un mecanismo de acción específico. De acuerdo a Aguilar *et al.* (2010) el mecanismo antimicrobiano puede ser un ataque a la bicapa de fosfolípidos de la membrana celular, la interrupción de los sistemas enzimáticos, la formación de hidropérido de ácido graso por la oxigenación de ácidos grasos insaturados, la coagulación del citoplasma; así como el flujo de lípidos y proteínas. Por otro lado, Viuda *et al.* (2008) sugiere que los componentes de los aceites esenciales cruzan la membrana celular, interactuando con las enzimas y proteínas de la membrana, produciendo así un flujo de protones hacia el exterior de la célula que induce cambios en las células y, en última instancia, la muerte.

Cristani *et al.* (2007) encontraron que la actividad antimicrobiana se relaciona con la capacidad de terpenos para no afectar solamente la permeabilidad, sino también otras funciones de las membranas celulares, estos compuestos podrían cruzar las



membranas celulares, penetrando así en el interior de la célula y la interacción con los sitios intracelulares críticos. Aunque se piensa que el grado de inhibición de los aceites puede atribuirse a la presencia de un núcleo aromático que contiene un grupo funcional polar entre otros factores como el balance hidrofílico/lipofílico; por ejemplo; los grupos fenólicos-OH que son muy reactivos y pueden fácilmente formar enlaces de hidrógeno con los sitios activos de las enzimas (Contreras y Olivares, 2014).

Por otra parte, varios autores han atribuido la capacidad antifúngica de los aceites esenciales de cítricos a la presencia de componentes tales como el D-limoneno, linalool o citral, a la formación de enlaces de hidrógeno entre el grupo hidroxilo de los compuestos fenólicos que están presentes en diferentes concentraciones de los AE de cítricos (Viuda *et al.*, 2008). Se han propuesto mecanismos de acción posibles por los cuales el crecimiento del micelio puede ser reducido o inhibido totalmente. Aguilar *et al.*, (2015) indicó que la inhibición del crecimiento micelial es causada por los monoterpenos presentes en los aceites esenciales. Estos componentes podrían aumentar la concentración de peróxidos lipídicos tales como hidroxilo, alcoxi y radicales peroxilo y así provocar la muerte celular. Para Sharma y Tripathi (2006), los aceites esenciales actúan sobre las hifas del micelio, provocando la salida de los componentes del citoplasma, la pérdida de rigidez y la integridad de la pared celular de la hifa, resultando en su colapso y muerte del micelio. Mientras que Hernández *et al* (2007) en su trabajo de investigación postula que los componentes de los aceites esenciales pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos.

Durante el tiempo de estudio se observó que al aumentar la concentración de aceite esencial se registró mayor poder inhibitorio sobre el hongo *Botrytis cinerea*, ya que la concentración de 11000 ppm fue la que presentó un mayor retraso en el crecimiento del hongo en el aceite esencial de naranja y la combinación de los aceites mientras que el aceite esencial de limón fue el único que inhibió el crecimiento micelial del hongo



en un 24.28 % al final del seguimiento en las pruebas *in vitro*. De acuerdo a lo anterior, los aceites esenciales de cítricos presentaron actividad antifúngica ante una gran variedad de hongos y bacterias la cual se ve incrementada conforme la concentración aumenta.

Los resultados obtenidos sobre el efecto inhibitorio del aceite esencial de limón difieren con los resultados presentados por Vitoratos *et al.* (2013), quienes trabajaron con aceite esencial de orégano, tomillo y limón para evaluar la actividad antifúngica mediante pruebas *in vitro* de *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* y *Penicillium digitatum*; ya que Vitoratos *et al.* (2013) reportaron que el hongo de *Botrytis cinerea* no mostro ningún crecimiento del micelio en presencia del aceite esencial de limón a una concentración de 17 $\mu\text{l/ml}$; el cual fue incorporado directamente en el agar. De igual manera *Botrytis cinerea* no mostró la germinación de esporas en presencia de los AE de limón y orégano a una concentración de 22 y 0.02 $\mu\text{l/ml}$, respectivamente. Por otra parte, Chuah *et al.* (2010) reportaron que los aceites esenciales de limón (*Citrus limon*) exhiben actividad antifúngica frente a *Fusarium oxysporum* y *Glomerella cingulata*.

Soylu *et al.* (2010), estudiaron la actividad antifúngica de diferentes plantas de aceites esenciales frente a *Botrytis cinerea* quienes evaluaron la actividad antifúngica de los aceites esenciales en contacto directo y en fase volátil sobre el crecimiento del micelio de *B. cinerea* donde se encontró que el efecto antifúngico de los aceites esenciales frente al crecimiento del micelio fue mayor que en contacto directo, ya que se encontró que el aceite esencial de orégano presentó efecto antifúngico a una concentración de 0.2 mg de aire/mL y 12.8 mg/mL en fase vapor y en contacto directo respectivamente, concordando con el estudio realizado por Velázquez *et al.* (2013) ya que ambos autores concluyen que en la fase de contacto directo se requieren concentraciones relativamente más altas para inhibir el crecimiento del micelio.

En el estudio por Kloucek *et al.* (2012) sobre el método de cribado rápido para la evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales en fase vapor estudiaron sesenta y nueve AEs para determinar su actividad antimicrobiana frente a



tres bacterias y tres hongos, donde encontraron que las cepas de hongos eran más susceptibles a los vapores de AEs que las bacterias. Las cepas más susceptibles fueron *A. Alternaria*, *A. niger* siendo inhibidos por 30 y 36 aceites esenciales respectivamente.

Los resultados obtenidos por la combinación de los aceites esenciales de naranja y limón (50-50%) (Figura 28c) indicaron en general que no se presentó sinergismo entre ambos aceites contra el hongo *Botrytis cinerea*, ya que al día 8 de estudio el porcentaje de inhibición fue del 0%; sin embargo existió un retraso del crecimiento micelial de 3 días con respecto al control. Estadísticamente en los primeros 5 días de estudio se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) de las tres concentraciones con respecto al control, mientras que la concentración que tuvo el mayor efecto inhibitorio fue a 11000 ppm teniendo un retraso del crecimiento del hongo por 7 días.

Aguilar *et al.* (2015) estudio la actividad antifúngica de los aceites esenciales de clavo, mostaza y la combinación de estos en fase vapor contra *Botrytis cinerea* en las fresas encontrando que el aceite esencial de clavo inhibe el hongo a una concentración de $92.56 \mu\text{L}/\text{L}$ de aire mientras que se necesitaron $15.42 \mu\text{L}/\text{L}$ de aire para el aceite esencial de mostaza. Por otra parte estudiaron las mezclas de los AEs de clavo y mostaza presentando sinergismo entre $\frac{1}{2}$ de la concentración mínima inhibitoria de AE de clavo y $\frac{1}{4}$ del AE de mostaza, mientras que para las pruebas *in vivo* en las fresas se necesitaron $11.57 \mu\text{L}/\text{L}$ de aire de aceite esencial de clavo de olor y $1.93 \mu\text{L}/\text{L}$ de aire de aceite esencial de mostaza. Concluyendo en su trabajo que el empleo de una combinación de aceites esenciales con un fuerte efecto antifúngico permite utilizar menos cantidades para lograr el mismo efecto, lo que podría causar un cambio más pequeño en los atributos sensoriales de la comida. De acuerdo a lo obtenido en este estudio no se encontró ningún efecto sinérgico en la combinación 50-50% de aceite esencial de limón y naranja sin embargo al día 5 de estudio presentó mayor porcentaje de inhibición (59.64%) con respecto al aceite esencial de naranja.

Hossain *et al.* (2016) en su trabajo de investigación determinaron la actividad sinérgica de ocho aceites esenciales derivados de plantas contra hongos patógenos de



los alimentos donde el orégano y el tomillo en combinación resultaron ser las muestras con mayor eficiencia contra *A. Flavus*, *A. parasiticus* y *P.chrysogenum*, de igual modo las mezclas de AE de hierbabuena y te de árbol produjeron un efecto sinérgico contra *A. niger*, mientras que la combinación del AE de mandarina y eucalipto no mostraron ninguna interacción en absoluto entre las especies de hongos estudiadas, los componentes que muestran actividades bajas pueden ser utilizados en combinaciones para aumentar su bioactividad y su actividad antifúngica de los compuestos volátiles.

En la Tabla 16 se muestra el crecimiento de *Botrytis cinerea* en el aceite esencial de naranja. En el día 0 el control presentó el color característico del agar PDA (amarillenta clara-transparente), como fueron transcurriendo los días el hongo fue presentando una coloración café claro, hasta alcanzar su máximo crecimiento micelial el cual se puede observar a partir del día 5, con el transcurso de los días el hongo fue tomando un color oscuro característico de *Botrytis cinerea* el cual está relacionado con su esporulación y maduración. Se observó que las concentraciones de 9000 y 10000 ppm presentaron su máximo crecimiento en el día 6 de incubación presentando la misma coloración que el control al final de los días de estudio. Por otro lado, la concentración de 11000 ppm al día 10 de estudio presentó una coloración café claro lo cual indica que el AE de naranja presentó un efecto en la germinación de espora concordando con lo reportado por Vitoratos *et al.* (2013).

En la Tabla 17 muestra el seguimiento fotográfico del aceite esencial de limón, donde se observó que la concentración de 9000 y 10000 ppm presentaron su máximo crecimiento micelial en el día 9, sin embargo, se apreció que el color del micelio fue blanco con una ligera coloración café debido a que el hongo no presentó una esporulación completa. En la concentración de 11000 ppm durante los 10 días de incubación no presentó esporulación, lo cual se debe a la incorporación del AE que son conocidos por ejercer actividad antimicrobiana.



En la Tabla 18 se muestran las pruebas *in vitro* utilizando la combinación del aceite esencial de naranja y limón (50-50%), se observó que la concentración de 9000 ppm alcanzó su máximo crecimiento micelial en el día 7; mientras que las concentraciones de 10000 y 11000 ppm lo hicieron en el día 8 de estudio. La combinación de los AE presentaron un mayor porcentaje de inhibición respecto al aceite esencial de naranja ya que alcanzaron su máximo crecimiento micelial entre el 8º y 9º día de incubación, sin embargo no se presentó un sinergismo como para inhibir el crecimiento micelial del hongo al final de los 10 días de estudio.

El uso de altas concentraciones de aceites esenciales puede implicar un impacto organoléptico, causado por alterar el sabor natural del alimento, por ello se han propuesto la mezcla de aceites esenciales con el propósito de encontrar un sinergismo entre los componentes y así minimizar las concentraciones de AE y reducir el efecto sensorial que puedan presentar en los alimentos. Ávila *et al.* (2012) mencionan que para reducir el impacto sensorial de los AE, una de las alternativas puede ser el uso de AE por contacto de vapor en lugar de su adicción directa para poder conseguir la inhibición microbiana a una distancia sin contacto directo del agente antimicrobiano con la comida.

Algunas investigaciones han reportado que el uso de los vapores generados por aceites esenciales tienen mayor efecto antimicrobiano en comparación con el contacto directo (Reyes y López, 2012) como es el caso de Inouye (2003) donde estudio los aceites esenciales de canela, tomillo y lavanda presentando un mayor porcentaje de inhibición por el contacto de vapor que por contacto directo. Siguiendo la misma línea Kleucek *et al.* (2012), mencionan que las cepas fúngicas son más susceptibles a los vapores de aceites esenciales que las bacterias; mientras que Tyagi y Malik, (2011) informaron que las concentraciones de monoterpenos en AE son los principales componentes de mayor actividad antimicrobiana en fase de vapor, que en contacto directo y depende de su presencia en forma gaseosa facilitar su solubilización en las membranas celulares.



Tabla 16. Seguimiento fotografico de la inhibición de crecimiento del hongo *Botrytis cinerea* por la actividad del aceite esencial de naranja a concentraciones de 9000, 1000 y 11000 ppm.


