

Conference Paper

Evaluation of Cinnamon Essential Oil as a Preservative Agent in the Postharvest Stage of Strawberries (*Fragaria Sp.*)

Evaluación del Aceite Esencial de Canela Como Agente Conservante en la Etapa de Postcosecha de Fresa (*Fragaria Sp.*)

M. González, D. Loroña, L. Condolo, and M. Almeida

Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

VII International Congress of
Science, Technology,
Entrepreneurship and
Innovation (SECTEI 2020)

Corresponding Author:
M. González
mariav.gonzalez@epoch.edu.ec

Published: 26 August 2021

Production and Hosting by
Knowledge E

© M. González et al. This article is distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use and redistribution provided that the original author and source are credited.

Abstract

This study proposes the use of cinnamon as an antimicrobial agent with the presence of cinnamic aldehyde, which has antibacterial and antifungal activity and inhibits the production of mycotoxins. Initially, microorganisms were isolated in damaged post-harvest strawberries, isolating colonies of *Botrytis* sp. as the main causal agent of the deterioration of these fruits. The anti-fungal ability of the cinnamon essential oil (*Cinnamomum zeynalicum*) was evaluated 'in vitro' on the development of the isolated fungus, and 'in vivo' on fresh fruit at different storage temperatures, times and concentrations of AE. The results obtained showed that the most effective treatments 'in vivo' were 250 and 500 ppm of cinnamon essential oil. On-site analyses showed fruit stability in terms of color, texture, flavor, smell, pH and acidity, especially when there is a concentration of 500 ppm of cinnamon essential oil combined with the storage of the fruit at refrigeration temperature (5°C), this being the most effective treatment to reduce fungal rot and loss of fruit quality.

Keywords: *cinnamon essential oil, postharvest, strawberry, antifungal activity, preservative.*

Resumen

Esta investigación plantea el uso de la canela como un agente antimicrobiano con la presencia de aldehído cinámico el mismo que posee actividad antibacteriana, antifúngica e inhibe la producción de micotoxinas. De manera inicial se aislaron microorganismos en fresa postcosecha deteriorada, aislando colonias de *Botrytis* sp. como el principal agente causal del deterioro de estas frutas. La capacidad antifúngica del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeynalicum*) fue evaluada 'in vitro' sobre el desarrollo del hongo aislado e 'in vivo' sobre fruta fresca a diferentes temperaturas de almacenamiento, tiempos y concentraciones de AE. Los resultados obtenidos demostraron que los tratamientos más efectivos 'in vivo' fueron 250 y 500 ppm de aceite esencial de canela. Los análisis in situ mostraron estabilidad de los frutos en cuanto a color, textura, sabor, olor, pH y acidez sobre todo cuando se tiene una concentración de 500 ppm de aceite esencial de canela combinado con el almacenamiento de la fruta a temperatura de refrigeración (5°C) siendo el tratamiento más efectivo para reducir la pudrición fúngica y la pérdida de la calidad de los frutos.

Palabras Clave: *aceite esencial de canela, post cosecha, fresa, actividad antifúngica, conservante.*

 OPEN ACCESS



1. Introducción

La comercialización de productos vegetales frescos es un tema de importancia mundial ya que la demanda de los consumidores se inclina hacia productos orgánicos cada vez menos procesados y con mayor inocuidad. El limitante para este tipo de comercialización son las pérdidas que ocurren en la cosecha, y factores postcosecha como manipulación incorrecta durante el almacenamiento, pérdidas como consecuencia de daños mecánicos, deterioro fisiológico por maduración, temperaturas inadecuadas, presencia de microorganismos propios y originados por contaminación cruzada o a la falta de cumplimiento de los requisitos establecidos por las normas de calidad, derivan en pérdidas de alrededor del 50% de la producción total.

La especie vegetal *fragaria spp* cuyo nombre común es fresa; se aprecia a nivel mundial por sus características organolépticas como aroma, colores brillantes y textura jugosa de acuerdo con lo señalado por Khoshnevisan *et al.* [1]. Herrera (2002), establece que la fresa por sus características organolépticas tiene gran aceptación a nivel nacional e internacional, lo que presenta grandes ventajas para su comercialización y procesamiento al compararlo con otros productos no tradicionales y es una oportunidad de incursionar en el mercado internacional [2].

La cantidad de energía de la fresa es de alrededor de 35 Kcal/100 g, siendo 89,6% de agua, 7% de hidratos de carbono, 0,7% de proteínas, 0,5% de lípidos y 2,2% de fibra [3]. La fresa posee un porcentaje de 2,6% de glucosa, 2,3% de fructosa y 1,3% de sacarosa medida en una porción comestible. En lo referente al contenido de minerales en la fresa se evidencia la presencia de potasio como componente mayoritario, seguido del fósforo, calcio y magnesio. La fresa es una fuente importante de bioelementos como vitamina C, K, filoquinona, folato y compuestos fenólicos que generan en este producto importantes actividades antioxidantes [1].

Según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2012), FAO productos de origen vegetal alcanza pérdidas postcosecha entre el 15% y 50% de la producción [4]. Al ser un fruto no – climatérico la fresa una vez cosechada posee una vida de anaquel muy corta; la epidermis de este fruto es muy delgada y frágil, lo que le hace susceptible a daños mecánicos, temperaturas y la acción de microorganismos intrínsecos y extrínsecos. Agentes microbianos como el *Botrytis sp* generan daños irremediables en la fresa post cosecha entre los que se puede contar pérdida de firmeza, color y sabor que disminuyen la calidad e inocuidad de la fruta fresca [5]. Estos aspectos negativos del almacenamiento vienen acompañados de manera general por la aparición del deterioro y pudrición como consecuencia principalmente de la presencia de microorganismos como *Erwina*, *Pseudomonas*, *Penicillium*, *Botrytis*, *Aspergillus* y *Fusarium* [6]. Esta pérdida de atributos de calidad de la fruta postcosecha influye de manera negativa a nivel comercial y económico.



En 2018 Ecuador exportó 22 millones de dólares, con 23 toneladas de frutillas; y en 2019, se han vendido, 12 millones y más de 21 toneladas, según cifras de la Corporación de Promoción de Exportaciones e Inversiones (Corpei). Por el clima beneficioso de Ecuador a diferencia de otros países, solo se necesita un mes y 20 días para que la planta florezca y 20 días más para la recolección. Las variedades más comunes que se producen y exportan desde Ecuador, aunque en pequeña escala, corresponden a las variedades Chandler, Oso Grande, Taft, fresno y Tioga, los países a los cuales se destina la producción de fresa son Chile, Estados Unidos y Holanda. Una nueva variedad es la 'Cama Rosa', apetecida en los mercados internacionales por el tamaño de su fruto, consistencia y sabor. Se estima que el rendimiento de las plantas alcanza dos kilos por año, dependiendo de la variedad. Actualmente, la fruta se distribuye en almacenes de cadena y también venden a terceros que luego se encargan de la comercialización [7].