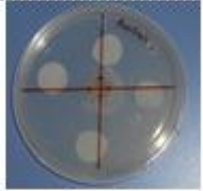
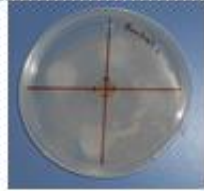
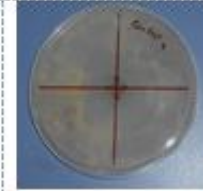

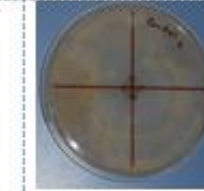



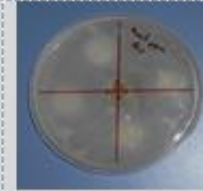


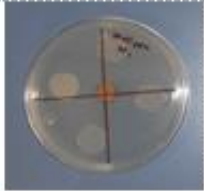
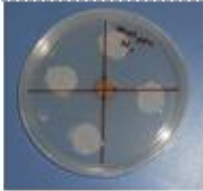
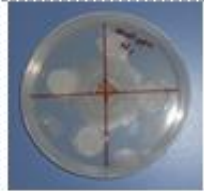
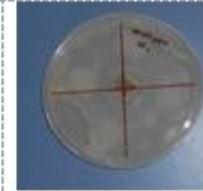
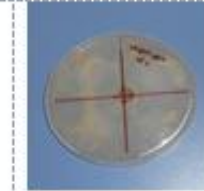
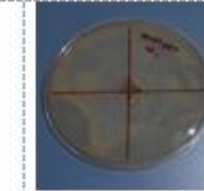






Naranja	Días					
	0	2	4	6	8	10
Control						
9000 ppm						
10000 ppm						
11000 ppm						



Tabla 17. Seguimiento fotografico de la inhibición de crecimiento del hongo *Botrytis cinerea* por la actividad del aceite esencial de limón a concentraciones de 9000, 1000 y 11000 ppm.


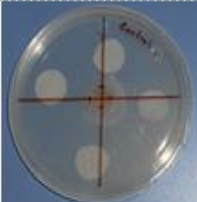

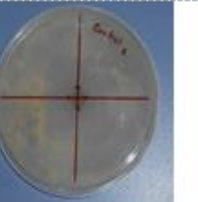

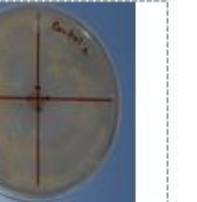


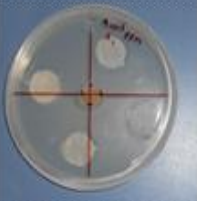
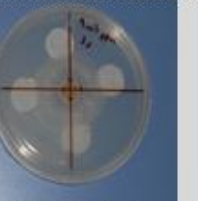

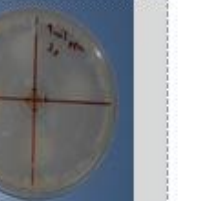

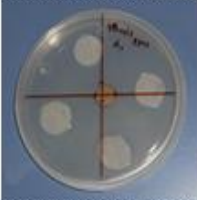

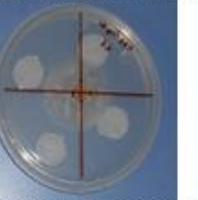





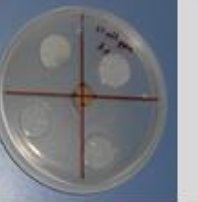

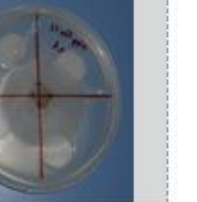
Limón	Días					
	0	2	4	6	8	10
Control						
9000 ppm						
10000 ppm						
11000 ppm						



Tabla 18. Seguimiento fotografico de la inhibición de crecimiento del hongo *Botrytis cinerea* por la actividad de la mezcla del aceite esencial de naranja y limón (50-50%) a concentraciones de 9000, 10000 y 11000 ppm.

Naranja-Limón 50-50%	Días					
	0	2	4	6	8	10
Control						
9000 ppm						
10000 ppm						
11000 ppm						



5.3.2. Pruebas *in vitro* de las propiedades antifúngica de los prototipos de envases activos.

Los efectos en la fase volátil del aceite esencial de limón se evaluaron en los dos prototipos de envase activo a una concentración de 11000 ppm sobre el crecimiento micelial de *Botrytis cinerea*, los resultados obtenidos se muestran en la Figura 29.

La adición del aceite esencial de limón en la matriz en forma de barniz y esferas presentó resultados diferentes a los obtenidos en las pruebas *in vitro*, ya que los prototipos evaluados presentaron una actividad antifúngica sobresaliente (Figura 29).

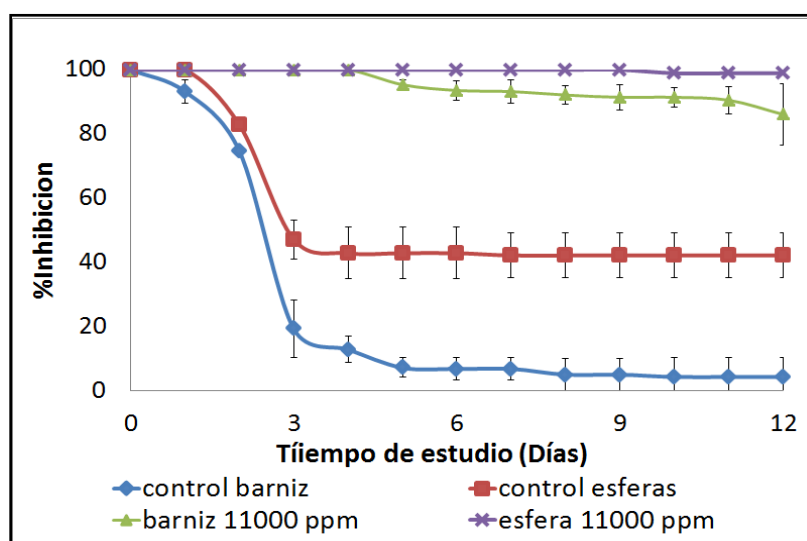


Figura 29. Porcentaje de inhibición de los prototipos de envases activos adicionados con aceite esencial de limón a una concentración de 11000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Durante los primeros cuatro días, las muestras control manifestaron un crecimiento micelial típico del moho *Botrytis cinerea*, con una tenencia de crecimiento de colonia circular con un micelio blanquecino y de aspecto lanoso; el cual se vuelve gris durante la esporulación (Sánchez, 2013) sobre el medio de cultivo PDA (Figura 29), sin embargo, los prototipos de envase mostraron inhibición en el crecimiento del hongo hasta el día 5 de estudio en donde se observó un 95.3 y 100% de inhibición para el prototipo en forma de barniz y esferas respectivamente adicionado con aceite esencial de limón, mientras que para el día 12 de estudio presentaron un porcentaje e



inhibición del 86.07 y 98.2% para el prototipo en forma de barniz y esfera respectivamente; viéndose afectado el crecimiento micelial del hongo en estudio.

La adición de las matrices poliméricas en las pruebas *in vitro* provocó alteraciones en el crecimiento normal y apariencia del moho al adaptarse a las nuevas condiciones, dichas alteraciones se manifestaron principalmente en una disminución notable en el crecimiento del hongo y por lo tanto en el desarrollo de conidios para el prototipo en forma de esferas, mientras que para el barniz no se desarrolló uniformemente además de que presentó una escasa esporulación. Se ha demostrado que los factores externos como la composición de los medio de cultivo, el pH, la temperatura y la humedad influyen profundamente en la composición de las paredes de los hongos y en su índice de esporulación (Valdés, 2014); esto pudo haber influenciado al cambio en las condiciones de crecimiento ya que los dos tipos de envases presentaron liberación de líquido lo cual afecto la humedad y está a su vez el desarrollo del hongo, viéndose afectado en mayor proporción el control con las esferas.

De acuerdo al análisis estadístico realizado para los controles de los prototipos en forma de barniz y esferas en el día 1 no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$), en el día 2 se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) para el prototipo en forma de esferas con un crecimiento micelial del 17.5 % y un 25.36 % para el prototipo en forma de barniz, del día 3 al día 12 no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$), en el crecimiento del hongo en estudio para cada control llegando a un porcentaje de crecimiento de 95.72 y 57.86 % para el prototipo en forma de barniz y esferas respectivamente, viéndose afectados por los factores anteriormente mencionados.

Para los prototipos de envases activos en el día 1 no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los dos prototipos, del día 2 al 12 se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a los controles utilizados. La aplicación de los diferentes tipos de envases en las pruebas *in vitro* presentaron un crecimiento máximo de 1.07 y 13.92% en los prototipos de esferas y barniz respectivamente, obteniendo un porcentaje de inhibición mayor al presentado en las pruebas *in vitro* de los aceites



esenciales, estadísticamente no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tratamientos.

Jonatova *et al.* (2015) evaluaron la actividad antifúngica frente a *Aspergillus niger* de siete componentes de aceites esenciales (carvacrol, cinamaldehído, dialil disulfuro, eugenol, timol y timoquinona) mediante la liberación controlada de los AEs en un material de sílice mesoporoso donde compararon la actividad antifúngica de la tasa de evaporación de los compuestos volátiles cuando se encapsularon en sílice y en estado puro. La actividad antifúngica de los AEs se confirmó en cinco de los siete compuestos ensayados, donde las sustancias encapsuladas mostraron significativamente mayor actividad antifúngica después de 14 días de estudio que la misma sustancia en estado puro.

Cristofoli *et al.* (2015) quienes evaluaron el efecto insecticida de aceites esenciales nanoencapsulados de *Zanthoxylum rhoifolium* (*Rutaceae*) en Bemisia tabaco, menciona que la protección proporcionada por nanoesferas PCL frente a la degradación de luz UV-acelerada después de 7 horas de exposición a la luz, in natura el aceite esencial sufrió un 94.33% de fotodegradación, mientras que la degradación de las nanoesferas fue solo de 44.76% durante el mismo periodo. La encapsulación de los aceites esenciales ofrece fotoprotección, prevención de los procesos oxidativos y de descomposición, además de proporcionar una mejor retención de compuestos volátiles dentro de las nanopartículas.



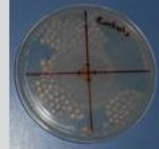


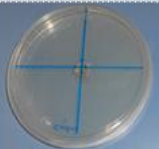
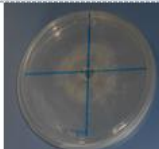
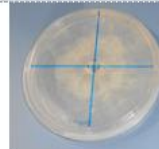
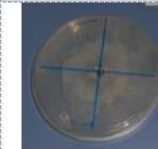
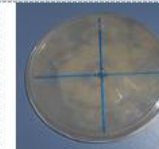
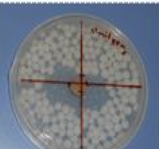
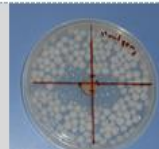
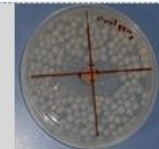
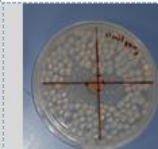
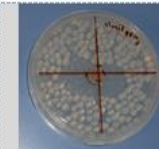
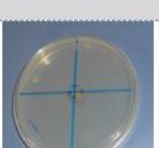

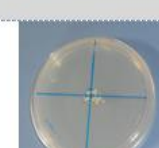


De acuerdo a lo anterior el empleo de una matriz para la liberación controlada de los aceites esenciales presenta una mayor actividad antimicrobiana frente a cepas de hongos y bacterias, lo que explica los resultados obtenidos en este trabajo, para la evaluación de los prototipos de los envases activos donde la capacidad antifúngica aumento considerablemente con respecto a las pruebas *in vitro* del aceite esencial.

En la Tabla 19 se presenta el seguimiento fotográfico del porcentaje de inhibición de los prototipos de envases activos, en la cual se observa que el crecimiento de los



controles tanto en la aplicación de barniz como de esferas se afectó y no se desarrolló por completo el hongo en estudio, esto fue debido a la modificación de las condiciones de crecimiento del hongo, el cual presentó un tono blanquecino, con poca esporulación, mientras que la adición de los aceite esenciales en ambos prototipos presentaron un porcentaje de crecimiento de 1.07 y 13.92% para el prototipo en forma de esferas y de barniz respectivamente.

Tabla 19. Seguimiento fotográfico de la inhibición del crecimiento del hongo *Botrytis cinerea* por la actividad de los prototipos de envases activos adicionados con aceite esencial de limón a 11000 ppm.

Tratamiento	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12
Control esferas					
Control barniz					
Esferas Limón 11000 ppm					
Barniz Limón 11000 ppm					



5.4. Efectos en los parámetros físicos de las fresas

5.4.1. Determinación de color

El color es un indicador muy importante en la calidad, frescura de la fruta y también para la estimación de la etapa de maduración (Muengkaew *et al.*, 2016), ya que dependiendo de éste el consumidor adquirirá o no el producto (Sánchez, 2013).

El color es el cambio más obvio que se presentan en muchos frutos y es a menudo, el principal criterio utilizado por los consumidores para determinar si un fruto está maduro o no. El color de las fresas está condicionado en parte por la concentración de antocianinas en la epidermis y en la corteza, por los tratamientos postcosecha que afectan la respiración y el oscurecimiento. El color también se ve afectado por las variables precosecha, como son la luz, la temperatura, y los factores nutricionales, ya que estos afectan la síntesis de antocianinas y el desarrollo del color de la fruta fresca (Alcántara, 2009).

5.4.1.1. Luminosidad

La luminosidad es la capacidad que tiene el objeto de reflejar la luz desde blanco hasta el negro (Pérez, 2013). La luminosidad en las frutas es un parámetro que es considerado de calidad ya que un producto luminoso es más atractivo para el consumidor debido a que es asociado con la frescura del producto. En la Figura 30 se puede observar los cambios ocasionados en la luminosidad de fresas por aplicación de los compuestos volátiles de aceite esencial de limón mediante los envases activos.

La luminosidad en las fresas no se afectó por la presencia del envase activo observándose que no hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la luminosidad durante el almacenamiento. El envase activo con las fresas sin inocular (F-EA) presentó una diferencia de luminosidad del 2.13% (27.00 a 27.58) mayor del primer al último día de tratamiento, mientras que las fresas en el envase activo inoculado (FI-EA) presentó un valor de 2.7% (28.45 a 29.23) respecto al primer al último día de tratamiento, este comportamiento fue de igual manera en los envases con las fresas control inoculado (F-I) y sin inocular (F) presentando un porcentaje de luminosidad del 7.6% (28.45 a 30.63) y 13.90% (27 a 30.76), respectivamente.

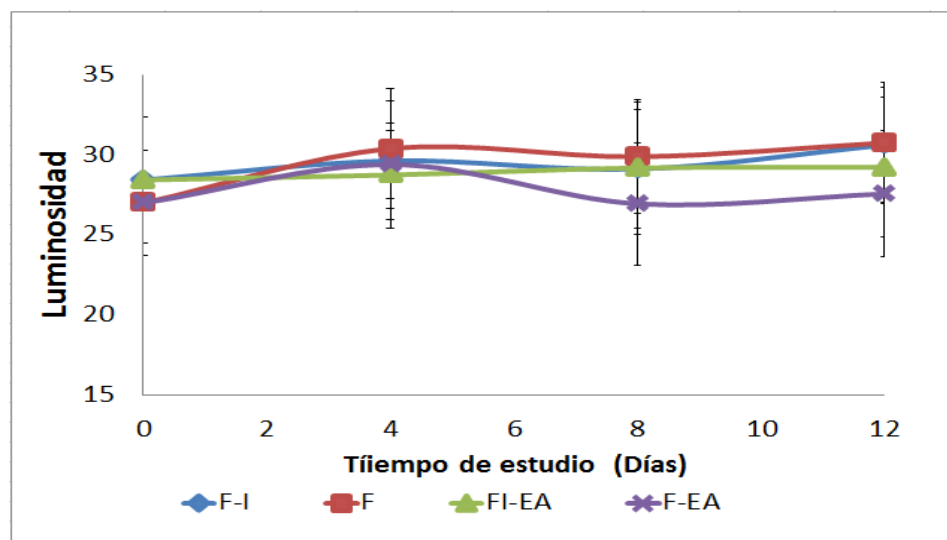


Figura 30. Cambios en la luminosidad de las fresas durante el almacenamiento en refrigeración. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Como se observa en los resultados anteriores existió un incremento en la luminosidad del día 0 al día 12 de almacenamiento de las fresas independientemente de su tratamiento, sin embargo en la aplicación de los envases activos con las fresas inoculadas y sin inocular; la luminosidad se vio afectada en menor porcentaje con respecto a los controles, esto se atribuyó a que la aplicación de los envases activos contribuyó a la disminución de este parámetro, ya que la presencia del microorganismo al llevar a cabo ciertas funciones de su metabolismo provoca cambios importantes en el fruto tales como ablandamiento del tejido, pérdida de solutos, cambios de color entre otros (Sanchez, 2013); por lo cual debido a la aplicación del envase activo en las fresas, estas liberaron menor líquido que los controles y por consecuencia presentaron un valores de luminosidad menores.

Los resultados obtenidos de luminosidad concuerdan con los obtenidos por Perdonés *et al.*, (2012) quienes trabajaron en la aplicación de un recubrimiento de aceite esencial de quitosano- limón en la calidad de almacenamiento de la fresa; ya que en su estudio los recubrimientos con aceite esencial de limón no afectaron significativamente los valores de L^* (luminosidad), mientras que la luminosidad



disminuyó durante el almacenamiento en las muestras control y en las recubiertas, lo cual se lo atribuyeron a la pérdida de humedad en la superficie, siendo las muestras recubiertas con películas de aceite esencial de limón, las que presentaron los mayores valores de luminosidad al final del almacenamiento, difiriendo con lo encontrado en el presente estudio ya que los envases activos con el aceite esencial de limón mostraron los valores más bajos de luminosidad al final del almacenamiento.

5.4.1.2. Croma

El parámetro de cromaticidad es un término que se utiliza en la evaluación del color, el cual indica la intensidad o saturación del color. En la Figura 31 se muestra el efecto de la aplicación de los envases activos adicionados con aceite esencial de limón en la cromaticidad de fresas.

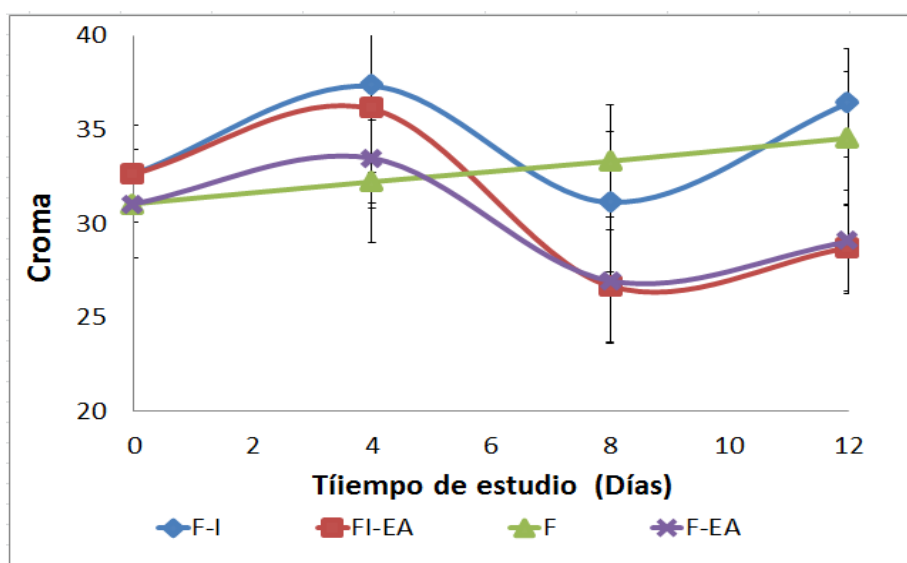


Figura 31. Cambios en el croma de las fresas durante el almacenamiento en refrigeración. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Los valores de cromaticidad de las fresas con los envases activos adicionados con AE de limón mostraron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) con respecto a los controles al final de los días de estudio. Los controles inoculado y sin inocular presentaron un aumento en la cromaticidad del 11.52 y 11.27 % respectivamente; en relación a los



días 0 al 12 mientras que las fresas inoculadas y sin inocular en los envases activos presentaron un descenso del 12.10% y 6.69%, respectivamente (Figura 31).

En el primer día las fresas almacenadas en los envases activos, así como los controles no mostraron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en los valores de cromaticidad entre los diferentes tratamientos; en el día 4 se observó un ligero aumento en los valores del croma en todos los tratamientos donde el control inoculado presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a los demás tratamientos mientras que del día 8 al día 12 de estudio los controles presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con las fresas almacenadas en los envases activos, presentando un comportamiento similar entre ellos; las fresas inoculadas y sin inocular almacenadas en el envase activo adicionado con aceite esencial de limón no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en relación del día 0 al día 12 de almacenamiento.

Estos resultados concuerdan con los reportados por (Pérez, 2013) quien trabajo con la aplicación de recubrimientos comestibles a base de oregano, Damiana y Gobernadora en fresas teniendo como resultado en el día 9 de estudio un mayor croma en las fresas control siendo un factor la aplicación de los envases activos en este parámetro ya que la diferencia pudo deberse al deterioro de los parámetros de color causado por el avance del proceso de maduración a lo largo del almacenamiento, ya que exhibieron un mayor croma.

De acuerdo a Martínez *et al.* (2008) la disminución del croma indica un cambio a colores menos vivos a intensos, asociados a los procesos de pudrición de las frutas, sin embargo en este estudio la aplicación del envase activo afectó de manera significativa el color en ese parámetro. De acuerdo con los resultados obtenidos utilizando un envase activo adicionado con aceite esencial de limón muestra un efecto sobre los parámetros de color y a pesar de no contar con otros trabajos específicos de aceite esencial de limón aplicado en fase vapor en fresa, indica cómo una modificación en la



atmósfera que rodea al fruto puede ocasionar cambios en sus características físicas y bioquímicas.

5.4.1.3. Tono (°Hue)

Un tono uniforme e intenso en la coloración de los frutos es un indicador importante de la madurez de los frutos en donde no hay cambios substanciales luego de ser cosechados (no climatéricos), además la pérdida de tono en un fruto otros factores pueden ser indicadores de reacciones enzimáticas durante la senescencia o incluso reacciones de ciertos microorganismos (González, 2010).

Las fresas que no fueron infectadas pero que se les colocó el aceite esencial de limón(F-EA) presentaron una menor tonalidad (Figura 32) en comparación con las infectadas en el envase activo (FI-EA), las fresas infectadas (F-I) y sin infectar (F) presentaron una tonalidad de 27.45 y 27.04 respectivamente mientras que para las fresas sin inocular (F) la tonalidad aumentó un 12.43% (24.05 a 27.04) y para las fresas inoculadas aumentó 8.45% (25.31 a 27.45) en contraste al primer y último día de almacenamiento, el envase activo sin inocular(F-EA) presentó una disminución en la tonalidad del 5.40% del día 0 al 12 de almacenamiento mientras que para las fresas inoculadas en envase activo no se vio afectada desde el inicio del estudio ya que los valores fueron de 25.31 a 25.46 del inicio al final del almacenamiento respectivamente con un aumento del 0.59% en la tonalidad.

El análisis estadístico mostró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el día 12 de almacenamiento para las fresas controles infectadas (F-I) y sin infectar (F) con respecto a los envases activos utilizados. En el desarrollo de la experimentación se observó que la tonalidad de las fresas principalmente en la aplicación de los envases activos infectados y sin infectar con el hongo *B. cinérea* estadísticamente no presentaron cambios significativos ($p \geq 0.05$) en el color con respecto al primer y último día de almacenamiento, dichos cambios se relacionan con la aplicación del aceite esencial ya que la maduración de los frutos debido a la síntesis de ciertos compuestos cromáticos (antocianinas principalmente) propiciados por procesos



metabólicos como la respiración, provocan aumento en la tonalidad de los frutos (colores más oscuros) así como la degradación de estos compuestos debido al envejecimiento natural de los frutos (senescencia) o por la presencia del hongo (Sánchez, 2013).

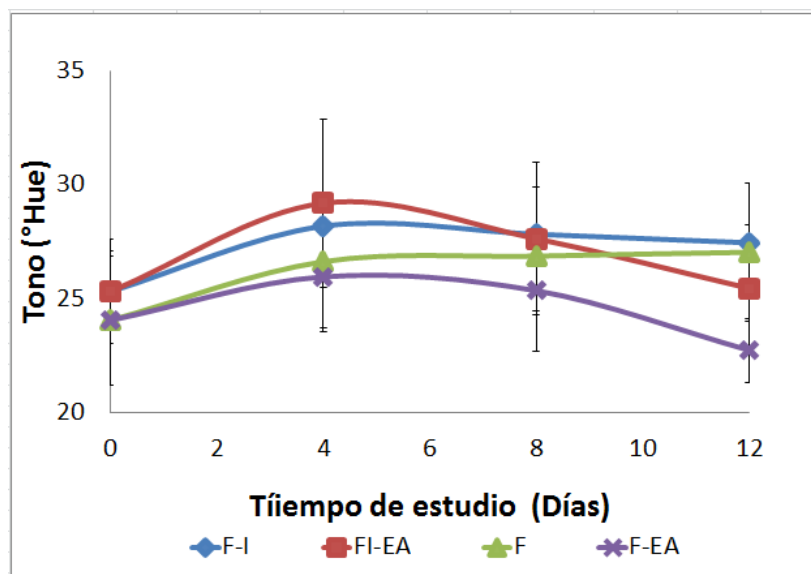


Figura 32. Cambios en el tono de las fresas durante el almacenamiento en refrigeración. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Perdonés *et al.* (2012) en su trabajo de investigación el tono de las muestras se mantuvo prácticamente constante durante todo el tiempo de almacenamiento y solo disminuyó significativamente entre el día 11 y 14 de almacenamiento, mientras que las muestras tratadas con recubrimientos que contenían aceite esencial de limón fueron significativamente más rojas (valores inferiores) que el control y las muestras recubiertas con quitosano.