Para preservar la calidad de los frutos frescos y extender su vida de anaquel se pueden utilizar diversos métodos tanto físicos, químicos e incluso biológicos. La aplicación de biopelículas, uso de atmósferas modificadas, radiaciones ionizantes, tratamientos superficiales como recubrimientos con polímeros, ceras y parafinas permiten superar con éxito las causas que provocan el deterioro de los alimentos frescos.

Sin embargo, la tendencia actual corresponde al uso de materiales de origen orgánico, el empleo de agentes naturales para prevenir o retardar el deterioro de los alimentos se debe, en parte, al hecho de que estos compuestos han sido aplicados con mucho éxito en el tratamiento de enfermedades del hombre, animales y plantas [8]. Estas tendencias revelan una preferencia muy clara hacia los conservantes naturales tanto en el área industrial como para los consumidores finales.

Las especias han sido empleadas durante varios siglos como un método de conservación, una de las especias más estudiada ha sido la canela, cuyo principal componente es el aldehído cinámico conocido por su capacidad antibacterial y antifúngica [9].

Silva (1992) señala que, en el almacenamiento incluso a temperaturas de refrigeración las frutas mantienen constantes actividades fisiológicas, como son respiración, transpiración y degradación de compuestos orgánicos. Estas actividades fisiológicas traen como consecuencia la eliminación de energía a través de calor que poco a poco van cambiando las características originales del producto como textura, color, aroma. Esta situación puede conducir a la pérdida de la calidad del producto [10].

Un análisis realizado por Fraire Cordero *et al.* (2003), demuestra que la mala calidad de la fresa estuvo relacionada con la proliferación de hongos entre los que se encuentra *Botrytis* sp., como uno de los predominantes. El hongo causante de la Podredumbre gris es el *Botrytis cinerea*, tiene una gran capacidad de desarrollo, especialmente cuando se encuentra a temperaturas de entre 17 y 22°C y en condiciones de alta humedad relativa (sobre el 95%) [11]. El control de estos agentes biológicos como el *Botrytis* sp.



han sido tradicionalmente con fungicidas químicos, esto ha generado interés por el nivel de toxicidad que presentan estos agentes químicos, de igual manera los altos costos, y el problema de no poder exportar este producto debido a las reglamentaciones internacionales sobre el manejo de pesticidas y daños al medio ambiente, a la salud de los operarios y del consumidor final [12]. Los microorganismos fitopatógenos, de igual manera han generado cierta resistencia a los principios activos de algunos fungicidas de origen químico, como una respuesta a la presión de selección a las altas dosis y continuas aplicaciones sin existir un estudio previo y cronograma de control, lo que ocasiona grandes pérdidas económicas [13].

Investigaciones recientes proponen alternativas variadas de control para reducir el uso de productos químicos en el área agrícola, entre ellos el uso de aceites esenciales, microorganismos antagonistas, y extractos naturales de diferente tipo. Se reportan estudios de aceites esenciales de *Lippia* y *Thymus* con propiedades biocontroladoras [14].

La Farmacopea Mexicana en su segunda edición define a los aceites esenciales como 'productos de composición general muy complejas que contienen los principios volátiles que se encuentran en los vegetales más o menos modificados durante su preparación' [15]. Sánchez define a los aceites esenciales como 'mezclas químicas de metabolitos secundarios sintetizados en determinadas partes de las plantas (hojas, flores y/o raíces), que le atribuyen un aroma característico' [16]. Estas mezclas químicas complejas incluyen la presencia de terpenos junto con otros compuestos casi siempre oxigenados como alcoholes, éteres, ésteres, aldehídos y compuestos fenólicos. En general, la función biológica de los terpenoides de los aceites esenciales sigue estando poco clara. Sin embargo, es probable que tengan un papel ecológico [17].

Por lo expuesto anteriormente, este estudio prueba que el Aceite esencial de Canela posee un potencial poder bioconservador que al ser aplicado en la industria alimenticia reducirá las pérdidas por deterioro de la materia prima, considerándola así a esta como una tecnología emergente.

Existen diversos estudios que reportan la actividad antifúngica de los aceites esenciales y sus compuestos: Muller-Riebau *et al.*, en 1995 analizaron nueve aceites esenciales aplicados a cuatro especies de hongos fitopatógenos [18], mientras que Wilson *et al.*, en 1997 lograron evaluar la capacidad antimicrobiana de 49 diferentes aceites esenciales contra *Botrytis cinérea*, agente causal de la pudrición de productos hortofrutícolas [19]. En el año 2003 estudios propuestos por Daferera y sus colaboradores probaron que ocho aceites esenciales obtenidos de variedad de plantas, eran efectivos para el control de la acción de dos especies de hongos filamentosos [20]. La actividad antifúngica que se pudo evidenciar en todos los trabajos mencionados, corresponde a compuestos químicos asociados a fenoles monoterpénicos como son timol, carvacrol y eugenol. Otros compuestos encontrados en los aceites esenciales



como el aldehído cinámico que es el principal compuesto químico presente en el aceite esencial de canela presentan elevada actividad antifúngica en todos los trabajos que han incluido este compuesto orgánico [21].

Dentro del campo de la microbiología de alimentos se pueden citar trabajos previos que incluyen a aceites de clavo (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y tomillo (*Thymus vulgaris*); entre otros como agentes de inhibición para el crecimiento micelial y la esporulación de los conidios de *Colletotrichum gloeosporioides*, a concentraciones de 200, 250 y 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ [22]. De igual manera se han reportados estudios del efecto fungiestático sobre el desarrollo de la variedad *Fusarium oxysporum* f. sp. Gladioli, en similares condiciones a las mencionadas en el párrafo anterior.

El efecto que ejerce el aceite esencial de canela también fue evaluado en estudios previos, al aplicarse concentraciones entre 100 y 500 ppm sobre *Aspergillus flavus* [23]. En este contexto este trabajo de investigación tiene como objetivo principal evaluar el efecto conservante del Aceite esencial de Canela para inhibir el crecimiento de microorganismos causales del deterioro de las variedades de fresa cultivadas en Ecuador, reduciendo de manera considerable las pérdidas post cosecha, estableciendo el uso de aceites esenciales y conservantes naturales como una tecnología emergente.

Con esta investigación se busca también beneficiar al sector productivo ya que, al prolongar la vida de anaquel de las frutas frescas, se estimula al cultivo de frutos como la frutilla, debido a que se disminuyen las pérdidas post cosecha, obteniéndose márgenes de utilidad cada vez mayores para los productores.

2. Metodología

2.1. Lugar de la Investigación

El presente estudio fue desarrollado en el laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2. Material Vegetal

Para el muestreo del material vegetal se utilizó un modelo no probabilístico, seleccionando las frutas de acuerdo al grado de madurez que presentaban según lo establecido en la norma técnica colombiana NTC 4103. Frutas frescas. Especificaciones [24]. Siguiendo lo establecido en la mencionada norma se seleccionaron frutos sin lesiones físicas ni mecánicas, sanas y limpias. El material vegetal Frutilla (*Fragaria* sp.) de variedad camarrosa proviene de un cultivo comercial de la Parroquia Quimiag, Provincia de Chimborazo. En cuanto al aceite esencial de Canela (*C. zeylanicum*) se obtuvo bajo



el método de extracción con solventes en el Laboratorio de la Facultad de Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias.