Básicamente se observó que, durante el almacenamiento, las muestras se hicieron más oscuras, con un tono más rojo y menos vivo mientras que la aplicación de los envases activos adicionados con aceites esenciales dio lugar a muestras más tenues y más tonos rojos al final del almacenamiento atribuyéndoselo a los procesos enzimáticos que dan como resultado una pérdida de calidad.



5.4.2. Firmeza

La firmeza es un parámetro importante en la calidad de la fruta fresca, que disminuye durante el almacenamiento como resultado de la degradación de la pared celular, la pérdida de turgencia (Guerreiro *et al.*, 2015), también está ligada con los cambios fisicoquímicos y estructurales del material biológico, así como los diferentes estados durante el proceso de maduración, es un factor importante para definir la calidad del fruto y de gran aceptabilidad para el consumidor (Valero y Serrano, 2010).

En la Figura 33 se muestra el efecto de la aplicación de los envases activos adicionados con aceite esencial de limón sobre la evolución de la firmeza en fresas.

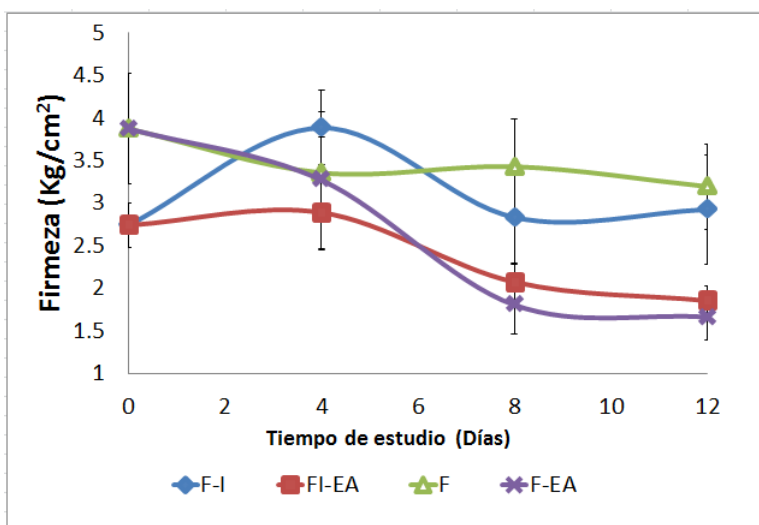


Figura 33. Firmeza de las fresas durante el almacenamiento en envases activos. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Las fresas con los diferentes tratamientos registraron una disminución en la firmeza con respecto al tiempo de almacenamiento. Para el caso de las fresas con el envase activo (F-EA) se observa que el efecto de la aplicación del envase activo influyó en la degradación de las paredes celulares de las fresas del inicio al final del almacenamiento, ya que presentaron una pérdida de firmeza del 32.1% y 56.84% para las fresas almacenadas en el envase activo inoculadas y sin inocular respectivamente, mientras que las fresas control (F) presentaron un 17.31% de disminución en la firmeza al final del tratamiento.



En la Figura 33 se observa que al día 1 las fresas inoculadas en el envase activo y el control inoculado fueron estadísticamente iguales ($p \leq 0.05$), siendo un 29.19% menos firmes en comparación con las fresas sin inocular, esto se le atribuyó al pretratamiento de las fresas ya que un exceso de humedad afectó la firmeza de las fresas inoculadas. En el día 4 de almacenamiento las fresas control inoculadas (F-I) aumentaron la firmeza (3.8Kg/cm^2), de acuerdo a Almenar (2005), podría relacionarse con diferentes factores ya sea por su actuación independiente o conjunta: endurecimiento de la epidermis de la fresa por pérdida de peso del fruto durante el almacenamiento y por la disminución de la permeabilidad del material y la temperatura se produce una mayor estabilidad en el fruto lo que se debe a la acumulación de CO_2 en el interior del envase que con el tiempo genera ácido carbónico que termina disociándose y dando lugar a variaciones en el pH apoplástico.

En el día 8 y 12 de estudio las fresas inoculadas y sin inocular almacenadas en el envase activo presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a los controles empleados (F y F-I) viéndose afectados por la presencia del aceite esencial de limón. Cabe mencionar que también se atribuye la pérdida de firmeza en los prototipos de envases activos a la liberación de líquido por parte de la encapsulación del aceite esencial.

Los resultados de firmeza concuerdan con lo reportado por Perdonés *et al.* (2016) quienes aplicaron o un recubrimiento de quitosano-AE limón a fresas en almacenamiento, ya que para ambos estudios el empleo de aceite esencial de limón presentó una disminución marcada en este parámetro, lo que sugiere que los compuestos del aceite esencial afectan los patrones metabólicos de la fruta.

En el estudio realizado por Nikos y Tzortzakis (2007) evaluaron el efecto del aceite esencial de canela sobre la actividad en los atributos relacionados con la calidad de los frutos, menciona que el resultado de la pérdida de firmeza se debe que las matrices de la pared celular, especialmente pectinas, se someten a la interrupción



durante la maduración del fruto y son estas las modificaciones que se cree que deben ser controladas por aceites volátiles que son responsables de la disminución de la firmeza de los tejidos que acompaña la maduración.

5.4.3. Pérdida de peso

La pérdida de peso de agua es una de las causas más importantes del deterioro durante el almacenamiento. El principal mecanismo de pérdida de peso en frutas frescas y vegetales es la pérdida de humedad mediante la difusión del vapor de agua, esto se debe a un gradiente de presión entre el interior y el exterior del fruto (Figueroa *et al.*, 2011) dando lugar al encogimiento y marchitamiento del producto (Hardenburg *et al.*, 1988).

La fresa presenta una elevada tasa de transpiración, produciendo pérdida de agua que implica arrugamiento (aspecto envejecido) disminución de peso comercial y descenso de la calidad sensorial, afectando la apariencia, textura y jugosidad del fruto.

En la mayoría de los frutos la pérdida del 3-5 % del peso inicial en forma de agua transpirada son suficientes para promover un aspecto arrugado, perdiendo su apariencia externa inicial problema todavía más notable en el caso de las fresas, pues debido a su fina piel no poseen una buena barrera exterior con que retener el agua. La pérdida de este parámetro de calidad implica en la fresa un mayor encogimiento y una disminución de su brillo, siendo por ello el 6% la máxima pérdida de peso aconsejable para este fruto durante su comercialización (Almenar, 2005).

En la Figura 34 se observa la pérdida de peso en fresa mediante la aplicación del prototipo del envase activo.

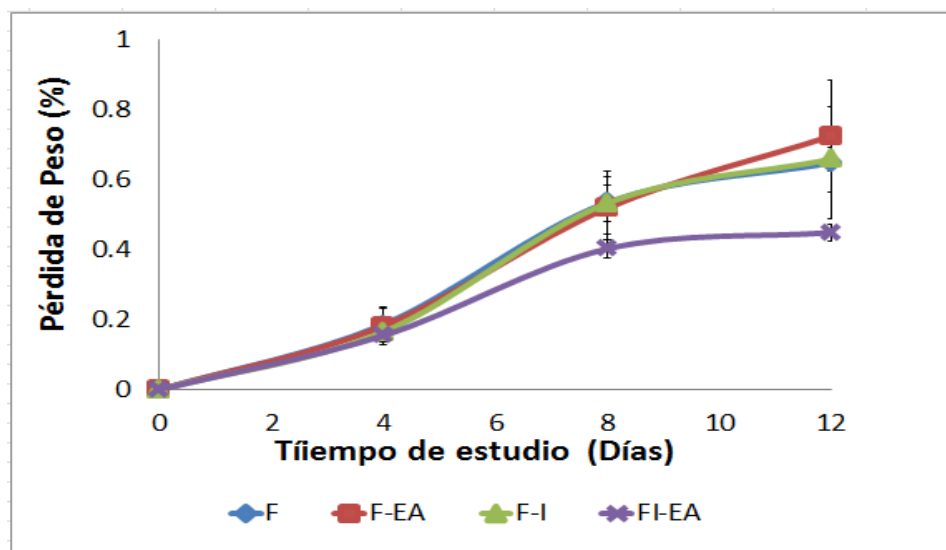


Figura 34. Pérdida de peso de las fresas durante el almacenamiento en envases activos. . Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Las fresas inoculadas almacenadas en el envase activo fueron las que presentaron menor pérdida de peso desde el principio y hasta el final de los días de estudio, con valores de 0.15% a 0.44% respectivamente, sin presentar diferencia significativa ($p \geq 0.05$) con respecto a los demás parámetros; mientras que las fresas sin inocular en el envase activo fueron las que presentaron mayor pérdida de peso con un 0.72%. Estadísticamente no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en las fresas inoculadas y sin inocular almacenadas en los envases activos desde el inicio (día cero) hasta el final del almacenamiento.

La pérdida de agua es el resultado del gradiente de presión de vapor de agua entre la atmosfera interna (espacios intercelulares saturados) y la atmosfera externa (menos saturados). De esta manera la permeabilidad al vapor de agua que ofrecieron los envases activos fue dependiente del material, ya que estos fueron completamente sellados y no se permitió el flujo de vapor hacia el exterior del envase.

Los resultados concuerdan con lo reportado por Almenar, (2005), quien evaluó el efecto antifúngico de diferentes materiales de envases en fresas mediante atmosferas



modificadas donde se obtuvieron pérdidas de 0.5 a 1% para los envases Politereftelato (P), películas de Pet (P1), películas de polietileno metolocénico P2, P3, similar a lo obtenido en este trabajo, mientras que para el envase de PVC se obtuvieron perdidas de peso mayores al 3%, esto se debió a las distintas permeabilidades a la humedad de los materiales utilizado. El comportamiento de las fresas en este trabajo pudo verse afectado por el tipo de envase empleado ya que este esté presente condensado en la superficie del envase, de igual manera las almohadillas empleadas para la colocación de las esferas que contenían el aceite esencial de limón, presentaron humedad debido a que las esferas presentaron liberación de líquido.

5.4.4. Índice de decaimiento

El índice de decaimiento se evaluó cada 4 días durante el transcurso del almacenamiento, para determinar los síntomas causados por la presencia del hongo *Botrytis cinerea* en las fresas, se evaluó mediante una escala subjetiva establecida en el apartado 4.8.2.4 determinación de índice de decaimiento.

En la Figura 35 se observa el índice de decaimiento de las fresas mediante la aplicación del prototipo del envase activo.

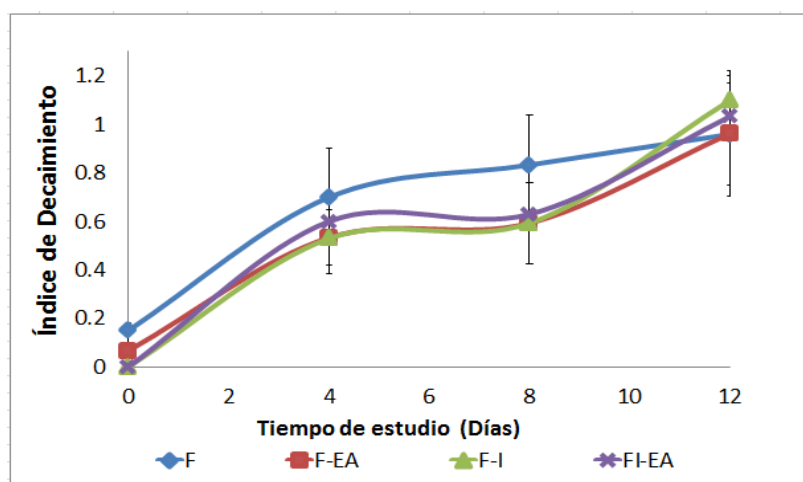


Figura 35. Índice de decaimiento de las fresas durante el almacenamiento en envases activos. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



Al inicio del almacenamiento las fresas control sin inocular e inoculadas (Figura 35) presentaron un índice de decaimiento de 0.15 y 1 respectivamente, mientras que para las fresas inoculadas y sin inocular almacenadas en el envase activo adicionado con aceite esencial de limón presentaron un índice de decaimiento de 0. Estadísticamente no se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en las frutas almacenadas en los envases activos y los controles al comienzo del almacenamiento.

















Al final del almacenamiento (12 días) las fresas con los tratamientos que presentaron menor índice de decaimiento fueron las fresas en el envase activo sin inocular y las fresas control seguido de las fresas inoculadas en el envase activo y el control inoculado con 1.03 y 1.1 respectivamente. Estadísticamente en el índice de decaimiento los envases activos, así como los controles no presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

El empleo de los envases activos adicionados con aceite esencial de limón, presentaron el menor índice de decaimiento sobre las fresas, al final del estudio sin embargo no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) con respecto a los controles, cabe mencionar que los valores son mínimos por lo que no se presentó un efecto antifúngico por parte del aceite esencial de limón.

La evaluación de los vapores de aceites esenciales es una nueva aplicación donde se tienen pocos estudios sobre el control microbiológico *in vivo* en frutos. En la Tabla 20 se observa el grado de deterioro de las fresas almacenadas en los envases activos durante el tiempo de estudio (12 días).



Tabla 20. Seguimiento fotográfico de las fresas almacenadas en un envase activo adicionado con aceite esencial de limón a 11000 ppm para el parámetro de índice de decaimiento.

Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 8	Día 12
Fresas Control				
Fresas Inoculadas				
Fresas con Envase activo sin Inocular				
Fresas Inoculadas en Envase Activo				

5.5. Parámetros fisicoquímicos

5.5.1. pH

La medición de pH se traduce en conocer el ion hidrógeno que es de utilidad para la conservación de alimentos y en el deterioro de estos, ya que pueden presentarse cambios debido a la acción enzimática y el desarrollo de microorganismos (Navarrete, 2009). La disminución o aumento del pH en los frutos, se atribuye al menor o mayor contenido de ácidos orgánicos presentes en forma ionizada en el tejido vegetal (Salisbury y Ross, 1994). Los cambios de pH en las fresa almacenadas en lo prototipo de envases activos adicionados con aceites esenciales se muestran en la Figura 36.

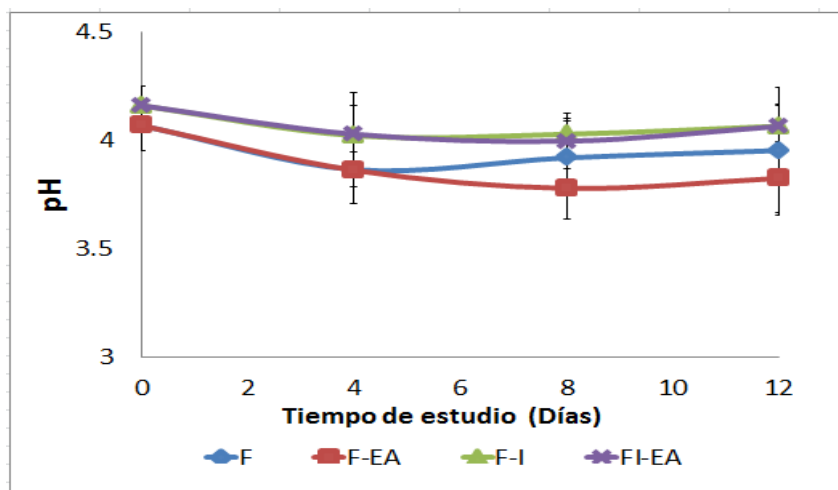


Figura 36. Cambios de pH de las fresas durante el almacenamiento en envases activos. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

El cambio de pH está en función del tiempo de almacenamiento, se observó disminución a partir del día 4, y se apreció diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre el día 8 y 12 de almacenamiento para las pruebas infectadas con respecto a las pruebas sin infectar, aunque los intervalos de variación en las fresas sin infectar son mínimos.

Al inicio del almacenamiento las fresas infectadas con los distintos tratamientos presentaron un pH promedio de 4.16 mientras que las fresas sin infectar presentaron un pH promedio de 4.06, donde estas se vieron más afectadas por el tratamiento de infección por el hongo en estudio que por la aplicación de los envases activos.

La aplicación de los envases activos no provocó modificaciones para este parámetro ya que las fresas control así como los diferentes tratamientos aplicados disminuyeron los valores de pH a lo largo del almacenamiento, por lo que los envases no afectaron el curso de la maduración de las fresas.

De acuerdo a Trejo (2015) en su trabajo de extracción del aceite esencial de eucalipto aplicado como agente antifúngico en un envase activo para conservar frambuesa menciona que la disminución del pH en los primeros días de almacenamiento es



consecuencia del stress al cual se somete el fruto, ya que una vez arrancado de la planta durante los primeros días se ve obligado a gastar parte de sus ácidos orgánicos como parte de sus procesos metabólicos.

A partir del día 8 hasta el último día de almacenamiento se muestra diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el pH de los frutos control inoculado; así como del prototipo del envase activo con fresas inoculadas con respecto al control y prototipo del envase activo con fresas si inocular. Las fresas almacenadas con el envase activo sin inocular y el control sin inocular, tuvieron un valor similar de pH, por lo que no se mostró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en este parámetro, esto debido a que la aplicación del aceite esencial de limón mediante el envase activo no presentó modificaciones en este parámetro.

Al final del almacenamiento se observó una disminución del pH de todas las fresas sin importar el tratamiento, las fresas control sin infectar presentaron una disminución del 2.9%, el control infectado presentó una disminución del 2.42%; mientras que la aplicación del aceite esencial de limón en las fresas infectadas presentaron una disminución del 2.64% y las fresas sin infectar una disminución del 5.9%; siendo éstas las que registraron la mayor disminución de pH a lo largo del almacenamiento.

Los resultados obtenidos para este parámetro coinciden con los obtenidos por Perdonés *et al.* (2012) quienes evaluaron la aplicación de un recubrimiento adicionado con aceite esencial de limón, donde los valores de pH fueron significativamente más bajos al final del almacenamiento, indicando que apunta a un posible efecto de los componentes de aceite esencial sobre la actividad metabólica de la fruta, contrario a lo observado en esta investigación ya que la aplicación del envase activo en las fresa, no afectó este parámetro fisicoquímico, por parte de la aplicación de los envases activos en las fresas.

Estos resultados difieren con los de González (2010), quien hizo una conservación de mora, morilla y frutilla mediante la utilización de aceite esencial de canela



(*Cimamomum zeynalicum*) con recubrimientos a tres concentraciones diferentes, obtuvo como resultado que al final del periodo de almacenamiento, todos los tratamientos mostraron un aumento en su pH con respecto al primer día de estudio del control, debido a que las frutillas al ir sufriendo el proceso normal de maduración por los procesos fisiológicos cambian sus características fisicoquímicas disminuyendo el porcentaje de acidez y aumentando el pH y sus características organolépticas a causa de estos cambios.

5.5.2. Acidez titulable

Los ácidos orgánicos se encuentran circulando en los tejidos vegetales tras la recolección y tienden a disminuir durante la fase de senescencia. La mayor parte de esta pérdida se debe a su oxidación en el metabolismo respiratorio, la reacción que se traduce en un incremento del cociente de respiración (Navarrete, 2009).

En la Figura 37 se presentan los resultados del porcentaje de acidez titulable de los diferentes tratamientos aplicados a las fresas donde no se tuvieron grandes cambios en los frutos durante el tiempo de almacenamiento.

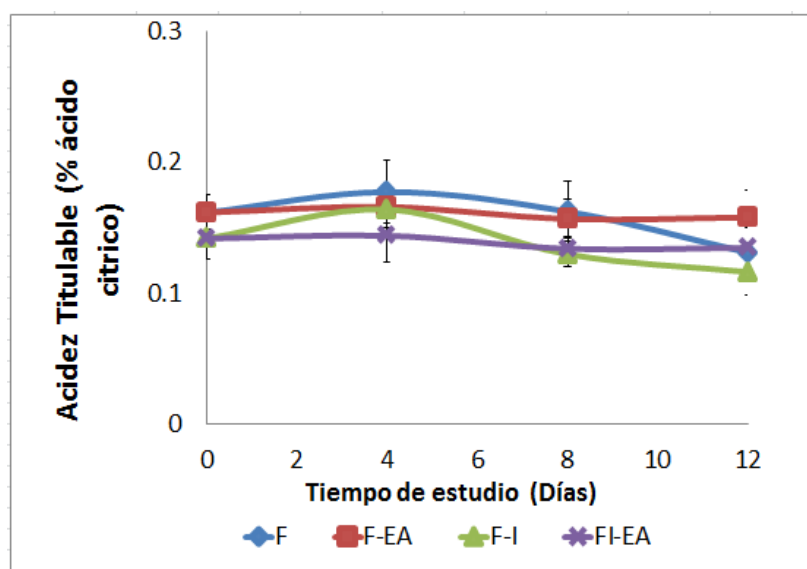


Figura 37. Cambios en la acidez titulable de las fresas durante el almacenamiento en envases activos. . Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



La acidez de las fresas tuvo una tendencia a disminuir con respecto al tiempo, tanto en los controles, así como en las tratadas con la aplicación del envase activo del aceite esencial de limón, de igual forma en ambos casos las fresas infectadas y sin infectar (F-I y F) mostraron un aumento de acidez de 18.43 y 19.25% respectivamente en comparación con las fresas adicionadas con aceite esencial de limón quienes presentaron un 2.48 y 4.96% para las fresas infectadas y sin infectar, respectivamente.

Las fresas inoculadas como la aplicación del envase activo en las fresas inoculadas fueron estadísticamente iguales ($p \geq 0.05$) al 1er día de almacenamiento, mientras que las fresas sin inocular y la aplicación del envase activo en las fresas sin inocular fueron estadísticamente iguales ($p \geq 0.05$). Al término del estudio (día 12) las fresas almacenadas en el envase activo sin inocular (F-EA) presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la acidez de los frutos con respecto a los frutos almacenado en los envases control, así como en los frutos inoculados y almacenados en el envase activo, siendo las fresas sin inocular almacenadas en el envase activo las que presentaron menor pérdida de acidez (2.48%). estos resultados se pudieron deber a que la acidez disminuyó con la senescencia.

De acuerdo a González (2010) con el aumento de la maduración se observa un descenso uniforme del contenido de la acidez titulable, lo que indica que se están utilizando los ácidos del fruto como sustrato de respiración, debido a que los ácidos, en comparación con los carbohidratos, contienen, por cada átomo de C y H, más átomos de O y así, la liberación de CO_2 es mayor que la toma de O_2 .

Solon *et al.* (2005) en su trabajo de investigación menciona que la concentración de ácidos orgánicos tiende a disminuir en la mayoría de los frutos debido a la utilización de los mismos como sustrato respiratorio como esqueletos de carbono, para la síntesis de nuevos compuestos.



Se concluye que la aplicación de los envases activos adicionados con aceite esencial de limón, presentaron el menor porcentaje de disminución de acidez sobre las fresas, como al principio del estudio, por lo que retrasa la senescencia del fruto, ya que cuando el fruto madura baja el nivel de acidez (Wills *et al.*, 1998), y posiblemente debido a que el aceite esencial de limón, disminuyó la frecuencia respiratoria de las fresas y retrasó la utilización de los ácidos orgánicos en las reacciones enzimáticas, lo cual ocurrió con las fresas en los diferentes tratamientos.

5.5.3. Sólidos solubles

El momento de la recolección está condicionada por el comportamiento climatérico o no climatérico del producto, paralelo a este momento el fruto lleva a cabo el proceso de maduración en el que los frutos generan cambios químicos en los carbohidratos de la pared celular, que al degradarse incrementan el nivel de azúcares contribuyendo a mejorar la palatabilidad del fruto (Cabrera y Rivera, 2015). La presencia de azúcares en los frutos es importante ya que define aspectos importantes de calidad y tiene el doble efecto de alterar tanto el sabor como la textura del producto (Pérez, 2013). En la Figura 38. Se muestran los cambios en los sólidos solubles de las fresas almacenadas en el envase activo adicionado con aceite esencial de limón. Al transcurso de los 12 días de almacenamiento la tendencia de aumento de sólidos solubles de las fresas fue evidente en el control inoculado (F-I), así como en los envases activos con fresas inoculadas (FI-EA) y sin inocular (F-EA); mientras que las fresas almacenadas en el envase control (F) presentaron una disminución de los sólidos solubles del 4.37% al último día de almacenamiento.