2.3. Caracterización Físico - Químico de las Frutas

De manera inicial se establecieron características sensoriales de las frutas seleccionadas evaluando aspectos como color, olor, sabor y textura. Este procedimiento se realizó a través de técnicas de escalas hedónicas aplicadas a un panel sensorial no entrenado [25]. Se evaluaron parámetros de longitud, diámetro, volumen, peso, para ello se empleó una muestra representativa conformada por 25 frutos de *Fragaria* sp. El instrumento utilizado para la medición de longitud y diámetro fue un calibrador pie de rey marca HOPEZ. Otra característica analizada de manera inicial fue el peso de la fruta para lo cual se utilizó una balanza de precisión electrónica HR- 200, con capacidad de $210 \text{ g} \pm 0,0001 \text{ g}$. Los procedimientos para cada medición se encuentran detallados en la norma técnica colombiana INCOTEC 4103. Para las determinaciones de sólidos solubles, pH y Acidez titulable se aplicaron metodologías señaladas en el documento oficial de la A.O.A.C. Official Methods of Analysis, 942.15 (B) [26]. Para la medición del pH utilizó un potenciómetro calibrado marca SCHOTT modelo CG 820 a temperatura de referencia de 20°C y la acidez titulable se reportó en porcentaje de ácido málico.

2.4. Análisis Microbiológico

Para el aislamiento de los microorganismos que causaban el deterioro de las muestras de fresas, se aplicó la metodología de diluciones en serie: para lo cual se tomaron una serie de 5 tubos con 9 mL de agua destilada, previamente esterilizados. Se procedió a rotular cada uno de los tubos con la dilución correspondiente (10-1 hasta 10-5). A partir de una muestra de alimento (*Fragaria* sp.) que presente algún crecimiento de hongo, y manteniendo las condiciones de esterilidad y asepsia correspondientes, se colocó 1 gr de la muestra en el primero de los 5 tubos de dilución (10-1). Luego de agitar bien el tubo 10-1, se dejaron sedimentar las partículas grandes y con una pipeta estéril, se transfirió 1mL al segundo tubo (10-2), procediendo de igual manera hasta completar la serie de diluciones.

2.4.1. Siembra por vaciado en caja

Se dispuso de cajas Petri rotuladas por duplicado, con la dilución correspondiente, mientras que con otra pipeta estéril se tomaron alícuotas de 1ml comenzando con la dilución 10-5 y se procedió a vaciar a la caja correspondiente, hasta llegar a 10-1. El agar papa dextrosa previamente preparado y enfriado a 45°C , se acidificó con ácido tartárico,



para luego proceder el vaciado del agar en cada una de las cajas. Se homogeneizaron las muestras con movimientos suaves, y una vez solidificado el medio, se procedió a incubar a 28°C por 5 a 7 días una serie de cajas y la otra incubarla a 35°C por 48 hr. Los intervalos de revisión fueron cada 24 hr y a las 48 realizar el conteo de levaduras.

2.4.2. Conteo de colonias

Para el conteo de colonias se determinan las UFC de levaduras por gramo de muestra. Seleccionamos una colonia aislada, sospechosa de ser levadura y está es sembrada por estría cruzada en una caja de PDA y en agar extracto de malta. Se incubó a 35 OC por 48 hr, y se repitió el proceso de conteo de las UFC de hongos/ g de muestra. Luego se procede a seleccionar una colonia que se encuentre perfectamente aislada y se observó la morfología colonial del hongo con el microscopio estereoscópico.

2.5. Aislamiento de *Botrytis* sp.

Para el aislamiento del género *Botrytis* sp se procedió a aplicar la técnica de microcultivo, la misma que consiste en tomar con un bisturí (esterilizado con alcohol) cuadros de cultivo de 1,5 cm² de mohos y levaduras que previamente fueron aislados para colocarlos en el centro de una nueva placa solidificada de agar PDA. Para lo cual con un asa estéril doblada en ángulo de 90° se procedió a raspar un poco de micelio de la colonia del hongo seleccionado y se inocularon cuadros de agar en los cuatro lados respectivamente, esterilizando el asa y tomando más micelio en cada ocasión. Se adiciono en el fondo de la caja del microcultivo el glicerol al 10%. Se incubaron estas placas a una temperatura de 28°C durante 48 a 72 hr, para luego proceder a su observación con azul de metileno y comparar en la bibliografía claves taxonómicas que permitieron identificar el hongo aislado.

2.6. Elaboración del Medio de Cultivo Adicionado con Aceite Esencial de Canela

Al medio de cultivo, Papa Dextrosa Agar (PDA) se le adicionaron 50 mg del Aceite esencial de Canela disueltos en 500 µL de Tween 20%. La concentración final obtenida de esta disolución fue 100000 ppm. Se procedió a aplicar el método de diluciones en serie, utilizando tubos de ensayo, secos, limpios y estériles a los que se añadió 900 µL de Tween 20 y 100 µL del extracto concentración 100000 pppm, las concentraciones finales fueron de 10000 ppm y 1000 ppm. Se prepararon varias diluciones sucesivas hasta concentraciones finales de: 500, 250 y 125 ppm. Se codificaron cajas Petri estériles con la concentración final y se procedió a pipetear separadamente 100 µL de



las disoluciones con el aceite esencial de canela a los tubos de ensayo que contenían 10 mL de PDA a 45°C. Se procede a homogeneizar con la ayuda de un vórtex y al llenado de las cajas petri. Una vez que se solidificó el medio de cultivo, se sometieron a prueba de esterilidad, la cual consiste en dejarlos en incubación a 25°C durante 24 hr [27].

2.7. Evaluación In Vitro de la Actividad Antifúngica del Aceite Esencial de Canela

Se evaluaron concentraciones de aceite esencial de canela correspondientes a: 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm y 1000 ppm, las cuales presentan antecedentes de efecto antifúngico [28]. Los aceites esenciales fueron incorporaron al medio de cultivo PDA como menciona la técnica descrita anteriormente, después de la prueba de esterilidad siguiendo la técnica de microcultivo se sembró un inóculo de *Botrytis* a manera de explantes discoidales de 4 mm de diámetro tomados con un sacabocado de una colonia de siete días de desarrollo, incubada a 25°C y se colocaron en el centro de las cajas de Petri con los tratamientos. Estas muestras fueron incubadas a 25°C en un periodo de tiempo de once días. El número de repeticiones por tratamiento fue de tres, con agar PDA como control positivo y las cajas con PDA más dicloran a 1 ppm como control negativo.