Al inicio del almacenamiento las fresas inoculadas presentaron valores de 5.9 °Brix, mientras que para las fresas sin inocular fue de 7.54 °Brix, estadísticamente presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) las fresas inoculadas y las fresas sin inocular independiente del envasado al que se sometieron.

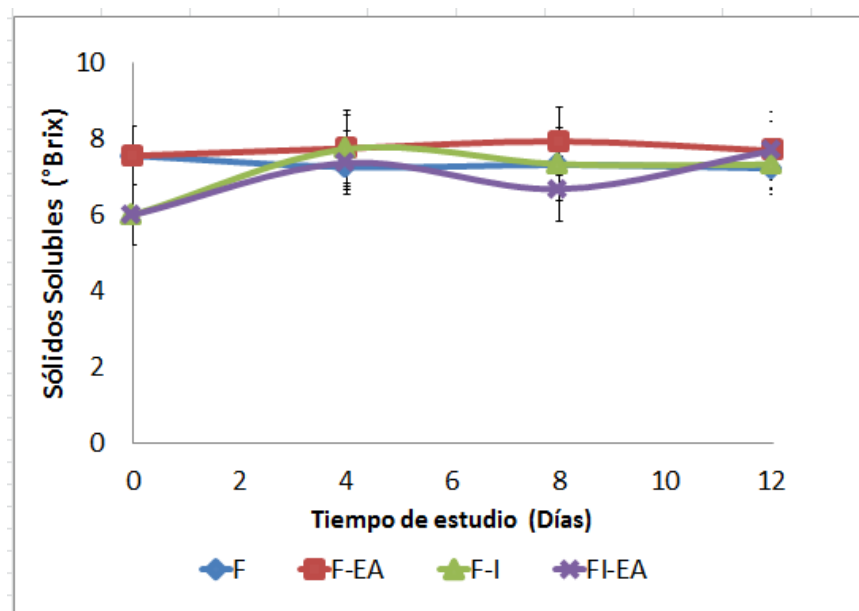


Figura 38. Sólidos solubles de las fresas durante el almacenamiento en envases activos. . Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Por su parte las fresas inoculadas y almacenadas en el envase activo (FI-EA) obtuvieron los sólidos solubles más altos en un 28.21%, seguido del control inoculado y del envase activo con fresas sin inocular con un 19.3 y 1.72%, respectivamente al final del almacenamiento (12 días). Estadísticamente se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el 1er día de almacenamiento de las fresas inoculadas y sin inocular; mientras que del día 4 al día 12 de almacenamiento no se presentó diferencia significativa en el contenido de sólidos solubles en los diferentes tratamientos empleados así como en los controles.

Debido a que no se presentó diferencia significativa en ninguno de los tratamientos empleados se confirmó que la aplicación de los envases activos adicionados con aceite esencial de limón no modificó la concentración de los sólidos solubles durante el almacenamiento. Se observó un ligero aumento de los sólidos solubles, dicho incremento se espera durante la maduración esto debido a que la protopectina en la paredes celulares se hidrolizan a pectinas solubles, mientras que el descenso de los sólidos solubles que presentó el control posiblemente al proceso de senescencia



normal del fruto, donde los azúcares son utilizados como sustratos en las reacciones metabólicas, principalmente en la de respiración, además de la presencia de microorganismos que aceleran la disminución de azúcares debido a que son empleados en sus actividades metabólicas (Sánchez, 2013).

De acuerdo a Núñez *et al.*, (2012), el contenido de sólidos solubles decrece debido a que a pesar que la fresa es un fruto no climatérico, utiliza los azúcares como sustituto para su actividad respiratoria.

5.6. Efecto de los parámetros fisiológicos

5.6.1. Respiración

La respiración continúa incluso después de la cosecha. Las frutas y verduras frescas continúan respirando y realizando funciones metabólicas por que han sido separadas de su fuente de alimentación. La continua actividad respiratoria conduce a la senescencia la cual aumenta las pérdidas de agua, causando pérdidas en la calidad del producto (Sosa, 2014). La intensidad respiratoria de un fruto depende de su grado de desarrollo y se mide como la cantidad de CO₂ (mg) que desprende 1kg de fruta en una hora.

Al inicio del período de almacenamiento, la respiración de las fresas (Figura 39) se encontró en 8.2 mg CO₂/ Kg h para el control y el envase activo con fresas sin inocular, mientras que para el control inoculado y el envase activo con fresas inoculadas presentaron 10.98 y 5.4 mg CO₂/ Kg h respectivamente en el primer día de almacenamiento. Sin embargo a partir del cuarto día de estudio se presentó un descenso de la respiración registrándose valores de 0 mg CO₂/ Kg h en las fresas para todos os tratamientos empleados. Estos valores se mantuvieron hasta el final del almacenamiento.

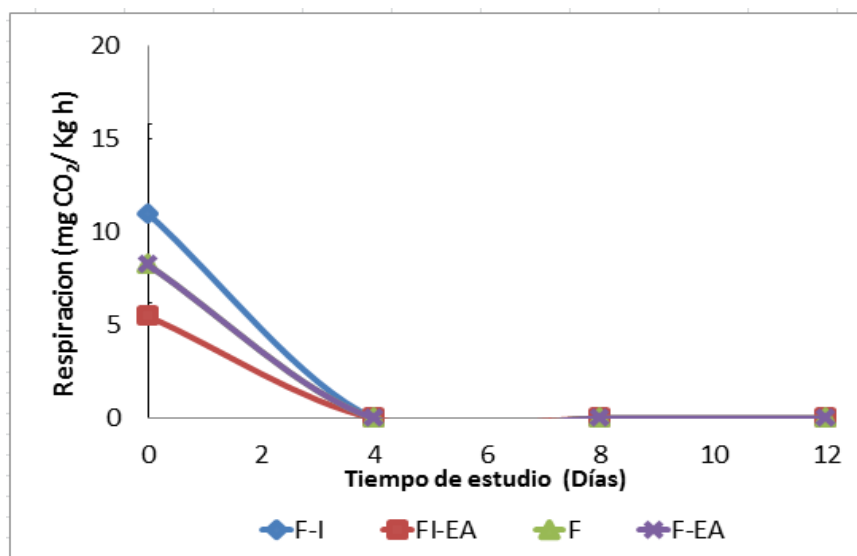


Figura 39. Respiración de fresas durante el almacenamiento en envases activos. Dónde: (F-I) fresas inoculadas, (F) fresas, (FI-EA) Fresas inoculadas con envase activo y (F-EA) fresas con envase activo con fresas sin inocular. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Se observó una reducción en la respiración de las fresas a partir del día 4 al 12 de estudio, sin embargo, no se le puede atribuir al efecto de los envases activos ya que los controles empleados también presentaron este comportamiento, esto se le atribuye a la baja respiración que presentaron al inicio del estudio, aunado a que la temperatura de almacenamiento y el envase utilizado brindaron una barrera protectora a la transferencia de gases.

Este comportamiento fue debido al estado fisiológico y a la liberación de calor que traen del campo. Por esta razón, al inicio respiran más aceleradamente y posteriormente decae. Sin embargo, entre más maduros se encuentren producen menos CO₂ (Pérez, 2013)

5.7. Evaluación sensorial

El análisis sensorial es un instrumento de gran utilidad para poder realizar un adecuado testigo de calidad y aceptabilidad en los alimentos; (Pérez, 2013) el cual tiene la finalidad de medir, analizar e interpretar las reacciones percibidas por los sentidos, ya sea en el sabor, aroma y textura que puede modificarse por acción de diferentes factores a los cuales está expuesto la muestra.



El uso de aceites esenciales de cítricos como antimicrobianos puede afectar las propiedades organolépticas del producto alimenticio, sin embargo el uso de vapores de cítricos en los alimentos puede ser una forma de combatir algunas de las implicaciones organolépticas negativas asociadas con el empleo de los aceites esenciales ya que no hay ningún contacto directo entre aceite y alimento (Fisher y Phillips, 2008).

Las fresas almacenadas en el envase activo adicionado con aceite esencial de limón, así como el control, fueron evaluados en sus características sensoriales que permitieron la identificación de algunos atributos como: apariencia visual, intensidad de color, olor, olores extraños, sabor, sabores extraños, textura y calificación global.

En la Figura 40 se observan los resultados obtenidos para los parámetros sensoriales en el día 0 de almacenamiento, para el control empleado donde los parámetros de sabor, olor y apariencia visual fueron calificados como buenos, mientras que para los olores extraños y sabores extraños no se encontró ninguno la intensidad de color se calificó como roja, mientras que la textura fue calificada como firme.

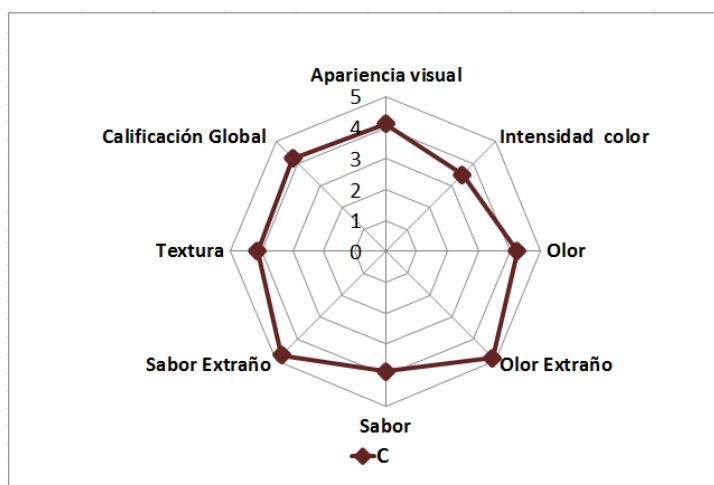


Figura 40.Perfiles sensoriales de las fresas durante el almacenamiento en envases activos (Día 0). Donde (C) fresas control.



En la Figura 41 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación sensorial en las fresas pasados 12 días de almacenamiento donde los jueces percibieron diferencias entre el control, así como en las fresas almacenadas en el envase activo adicionado con aceite esencial de limón, las fresas almacenadas en el envase activo decayeron un 34.5% en el atributo de olor. El análisis estadístico de este atributo presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los frutos almacenados en los envases activos adicionados con aceite esencial de limón con respecto a los control.

Durante el almacenamiento el “olor extraño” fue calificado como “leve” para el control empleado, mientras que para el envase activo fueron calificados como “aceptable”; estadísticamente el olor de los frutos almacenados en el envase activo presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

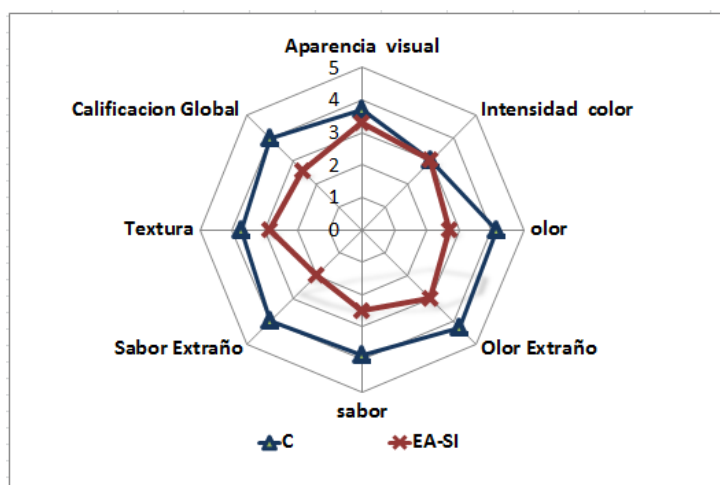


Figura 41. Perfiles sensoriales de las fresas durante el almacenamiento en envases activos (Día 8). Donde (C) fresas control, (F-EA) fresas con envase activo sin inocular.

Los resultados obtenidos para los atributos de “apariencia visual” “textura” e intensidad de color en el envase activo y en el control empleado no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) sin embargo la textura para las fresas almacenadas en el envase activo fue calificada como “blanda”.



Para los atributos restantes “sabor”, “sabor extraño” y “calificación global” existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en las fresas almacenadas en el envase activo empleado con respecto al control.

Los resultados coinciden con lo reportado por Silva *et al.*, (2013) quienes evaluaron el efecto de la aplicación de aceite esencial de canela en frutos de fresa donde el nivel de agrado de olor de las fresas adicionadas con aceite esencial de canela fueron calificadas en el rango de “ni agrada ni desagrada” a “agrada moderadamente” una concentración de $0.0005 \text{ g } \mu\text{l}^{-1}$, mientras que para el parámetro de sabor las fresas tratadas con $0.0005 \text{ g } \mu\text{l}^{-1}$ y las del testigo presentaron el mayor nivel de “ni agrada ni desagrada”. Entre los comentarios expresados por los evaluadores destaco que para las concentraciones más bajas de aceite esencial de canela se detectaron un olor y sabor agradable, mientras que la concentración mayor posee un olor y sabor muy intenso. Por tanto, la aplicación del aceite esencial de canela afectó al nivel de agrado.

De acuerdo a lo reportado por Silva *et al.* (2013) existe evidencia de que los compuestos volátiles de los aceites esenciales pueden ser absorbidos por la matriz del alimento tratado, y así cambiar sus propiedades sensoriales. Singh *et al.*, (2003) observaron que la aceptabilidad sensorial de germinados de alfalfa (*Medicago sativa* L.) se vio afectada negativamente después del tratamiento con aceite de tomillo. De igual modo, las acelgas (*Beta vulgaris* L.) tratadas con diferentes aceites esenciales fueron afectadas negativamente en cuanto a la aceptabilidad sensorial (Ponce *et al.*, 2004).

Para minimizar los efectos sensoriales negativos de los aceites esenciales en los alimentos, se propuso el encapsulamiento de los aceites esenciales previo a su aplicación, la utilización de mezclas de aceites esenciales con el fin de disminuir la concentración empleada, así como la aplicación de los vapores de aceites esenciales para reducir el daño en el fruto causado por la aplicación de manera directa de los aceites esenciales.



CONCLUSIONES



6. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente proyecto se puede concluir lo siguiente:

- La extracción de los aceites esenciales de naranja y limón presentaron un mayor rendimiento, con respecto al de toronja, por lo que este fue descartado para ser empleado en las pruebas *in vitro*.
- El aceite esencial de limón, mostró un 24.28% de inhibición en el crecimiento micelial mediante las pruebas *in vitro* para el hongo *Botrytis cinerea* durante 10 días de incubación en su concentración más alta (11000 ppm), al compararlo con el aceite esencial de limón y la mezcla de estos (50-50%).
- El prototipo de envase activo en esferas, mostró un 98.92% de inhibición de crecimiento micelial mediante las pruebas *in vitro* para el hongo *Botrytis cinerea* durante los 10 días de incubación a 11000 ppm comparado con el prototipo en forma de barniz donde se obtuvo un porcentaje de inhibición de 91.42%
- La aplicación de los envases activos en el índice de decaimiento no presentó diferencia significativa con respecto a los controles por lo que se puede considerar una buena alternativa para su aplicación.
- La aplicación del envase activo no alteró significativamente los sólidos solubles y respiración, mientras que para el pH, acidez y los parámetros sensoriales si se presentó un efecto significativo.



REFERENCIAS



7. REFERENCIAS

1. Aguilar, G.A, Palou, E, Lopez, M.A. (2015). Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 32:181-185.
2. Albaladejo M.Q (1999) El aceite esencial de limón producido en España. Contribución a su evaluación por organismos internacionales. Facultad de veterinaria. Universidad de Murcia. España.
3. Alcántara, G.M.L. (2009). Estimación de los daños físicos y evaluación de la calidad de la fresa durante el manejo de poscosecha y el transporte simulado. Trabajo presentado para optar al grado de doctor. Universidad politécnica de valencia. Valencia, España.
4. Alencastro, C.L.M. (2011). Alternativas ecológicas para el control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en mora de castilla (*Rubus glaucus* Beth). Tesis de ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. Sangolquí, Ecuador.
5. Almenar R.E. M. (2005). Envasado activo de fresas silvestres. Tesis doctoral. Universidad de Valencia. España.
6. Álvarez, G.T.B. (2012). Biocontrol de *Botrytis cinerea* a partir de extractos fenólicos de fresa. Tesis de maestro en ciencia en producción agrícola sustentable. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Jiquilpan, Michoacán.
7. Andreatta, A.E., Logo, B. M., Utrera, C., Saavedra, M., Foco, G. (2012). Caracterización de aceites esenciales del departamento de San Justo. San Francisco, Cordoba. Argentina.
8. AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. 15 th Ed. Association of Analytical Chemists. USA.
9. Avedaño, C.G.L. (2009). Diseño y evaluación de las propiedades mecánicas y de barrera de un biopolímero obtenido a partir de almidón de papa para ser empleado en empaques para alimentos. Tesis de ingeniería en alimentos. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Duitama, Colombia.



10. Ávila, S. R, Palo, E. Jiménez, M. Nevarez, M.V. Navarro C,A. López, Malo.(2012). Antifungal activity by capor contact fo esentia oils addet to amaranh, chitosan, or starch edibe films. International Jurnal of food Microbiology 153(1-2):86-72.
11. Ávila-Arce, .A. y Gonzáles-Milán, D. (2012). La competitividad de las fresas (*fragaria spp*) mexicanas en el mercado nacional, regional y de estados unidos. Agricultura, Sociedad y Desarrollo. 1(9): 9-11.
12. Aзуоla, R. y Vargas, P. (2007). Extracción de sustancias asistida (EUA) por ultrasonido. Tecnología en marcha. 20(4): 30-40.
13. Badui, D.S. (1993). Química de los alimentos. 3ª edición. Addison Wesley, Longman de México S.A de C.V. México.
14. Blanco, T.C., Stashenko, E.E, Combariza, M.I, JR Martínez, J.R (1995). Comparative study of Colombian citrus oils by high-resolution gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography. 697(1-2) :501-513.
15. Cabrera, C.S. y Rivera, R.R. (2015). Aplicación de extracto de epazote para el control de hongos causantes de enfermedades postcosecha en papaya, jitomate y chile. Tesis de ingeniería en alimentos. Facultad de estudios superiores Cuautitlán. México.
16. Castillo, V.E. (2010). Recubrimiento de envase de poliestireno expandido con nanoparticulas lipídicas sólidas para generar envases activos. Tesis de ingeniería en alimentos. Facultad de estudios superiores Cuautitlán. México.
17. Ceponis, M.J; Capellini, R.a.; Lighner, G.W. (1997). Disorder in sweets cherries and strawberries shipments to the New Cork marker 1972-1984. Plan Disease, 71(5): 472-475.
18. Cerón, S. I y Cardona, A. C. (2010). Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de cáscara de naranja. Ingeniería y ciencia. 7(13): 65-86.
19. Cerpa, C. M.G, (2007) Hidrodestilación de aceites esenciales: modelado y caracterización. Memoria para optar al grado de Doctor. Universidad de Valladolid. España.



20. Chaves, M.O. (2011). Cultivo y manejo de la zarzamora. Tesis de licenciado en biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán.
21. Chuah TS, Tan YY, Ismail BS (2010). In vitro evaluation of the antifungal activity of some essential oils on postharvest fungal pathogens of tropical fruits. *Plant Protection Quarterly* 25(4):162-164.
22. Coles, R., McDowell, D y M. J. Kirwan. (2004). Manual de envasado de alimentos y bebidas. A. Madrid Vicente y Mundi-Prensa. España.
23. Contreras, O.J.S y Olivares, T. C. A (2014) Conservación de verdolaga mínimamente procesada proveniente del suelo e hidropónica, desinfectada con un agente a base de compuestos bioactivos. Tesis de Ingeniería en Alimentos. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
24. Contreras P. E.C. y Ruiz P.J.D. (2012). Estudio comparativo de dos métodos de extracción de extracción para el aceite esencial presente en la cáscara de pomelo (*Citrus máxima*). Tesis de Ingeniero Químico. Universidad de Cartagena.
25. Córdova, L.A.V. (2012). Tecnologías del envase activo. Aspectos generales y análisis de su situación actual. Tesis de química de alimentos. Facultad de química. UNAM. México.
26. Cristani, M., d'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Micieli, D., & et al. (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(15):1130-1138.
27. Cristofoli, M. Candida, C,E. Bicalho, K, U. Cássia,D. Fernandes, P. Fernandes, A. Araujo L. Melo C. (2015) Insecticidal effect of nanoencapsulated essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) in *Bemisia tabaci* populations. *Industrial Crops and Products*. 70:301-308.
28. Di Giacomo, A. y Mincione, B. 1994. Gli olii essenziali agrumari in Italia. Sottoprogetto 4, monografia raisa n°3. Laruffa Editore.
29. Escobedo, A. E. I. (2013). Desarrollo de un proceso para el aprovechamiento integral de la toronja. *Ciencia y Tecnología*. 13:365-376.
30. Espina, L. Somolinos, M. Lorán, S. Conchello, P. Garcia, D. Pagan, R. (2011). Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of



- their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control*. 22:896-902.
31. Fisher, K. y Phillips C. (2008). Antimicrobial potential of essential oils in food applications: the response of citrus? *Trends in Food Science & Technology* 19(3):156-164.
 32. Flores, G.C.M. (2010). Investigación de los aceites esenciales, usos características y finalidad de uso. Tesis de químico farmacéutico. Universidad de Chile. Santiago de Chile, Chile.
 33. Fontenla, R.G. (2006). Caracterización del aceite esencial de "Lanche" (*Myrcianthes rhopaloides* (H.B.K) Mc) proveniente del distrito de chalco, provincia de Morropón- Piura, obtenido por dos métodos de destilación. Tesis de Ingeniero Forestal. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Peru.
 34. Fraire C. Ma. L, Yañes M. Ma. J, Nieto A. D. (2003). Hongos patógenos en fruto de fresa (*Fragaria x ananassa Duch.*) en Postcosecha, *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3): 285-291.
 35. García, I.E.; Gago, C.L.; Fernández, N.J.L. (2006). Tecnologías de envasado en atmosferas protectoras. Madrid.
 36. González, C.M.V. (2010). Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de orégano (*Cinnamomun zeynalicum*). Tesis de Licenciatura de Bioquímico Farmacéutico. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobanba, Ecuador.
 37. Guenther, E. 1948. *The Essential Oils*. Volume I-VI. 3° ed. New York. US. Ed. Van Nostrand Company.
 38. Guerreiro, C.A. Gago, Custódia, M.L.C. Faleiro, M.L. , Miguel G.C.M. Antunes D.C. M. (2015). The use of polysaccharide-based edible coatings enriched with essential oils to improve shelf-life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*. 110(2015) 51:60.
 39. Gutiérrez, J y Juárez, L. (2011). Efecto del tratamiento de irradiación gamma e hidrotérmico en el control de antracnosis en papaya (*Carica papaya L.*) variedad Maradol para exportación. Tesis de ingeniería en alimentos. Facultad de estudios superiores Cuautitlán. México.