Posteriormente se procedió con la evaluación de la actividad fungida o fungistática del aceite esencial de canela, tomando en cuenta el desarrollo de las colonias. Considerando que posee un efecto fungicida en aquéllos que no presentaron crecimiento alguno y fungistático para los que sí presentaron crecimiento, el mismo que fue menor que el control positivo. Finalmente se eligieron solo dos concentraciones; 250 ppm y 500 ppm, para ensayos posteriores. Para descartar que el Tween 20 pueda tener algún efecto sobre los microorganismos aislados se utilizaron cajas con una mezcla de PDA y Tween 20 como control. Se hicieron 3 repeticiones por experimento. Los medios inoculados se incubaron a temperaturas de 25 a 28°C, con evaluaciones en intervalos de 24 hr la lectura del diámetro de la colonia, hasta que el control positivo cubrió por completo la superficie de la caja.

2.8. Determinación In Vivo del Efecto Conservante del Aceite Esencial de Canela (*C. zeylanicum*) por el Método de Inmersión

De manera inicial se caracterizaron las muestras de fruta fresca de la variedad *Fragaria* sp., a través de evaluación sensorial determinando color, textura, sabor y olor; estas determinaciones sensoriales se repitieron para cada uno de los tratamientos a dos



diferentes concentraciones de aceite esencial de canela (250 ppm y 500 ppm), como si indica en la Tabla 1. El objetivo principal del aceite esencial con su actividad microbiana es impedir el crecimiento y la proliferación de los hongos causantes de la pudrición de las frutas en estudio. Para poder incorporar el aceite esencial a la fruta fresca se escogió el método de inmersión ya que con él se logra un recubrimiento total de la fruta y no existe pérdida de la solución.

Table 1

Tratamientos 'in vivo' – actividad antimicrobiana del aceite esencial de canela en Fragaria sp.

Tratamiento	Concentración aceite esencial canela (ppm)	Tiempo (días)	Temperatura (°C)	Actividad antimicrobiana
Testigo		1	21	Textura Color Olor Sabor pH Acidez Hongos
T1	250	5	21	
T2	250	5	5	
T3	250	5	21	
T4	250	5	5	
T5	250	7	21	
T6	250	7	5	
T7	500	7	21	
T8	500	7	5	
T9	500	15	21	
T10	500	15	5	
T11	500	15	21	
T12	500	15	5	

Se tomaron en consideración tres variables: temperatura de almacenamiento, concentración de aceite esencial y tiempo de almacenamiento, las dos primeras con dos niveles cada una. Se trabajó por duplicado y con dos testigos. Después de cada tratamiento se realizaron mediciones a través del análisis sensorial con cuatro indicadores (color, textura, sabor y olor), además de características físico químicas críticas para la conservación de frutas como son pH y % de Acidez titulable; además de realizar el análisis microbiológico mediante el recuento de Mohos y levaduras para determinar si existió o no un proceso de deterioro en la fruta tratada con el aceite esencial.

2.9. Preparación de Fresas Frescas para el Bioensayo

La técnica utilizada para la experimentación in vivo fue inmersión. Las soluciones preparadas con las concentraciones seleccionadas como resultado del ensayo in vitro de 250 ppm y 500 ppm de aceite esencial de canela se colocaron en vasos de



precipitación en donde fueron sumergidos por completo los frutos en un número muestral de 10 unidades por cada tratamiento, el tiempo de inmersión se estableció en 5 segundos, para posteriormente ser retirados de las soluciones. El secado se realizó en una campana de flujo laminar sobre una superficie lisa durante un período de tiempo de 5 min. Lo mismo se hizo con el control en donde los frutos fueron sumergidos en agua destilada estéril.

2.10. Almacenamiento

Para el bioensayo in situ las muestras de fresa (*Fragaria* sp.) previamente sumergidos en las soluciones de aceite esencial de canela, se colocaron dentro de contenedores de plástico dispuestos para cada tratamiento. En cada contenedor se colocaron diez frutos del mismo tratamiento a una distancia de 2 a 3 cm. Cada tratamiento se hizo por triplicado. Las muestras se colocaron bajo similares condiciones de temperatura y humedad, con una disposición al azar. Los tratamientos propuestos fueron temperatura ambiente (21°C) y temperatura de refrigeración (5°C). Se hicieron las observaciones cada 24 hr, monitoreando la fluctuación de la temperatura mediante mediciones continuas con un termómetro de mercurio, además las unidades se cambiaron de posición durante el experimento para igualar las condiciones en todos los tratamientos.

2.11. Análisis Estadístico

Para analizar los resultados obtenidos en el presente estudio se aplicó un diseño experimental completamente al azar en arreglo simple. En los ensayos in vitro los datos obtenidos de crecimiento, micelial y esporulación se analizaron de acuerdo con un ANOVA de una vía y la comparación de medias se hizo con la prueba de Tuckey, cabe destacar que se analizaron todos los datos diferentes de cero. En los ensayos in vivo se aplicó la prueba ANOVA para muestras independientes (Prueba T) y la Prueba de Chi cuadrado utilizando el programa SPSS STATISTICS.

3. Resultados y Discusión

Los datos que se reportan fueron obtenidos sobre la base de la metodología indicada.

3.1. Determinación de los Hongos Causantes de la Pudrición Fresas (*Fragaria* sp.)

Luego de proceder al análisis del material vegetal con síntomas de deterioro, se pudo aislar poblaciones de *Botrytis* sp., *Verticillium* sp. y ciertas bacterias ácido lácticas. Por



medio del proceso de microcultivo se pudieron identificar colectas a través del uso de las claves taxonómicas con lo que se pudo establecer la presencia y crecimiento de *Botrytis* sp. Las características microscópicas del micelio observadas fueron: hifas y conidios translucidos de color claro, redondeados de micelio hialino septado se diferencian conidióforos hialinos, delgados, lisos y ramificados irregularmente en la parte superior. Se observaron conidias hialinas, unicelulares, lisas, de formas ovoides, subesféricas a esféricas. Se recomienda la aplicación de técnicas moleculares para facilitar la identificación a nivel ya no sólo de género sino también de especie.

En las placas de agar PDA con cultivos de *Botrytis* sp se pudieron distinguir características morfológicas macroscópicas claras, en su fase inicial se presentaron colonias algodonosas de color blanco. Con el pasar de los días estas colonias tomaron una tonalidad café oscura, observándose en esta etapa el desarrollo de esporas (conidios), y posteriormente esclerocios.

3.2. Actividad Antifúngica del Aceite Esencial de Canela (*C. zeylanicum*) In Vitro

El efecto del aceite esencial de canela sobre *Botrytis* sp fue de eliminación del microorganismo es decir se establece un efecto antimicrobiano – antifúngico que se muestra en Tabla 2. La concentración mínima probada de 125 ppm presenta una inhibición del desarrollo del hongo es decir un efecto fungistático.

Table 2

Efecto del Aceite esencial de canela, sobre el crecimiento micelial in vitro de Botrytis sp.

Aceite esencial (ppm)	Crecimiento de la colonia (cm)	Grado de inhibición (%)
Canela		
0	8.1a*	83
125	1.4b	100
250	0c	100
500	0c	100
1000	0c	100

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

A partir de la concentración correspondiente a 250 ppm de aceite esencial de canela, se inhibe completamente el desarrollo de la colonia de *Botrytis* sp. Estos resultados coinciden con lo reportado por Soliman y Badeaa quienes en sus investigaciones establecieron que la canela inhibió completamente el desarrollo de *Botrytis* sp. en una dosis de 500 ppm [29].

La dosis mínima fungicida para el aceite esencial de canela fue de 1000 ppm para el aceite esencial de canela.



Como se puede observar en los resultados presentados en la Tabla 2, el crecimiento micelial (desarrollo del hongo) en el aceite de canela puro fue nulo, porque existe una mayor concentración de compuestos como el aldehído cinámico, linalol o eugenol son componentes orgánicos activos que ayudan a inhibir el crecimiento microbiano. Según Rodríguez, la actividad antimicrobiana de este tipo de aceites esenciales se debe a que el doble enlace del grupo aldehído conjugado, es altamente electronegativo y pueden interferir en el proceso biológico que involucra la transferencia de electrones, por lo tanto, inhiben el desarrollo de microorganismos [30]

3.3. Variables Medidas en el Almacenamiento de Fresa (*Fragaria sp.*) Bajo Dos Condiciones

El lugar establecido para el almacenamiento de la fresa fue el Laboratorio de Nutrición animal y Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias en donde la fruta cosechada fue sometida a dos condiciones: temperatura ambiente ($T = 21^{\circ}\text{C}$ y HR de 67%) y temperatura de refrigeración ($T = 5^{\circ}\text{C}$ y HR 90%). En la Tabla 3 se presentan los porcentajes de cambios, con respecto a los parámetros sensoriales (color, textura, sabor y olor), químicos (pH, acidez titulable) y microbiológicos (Recuento de mohos y levaduras). Estos parámetros fueron medidos en las dos condiciones de almacenamiento anteriormente mencionadas y bajo los mismos protocolos y metodologías.

Table 3

*Resultados de acidez, pH, Temperatura, Mohos y Levaduras para frutilla (*Fragaria sp.*).*

Trat	Tiempo (días)	T ($^{\circ}\text{C}$)	Características sensoriales				Pruebas Físicas		Análisis microbiológico
			Color	Text	Olor	Sabor	pH	% Acidez	Recuento mohos y lev. (UPC/g)
Testigo	1	21	10	10	10	10	3,51	1,42	72 x 10 ²
T1	2	21	10	10	10	10	3,53	1,36	10 x 10 ³
T2	3	21	10	10	10	10	3,70	1,20	12 x 10 ³
T3	4	21	0	0	0	0	3,85	1,10	15 x 10 ³
T4	5	21	0	0	0	0	3,90	1,00	17 x 10 ³
T5	1	5	10	10	10	10	3,42	1,42	72 x 10 ²
T6	3	5	10	10	10	10	3,47	1,36	92 x 10 ²
T7	5	5	10	10	10	10	3,53	1,32	10 x 10 ³
T8	7	5	10	10	10	10	3,65	1,28	12 x 10 ³
T9	10	5	10	10	10	10	3,72	1,19	12 x 10 ³
T10	15	5	0	0	0	0	3,80	1,13	86 x 10 ²



Los cambios en las características sensoriales de las muestras de fresas (*Fragaria* sp.) almacenadas a temperatura de refrigeración alcanzaron un 60%, mientras que las muestras almacenadas a temperatura ambiente cercana a 21°C presentaron una variación del 90% en la apariencia general. En los ensayos realizados a 21°C existieron muestras de fruta con síntomas de la presencia de *Botrytis* sp. al día 5, y estas características se incrementaron en días posteriores. A partir del día 8 se pudo observar en la fruta almacenada a temperatura ambiente desarrollo completo de colonias de *Botrytis* sp. sobre la totalidad de las muestras dejándola inservible. En los ensayos realizados a temperatura de refrigeración 5°C, la fruta muestral almacenada fue atacada por hongos en el día 10, con incrementos en días posteriores. En las revisiones visuales periódicas realizadas, hasta el día 7 no existió la presencia de ninguna variedad de hongos, pero a partir del día 10 se pudo determinar la presencia de hongos y a estas condiciones un gran porcentaje de la fruta estaba inservible en el día 15. El atributo sensorial que sufrió menor variación, respecto a su calificación inicial, fue la textura. Los parámetros sensoriales oscurecimiento, sabor y olores extraños registraron los mayores porcentajes de cambio.

Para los microorganismos el pH es un factor determinante que permite o bloquea su normal desarrollo. La fresa por su nivel de acidez presenta valores de pH bajos que inhibe el crecimiento de agentes microbianos como bacterias, sin embargo, los hongos y levaduras pueden desarrollarse en condiciones extremas por lo que se constituyen en los principales agentes de alteración de frutas como la fresa. En cuanto a las características organolépticas, el pH junto con la medida de grados brix permiten calcular el índice de madurez de las frutas; por ello es lógico relacionarlo con el proceso de deterioro y pérdida de calidad. Las fresas al ir sufriendo su proceso normal de maduración por sus procesos fisiológicos normales van a cambiar sus características físicoquímicas disminuyendo el porcentaje de acidez y aumentando el pH y sus características organolépticas a causa de estos cambios, lo que se puede notar en las frutillas expuestas a 5°C y 21°C a lo largo del almacenamiento por el cambio de color y apariencia. Estos cambios se reflejan en la Figuras 1 y 2 que corresponden a la variación del valor del pH con respecto a la acidez, para los tratamientos de temperatura ambiente y de refrigeración.

La Figura 1 así como la Figura 2 muestran que la acidez, es un valor inversamente proporcional al pH, ya que a más porcentaje de acidez se presentarán valores de pH menores. Con el proceso de maduración de la fruta se observaron descensos en el contenido de la acidez total titulable, lo que indica, que se están utilizando los ácidos del fruto como substrato de respiración, debido a que los ácidos, en comparación con los carbohidratos, contienen, por cada átomo de C y de H, más átomos de O y así, la liberación de CO₂ es mayor que la toma de O₂, lo que se refleja en la Figura 3. Al mismo tiempo la Figura 3 establece que existe una mayor variación en menor tiempo de la

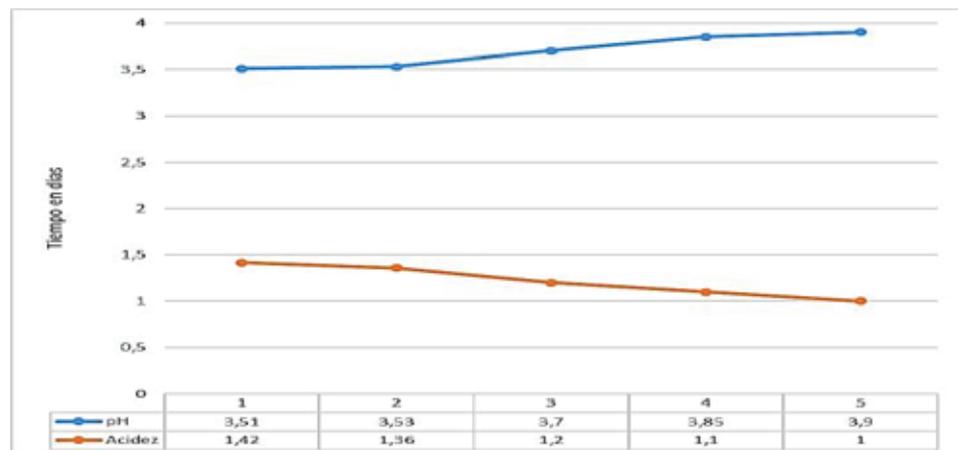


Figure 1

Variación del valor de pH con respecto a la Acidez – temperatura ambiente (21°C).