40. Guzmán, C.A. (2012). CONAFRESA. Sistema productor de fresa. Consulta: 19 diciembre 2014.
41. Hernández L.A.N. Bautista, B.S. y Velazquez V. M.G. (2007). Prospectiva de extractos vegetales ara controlar enfermedades Postcosecha Hortofrutícolas. *Fitotec.* 30(2) 119:123
42. Hernández, J.C. (2014). Elaboración y caracterización de película comestible a base de quitosano y aceite esencial de limón. Tesis para acreditar la experiencia educativa: experiencia recepcional. Facultad de ciencia químicas. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz.
43. Hernández, S.P. (2011). Encapsulación de aceite esencial de clavo para su aplicación en la industria alimentaria. Tesis doctoral. Facultad de ciencias de la salud, de la actividad física y del deporte. Universidad católica san Antonio. Murcia.
44. Hossain. F. Follett. P. Dang V.K. Harich.M. Stephane S. Lacroix M. (2016). Evidence for synergistic activity of plant-derived essential oils against fungal pathogens of food. *Food Microbiology.* 53 24:3.
45. INFOAGRO. (2014). Tecnicas para el control de Botrytis (1ª parte). Consulta: 26 noviembre 2014. [en línea] Disponible en: <http://www.infoagro.com/abonos/botrytis.htm>.
46. Inouye, S. (2003). Laboratory evaluation of gaseous essential oils (Part 1) *International Journal of Aromatherapy.* 13(2-3):95-107.
47. Janatova, A. Bernardos, A. Smid, j. Frankova A. Lhotka, M. Kourismská, L. Pulkrabek, J. Kloucek, P. (2015). Long-term antifungal activity of volatile essential oil components released from mesoporous silica materials. *Industrial Crops and Products.* 67:216-220.
48. Jian-Hua Li, Jing Miao, Jiu-Lin Wu, Shan-Fei Chen, Qi-Qing Zhang (2014). Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. *Food Hydrocolloids*, Institute of Biomedical and Pharmaceutical Technology, Fu zhou 350002, China



49. Jiménez Y. (2008). Integración de los mercados hortofrutícolas entre México y los Estados Unidos. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Baja California. Mexico.
50. Kloucek, P. Smid, J. Frankova, A. Kokoska, L. Valterova, I. Pavela, R. (2012). Rapid screening method for the evaluation of the antimicrobial activity of essential oils in the vapor phase. *Food Research International*. 47:2 161-165.
51. Liberti, A., Carpena, O., Laencina, J. Y Goretti, G. (1973) estudio de las características del aceite esencial de limón español. I Congreso Mundial de Citricultura. Murcia- Valencia.
52. López de Dicastillo B.A.C. (2011). Desarrollo y caracterización de polímeros activos hidrofílicos para el envasado de alimentos. Tesis doctoral. Universidad Tecnológica de Valencia. España.
53. Luna, B.H.A. (2007). Obtención, caracterización y estudios de la desterpenación del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*). Tesis de ingeniería Química. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga.
54. Márquez, L. (2003). Extracción de aceite esencial de mandarina (*Citrus Reticulata*) utilizando dióxido de carbono en condición supercrítica como solvente. Tesis de grado. Universidad Central de Venezuela. Caraca, Venezuela.
55. Maruzella J.C y Sicurella N.A. (1960). The antibacterial activity of the vapors of essential oils. *Journal of American Pharmaceutical Association* 49(11): 692-694.
56. McGuire, R. (1991). Reporting of objective color measurement. *Hort-Science*. 27(12): 1254-1255.
57. Medina, A.M. (2011). Aceites esenciales: usos, composición química y actividades biológicas. Tesis de biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. México.
58. Medina, V.M.G. (2008). Cuantificación de alcoholes y aldehídos en mezcal por cromatografía de gases y microextracción en fase sólida seguido de cromatografía de gases. Tesis de química de alimentos. Facultad de química. UNAM. México.
59. Molina, G.S; Rotta, F.M.C; Torres, E. (2004). Incidencia de infecciones quiescentes de *Botrytis cinerea* en flores y frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*). *Agronomía Colombiana*. 22(2):101-109.



60. Montes-Belmont, R. (2009). Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista mexicana de micología*. 29: 73-82.
61. Muengkaew, R., Chaiprasart, P., Warrington, I. (2016). The change of the chemical-chemical properties and the development of the color of the fruit of the mango pulverized the methyl jasmonate. *Scientia Horticulturae*. 198:70-77.
62. Navarrete, G.K. (2009). Aplicación de un recubrimiento comestible base de gelatina para preservar la calidad de la zarzamora (*Rubus fruticosus*) almacenada en refrigeración lista para consumir. Tesis para obtener el título de ingeniero en alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México.
63. NMX-F-062-1974. Alimentos. Aceite esencial destilado de limón mexicano. Foods. Distilled essential oil of mexican lemon. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
64. NMX-F-063-1978. Aceite esencial de naranja dulce centrifugado. Sweet orange volatile oil. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
65. NMX-F-075-1987. Alimentos. determinación de la densidad relativa en aceites y grasas vegetales o animales. Foods. vegetables or animals oils and fats. specific gravity determination. normas mexicanas. Dirección general de normas.
66. NMX-F-077-1976. Determinación de residuo a la evaporación en aceites esenciales. Method of test for evaporation residue of essential oils. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
67. NMX-F-317-S-1978. Determinación de ph en alimentos. Determination of ph in foods. normas mexicanas. Dirección General de Normas.
68. NMX-FF-014-1982. productos alimenticios no industrializados para uso humano. fruta fresca. determinación de la resistencia a la penetración. non industrialized food products for human use-fresh fruit-determination of resistance to penetration. normas mexicanas. dirección general de normas.
69. NMX-FF-015-1982. Productos alimenticios no industrializados, para uso humano. Fruta fresca. Determinación de sólidos solubles totales. Non industrialized food products for human use. Fresh fruit. Determination of total solubles solids. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.



70. NMX-K-129-1976. Determinación del índice de refracción en aceites esenciales y productos aromáticos. Method of test for refractive index of essential oils and aromatic substances. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
71. NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria.
72. NOM-130-SSA1-1995, bienes y servicios. alimentos envasados en recipientes de cierre hermetico y sometidos a tratamiento termico. disposiciones y especificaciones sanitarias.
73. Nuñez, M., Becht, J., Morais, A y Sargent, S. (2005). Physiochemical quality characteristics of strawberry after are reduced by delay to cooling. Postharvest Biology Technology, 6:17-28.
74. Olaeta, J.O, Undurraga, P. y Larenas, A. (2002). Evolucion de citral y limoneno en el aceite esencial de limón (*Citrus limón (L.) Burm.*) en variedades Eureka y Génova. 72(1-2):32-34.
75. Perdonés, A, Escriche, I. Chiralt, A y Vargas M. (2016). Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on volatile profile of strawberries during storage. Food Chemistry. 197(Part A): 979-986.
76. Pérez, G.C y Ramos, L.K (2006) Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de Gelatina en la calidad de fresa (*Fragaria vesca, L*) almacenada en refrigeración. Tesis de Ingeniería en Alimentos. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
77. Pérez, M.G. (2013). Extracción de compuestos activos de plantas para su aplicación en recubrimientos comestibles para controlar podredumbre gris en fresa. Tesis de ingeniería en alimentos. Facultad de estudios superiores Cuautitlán. México.
78. Pimentel, E.J.L y Velázquez, M.M.A. (2010). CONAFRESA. Manual técnico del cultivo de fresa. Consulta: 9 diciembre 2014. [en línea] Disponible en: <http://conafresa.com/wp-content/uploads/MANUAL-PARA-EL-CULTIVO-DE-FRESA1.pdf>



79. Ponce, A., G, del valle C., E y Roura, S., I. (2004). Natural essential oils as relucing agents of peroxidase activity in leafy vegetables. *LebensmWiss. Technol.* 37:199-204.
80. Powelson, R.L. (1960). Initiation of strawberry fruit caused by *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 50(7):491-494.
81. Ramírez, C. M.P. (2008) extracción por arrastre de vapor y análisis de propiedades antioxidantes del aceite esencial de romero. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química con área en Ingeniería de Procesos. Universidad de las Américas Puebla. México.
82. Ramos, G.M.L. Bautista, B.S. y Barrera, N.L.L. (2010) Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista mexicana de Fitopatología.* 28(1):44-57.
83. Reyes, J.F. Palou, E. y López, M.A. (2012). Vapores de aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales. *Temas selectos de Ingenieria de Alimentos.* 6(1):29-39.
84. Robertson K.R. (1994). The genera of Rosaceae in the suotheastern.United States. *J. Arnold Arboretum*, 55:600-609.
85. Rodríguez, A.M; Alcaraz, M.L; Real, C.S. (2012). Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. SAGARPA-CONACYT.
86. Rojas, L. J.P., Perea, V.A. y Stashenko, E.E. (2008). Obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos. *Vitae, revista de la Facultad de Quimica Farmaceutica.* 16(1): 110-115.
87. Salisbury, F.B., Ross, C. W. (1994). *Fisiología Vegetal.* Grupo editorial Iberoamericana. México. 71-441.
88. Sánchez. S.A (2013) Caracterización de películas biodegradables y su aplicación como envases activo en zarzamora (*Rubus froticus*) para el control de podredumbre gris. Tesis de ingeniería en alimentos. Facultad de estudios superiores Cuautitlán. México
89. Santoyo J.J.A y Martínez A.C.O (2009). SAGARPA. Paquete tecnológico para la producción de fresa. . Consulta: 13 diciembre 2014. [en línea] Disponible en:



- <http://www.fps.org.mx/divulgacion/attachments/article/814/Paquete%20tecnologico%20para%20la%20producci%C3%B3n%20de%20fresa.pdf>
90. Sharma, N., Tripathi, A. (2008). Effects of Citrus sinensis (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem Microbiological Research. 163(3):337-344.
91. Shiva R.C.M. (2007) Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. Tesis Doctoral. Facultad de veterinaria. Universidad autónoma de Barcelona.
92. SAGARPA-SIAP (2017) Servicio de información estadística agroalimentaria y pesquera. Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca, y alimentación.
93. SAGARPA-SIAP (2014). Servicio de información estadística agroalimentaria y pesquera. Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca, y alimentación.
94. Silva, E.B.A. Ortega, R.L.A. Gonzalez, A.G.A. Olivas, I. y Ayala, Z.F. (2013). Protección antifúngica y enriquecimiento antioxidante de fresa con aceite esencial de hoja de canela. Revista fototecnia Mexicana. 36(3) 217:224.
95. Sinclair, W. B. (1984). The lemon. Univ. of Calif. Press, Oakland.
96. Singh, N., Singh, R., K., Bhunia, A., K. (2003). Sequential disinfection of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds before and during sprouting using aqueous chlorine dioxide, ozonated water, and thyme essential oil Lebensm-Wiss. Technol. 36:235-243.
97. Siracusa, Rocculi, P., Rosmani, S. y Rosa, M. D. (2008). Biodegradable polymers for food packaging: a review. Trends in Food Science & Technology. 19(12):634-643.
98. Soto, G.L., Ojeda, R.L., Rojas, B., Sulbarán, J., Peña, M. y Fernández, V. (2013). Caracterización química del aceite esencial de toronja (*Citrus paradisi* L.) 30:266-283
99. Solon, N.K., Menezes, J.B., Medeiros, M.K.M., Aroucha, E.M.M., Mendes, M. de O. (2005). Conservação Pós-colheita do Mamão Formosa Produzido no Vale do Assu Sob Atmosfera Modificada. Caatinga, Mossoró. 18(2) 105:111.



100. Sosa, C., D.,D. (2014). Aplicacion de recubrimientos comestibles en pepino(Cucumis sativs L.) para el control de antracnosis. . Tesis para obtener el título de ingeniero en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
101. Soyly, E, M., Kurt, S, y Soyly, S. (2010). In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of varius plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. International Journal of Food Microbiology. 143:183-189.
102. Sudzuki, H.F. (1997). Cultivo de frutales menores. Universitaria, S.A. 5ª. Ed. Santiago de chile.
103. Tenorio, R.H. (2010) Análisis de componentes volátiles y semivolátiles de diferentes variedades de fresa utilizando microextracción en fase solida seguida de cromatografía de gases-espectrometría de masas. Tesis para obtener el título de Químico de Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
104. Tyagi, A.,K, y Malik, A. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. Food Control 22(11):1707-1714.
105. Valdés, R.K.C. (2014). Desarrollo de un envase activo liberador de antifungico para el control de antracnosis en chirimoya (*Annona cherimola* Mill).Tesis de ingeniería en alimentos. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. México.
106. Valero, D., Serrano, M. (2010). Postharvest biology and technology for preserving fruit quality. CRC Press. Unites States of America.
107. Vázquez, G. A. y López, A.J.M. (2008). SEMARNAT. Alternativas químicas al uso de bromuro de metilo en el cultivo de fresa. Consulta: 11 diciembre 2014. [en línea] Disponible en: <http://app1.semarnat.gob.mx:8080/sissao/images/pdf/FRESA-MICHOACAN.pdf>
108. Velázquez, C. (2008). Encapsulación de aceite esencial de naranja en un secador de lecho por fuentes fluidizado con sólidos inertes. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.



109. Velázquez, N. M.J. (2010) acción antifúngica del cascara de naranja, aplicado por adicción directa y por generación de vapores. Tesis de Licenciatura de Ingeniería en Alimentos. Universidad de las Américas Puebla. México.
110. Velázquez, N.M.J. Avila,S.R. Palou,E. Lopez, M.A. (2013) Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. Food Control. 31(1):1-4.
111. Vitoratos, A. Bilalis, D. Karkanis, A. Efthimiadou, A. (2013). Antifungal Activity of Plant Essential Oils Against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. Not Bot Hoti Agrobo. 41(1):86-92.
112. Viuda,M.M. Ruiz,N.Y. Fernandez,L.J. Perez,,A.J. (2008). Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. Food Control. 19(12):1130-1138.
113. Wills, R.; Maglason, B.; Graham, D. y Joyced, L. (1998). Introducción a la fisiología y manipulación postcosecha de frutas y hortalizas y plantas ornamentales. Acribia, Zaragoza, España. 230pp.