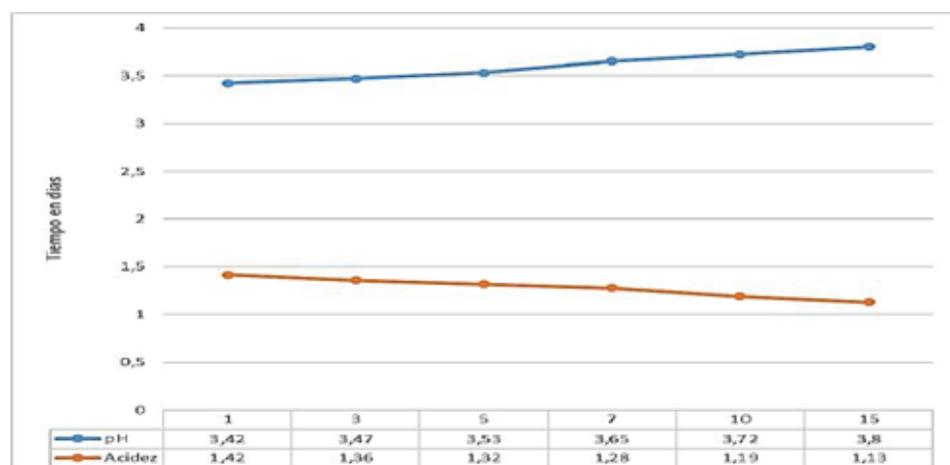


Figure 2

Variación del valor de pH con respecto a la Acidez – temperatura de refrigeración (5°C).

medida del pH, comparada con la variación que presenta la fruta en una temperatura de refrigeración en donde podemos determinar un cambio progresivo del valor de pH, es decir en un intervalo más largo de tiempo.

3.4. Determinación de la Actividad Antifúngica del Aceite esencial de Canela ‘In Vivo’ en Frutilla

La aplicación del aceite esencial de canela como conservante por el método de inmersión en concentraciones de 250 y 500 ppm, permitieron alargar la vida de anaquel de la fruta fresca, que al comparar este valor con bibliografía es de 7 días más de lo normal en un tratamiento de 5°C o temperatura de refrigeración. Mediante la presente investigación se incrementó en ocho días el período de vida útil de la fruta manteniéndose

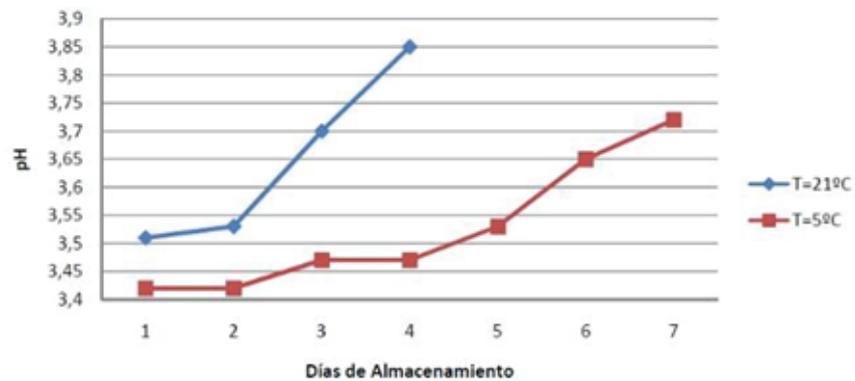


Figure 3

Variación del valor de pH en la Fresa almacenada bajo temperatura de refrigeración y temperatura ambiente.

características aceptables como se presenta en la Tabla 4. En general, el aceite esencial permitió conservar de mejor manera las características sensoriales e inocuidad de la fruta, aunque se presentaron algunos efectos adversos como los siguientes: presencia de sabores extraños, típicos del aceite esencial los cuales fueron más notorios en la fruta con una mayor concentración de aceite. Otro de los inconvenientes presentes fue el oscurecimiento de la fruta. De igual forma en la Tabla 4 se observa que hasta el día 15, la fruta no presentó ataque de microorganismos, ni ablandamiento, su presentación fue aceptable, conservando su calidad e inocuidad.

Luego de realizar los tratamientos con aceite esencial de canela aplicado a fruta fresca, se puede determinar que los valores de pH de la fruta sin recubrimiento aumentan bruscamente debido a la senescencia de los frutos, en cambio los valores observados para los tratamientos con Aceite esencial de Canela aplicados a la frutilla en concentraciones de 250 y 500 ppm se mantienen constantes con ligeros cambios; esto gracias a la combinación de estos factores con la temperatura de almacenamiento.

Las frutillas control presentaron un pH promedio de 3,51 al inicio del período de almacenamiento. Se obtuvieron valores de pH inicial más altos para las frutillas recubiertas con 250 y 500 ppm de aceite esencial como se muestra en la Figura 4, debido al pH de la solución de aceite esencial. Al final del período de almacenamiento, todos los tratamientos mostraron un incremento en su pH respecto al inicial de la fruta sin recubrimiento (control).

Las fresas que fueron recubiertas con una solución de 500 ppm de Aceite esencial de canela y que se almacenaron a una temperatura de 5°C (refrigeración), presentaron muy poco incremento en el valor de pH (0,05 unidades) y el mayor incremento se registró en la fruta recubierta con la solución de 250 ppm y almacenada a temperatura ambiente, siendo de 0,09 unidades.



Table 4

Resultados de acidez, pH, temperatura y unidades propagadoras (up/g) para frutilla (*Fragaria sp.*) con tratamiento de aceite esencial de canela.

Trat	Concen aceite (ppm)	Tiempo (días)	T (°C)	Características sensoriales				Pruebas físicas		Análisis microbiológico
				Color	Text	Olor	Sabor	pH	% Acidez	Recuento mohos y lev. (UP/g)
Testigo		1		10	10	10	10	3,51	1,42	72 x 10 ²
T1	250	5	21	10	10	10	10	3,84	1,32	12 x 10 ²
T2	250	5	5	10	10	10	10	3,83	1,30	12 x 10 ²
T3	500	5	21	10	10	10	10	3,86	1,34	13 x 10 ²
T4	500	5	5	10	10	10	10	3,84	1,31	12 x 10 ²
T5	250	7	21	10	10	10	10	3,89	1,29	12 x 10 ²
T6	250	7	5	10	10	10	10	3,88	1,27	12 x 10 ²
T7	500	7	21	10	10	10	10	3,87	1,30	13 x 10 ²
T8	500	7	5	10	10	10	10	3,85	1,29	12 x 10 ²
T9	250	15	21	10	10	10	10	3,93	1,25	12 x 10 ²
T10	250	15	5	10	10	10	10	3,90	1,26	12 x 10 ²
T11	500	15	21	10	10	10	10	3,91	1,25	13 x 10 ²
T12	500	15	5	10	10	10	10	3,89	1,28	12 x 10 ²

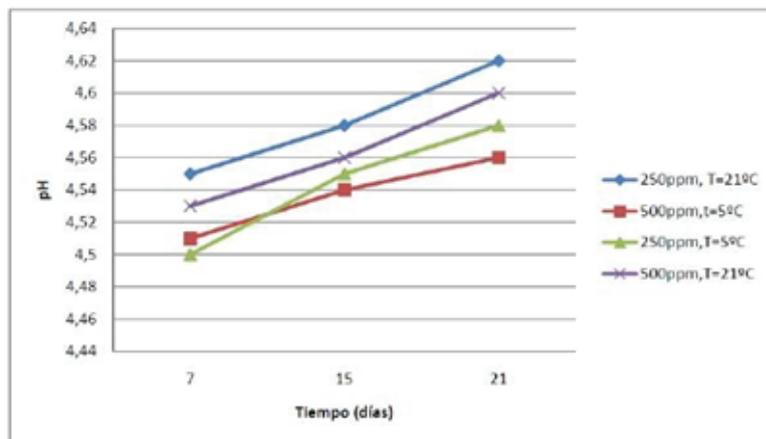


Figure 4

pH vs tiempo de almacenamiento para frutilla recubierta con aceite esencial de canela.

Las frutas que recibieron los tratamientos con 250 y 500 ppm de aceite esencial de canela, mostraron incrementos menores en los valores de pH comparadas con la variación de los valores de pH que presentaba la fruta control, es decir, estos recubrimientos estabilizaron el valor de pH retardando la senescencia del producto como se muestra en la Figura 5.

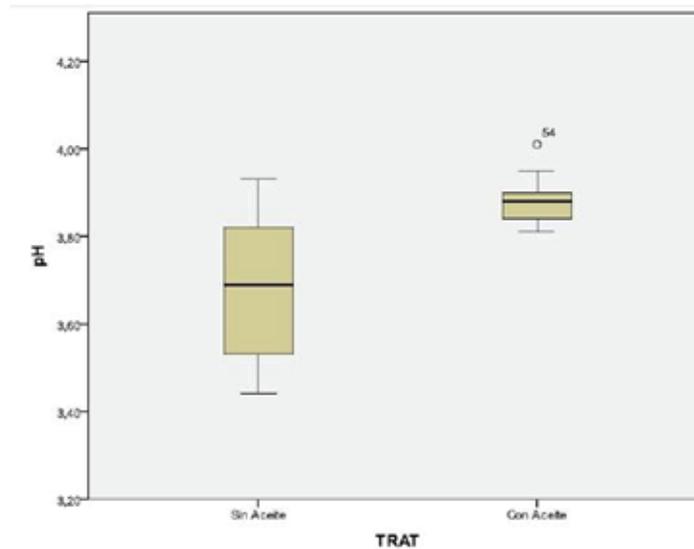


Figure 5

Nivel de comparación de los valores obtenidos para pH en frutilla con y sin recubrimiento de aceite esencial de canela.

La Tabla 5 presenta el Análisis de Varianza realizado para determinar la significancia que se presenta al realizar la prueba T para muestras independientes, dando como resultado que al comparar las fresas que recibieron el tratamiento con aceite esencial de canela con las fresas control (sin aceite) se puede observar que existen diferencias significativas entre ellas $p < 0,05$.

Table 5

Prueba t de muestras independientes para pH frutilla.

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
pH Se han asumido varianzas iguales No se han asumido varianzas Iguales	48,583	,000	-7,319	63	,000	-,19010	,02597	-,24200	-,13820
			-6,661	31,480	,000	-,19010	,02854	-,24826	-,13193

En la Tabla 4 se encuentran los valores promedio del porcentaje de acidez titulable para las fresas control y las fresas con tratamientos de aceite esencial de canela con

concentraciones de 250 ppm y 500 ppm que fueron sometidas a almacenamiento en temperaturas ambiente y de refrigeración.

Las frutillas recubiertas con aceite esencial presentaron el porcentaje de acidez más bajo que las frutas control. El hecho de que la fruta recubierta presente valores más altos está relacionado con la formulación de la solución de aceite esencial de canela que afectó el porcentaje de acidez de la fruta.

Al transcurrir 15 días de almacenamiento en refrigeración, se observó diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los porcentajes de acidez titulable para las fresas sin recubrimiento y las recubiertas con el aceite esencial de canela.

La disminución de la acidez fue generalizada incluso el control presentó una disminución en su acidez después del período de almacenamiento en temperatura de refrigeración. La disminución en el valor del porcentaje de acidez en la fruta demuestra que el proceso de senescencia se está desarrollando y también se presenta en las frutillas recubiertas con las dos concentraciones de aceite esencial propuestas en esta investigación.

En la Figura 6 se puede determinar que si bien es cierto tanto el control como las fresas con tratamiento de aceite esencial presentan disminución en el valor de la acidez; los tratamientos de aceite esencial de canela disminuyen lentamente a través en el transcurso del almacenamiento en temperatura de refrigeración, en cambio en los tratamientos que están al ambiente se presenta una disminución más notoria (3,84 a 2,86%).

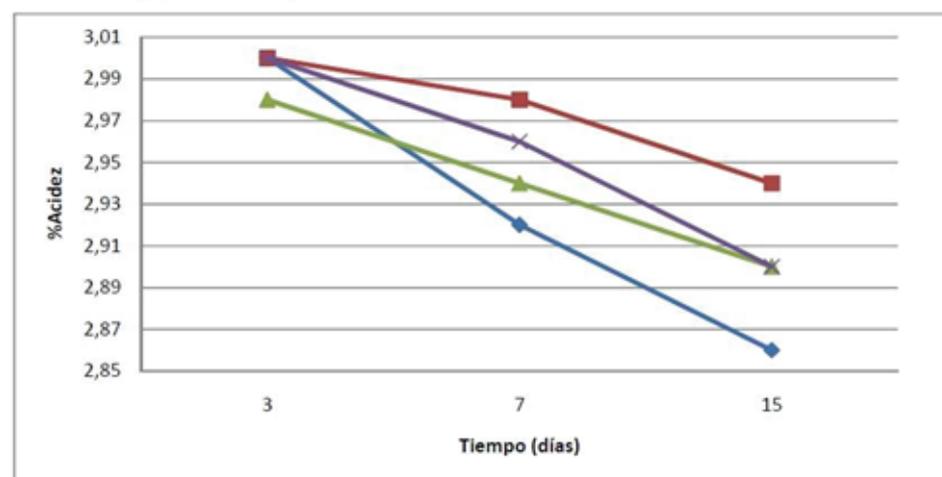


Figure 6

Porcentaje de acidez vs tiempo de almacenamiento para la frutilla recubierta con aceite esencial.

Con la prueba T se pudo determinar que no existieron diferencias significativas entre los dos tratamientos utilizados 250 y 500 ppm de aceite esencial de canela, pero existieron diferencias entre los tratamientos con y sin aceite. La Figura 7 refleja el



proceso de senescencia propio de las frutas analizadas, se observa la presencia de un descenso en los valores del porcentaje de acidez.

En los tratamientos con aceite esencial de canela se manifiesta una disminución menor de los valores de la acidez ya que la aplicación del aceite esencial de canela permite que las muestras retarden su proceso de senescencia.

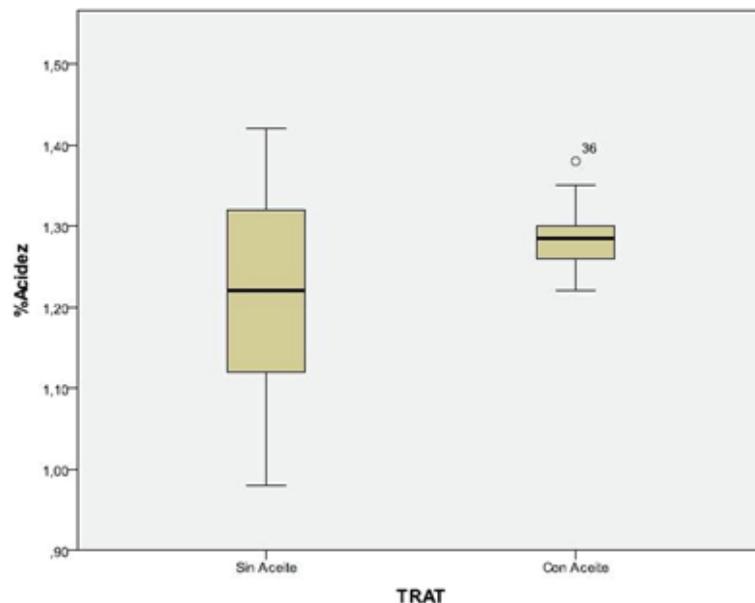


Figure 7

Valor de acidez en frutillas con y sin recubrimiento de aceite esencial de canela.

Según la Prueba T para muestras independientes, se prueba efectivamente que los tratamientos con aceite esencial de canela presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la fruta sin recubrimiento o control.

Demostrándose así que el valor de acidez decrece en menor proporción o más lentamente cuando se aplican los tratamientos de aceite esencial de canela, lo que favorece a mantener la calidad de las fresas y retarda su proceso de senescencia como se puede analizar en la Tabla 6.

4. Conclusiones

El presente estudio permitió comparar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de canela mediante el método de microdilución. El aceite esencial de canela (*C. zeylanicum*), presentó un efecto antifúngico sobre *Botrytis* sp. A partir de la dosis mínima probada, 125 ppm, se presentó una inhibición del desarrollo del hongo. A partir de una concentración de 250 ppm del aceite esencial, se inhibió completamente el crecimiento de la colonia de *Botrytis* sp., por lo que este aceite es una alternativa atractiva para el

**Table 6**

Prueba t de muestras independientes para acidez frutilla.

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
%Acidez Se han asumido varianzas iguales	47,962	,000	-2,842	63	,006	-,06136	,02159	-,10451	-,01821
No se han asumido varianzas iguales			-2,586	31,475	,015	-,06136	,02373	-,10972	-,01300

control de enfermedades causadas por *Botrytis* sp. en fruta fresca. Las concentraciones mínimas inhibitorias y fungicidas fueron: 250 y 500 ppm (títulos de las soluciones testadas) inhibiendo el crecimiento micelial del *Botrytis* sp. La aplicación del aceite esencial de Canela en concentraciones de 250 y 500 ppm retardó significativamente el aumento de pH a lo largo del período de almacenamiento a temperatura ambiente, así como retardó el crecimiento de mohos y levaduras presentando diferencias significativas con respecto al crecimiento de mohos y levaduras de la fruta sin recubrir. El análisis estadístico con la aplicación de la prueba T para muestras independientes, presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la fruta sin recubrimiento o control y las frutas con la aplicación del aceite esencial de canela en las dos concentraciones 250 y 500 ppm, por esta razón se retardó significativamente el aumento de pH a lo largo del período de almacenamiento a temperatura ambiente y de refrigeración con respecto al de la fruta control, manteniendo en mayor medida la acidez de la fruta y por ende conservando la calidad e inocuidad de la fresa.

References

- [1] Vera, Y., Boada, E., & Delgado, J. Comparación de tres empaques para la conservación en postcosecha de la fresa "Fragaria vesca". Revista de la Asociación Colombiana de ciencias y alimentos. [Internet]. 2016. [citado 22 de diciembre 2019]; Disponible en: <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/371>
- [2] Herrera María del Carmen. Proyecto de Factibilidad para la instalación de una planta congeladora de fresa (Fragaria vesca). [tesis de grado]. Ambato: Universidad Técnica de Ambato; 2006



- [3] Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., Cuadrado, C. Tablas de composición de alimentos. 10a Ed. Madrid: Pirámide; 2006.
- [4] FAO. Database. Faostat. 2006
- [5] Thompson, A. Almacenamiento en atmósferas controladas de frutas y hortalizas. Zaragoza: Acribia; 2003.
- [6] Reina C A. Manejo poscosecha y evaluación de la calidad de la mora de castilla (*rubus glaucus*) que se comercializa en la ciudad de neiva. [tesis de pregrado]. Colombia: Universidad Surcolombiana; 1998.
- [7] González, M. Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (*cinnamomum zeylanicum*). [tesis de pregrado]. Riobamba: ESPOCH. 2010.
- [8] Silva. A, Guerrero. E. Estudio del almacenamiento de manzanas en una cámara enfriada bajo condiciones ambientales. [tesis de pregrado]. Ambato: Universidad técnica de Ambato; 1998.
- [9] Fraire Cordero, M., Yanez, M., Nieto, D., & Vázquez, G. Hongos Patógenos en Fruto de Fresa (*Fragaria xananassa duch.*) [Internet]. 2003. [citado 12 de noviembre 2019]; Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221307>
- [10] Certis Europe España [página en internet]. Madrid: Moreira F; 2020 [actualizada en diciembre de 2019; acceso 03 enero 2020]. [aprox. 3 pantallas] Disponible en: <https://www.certiseurope.es/noticias-y-actualidad-agricola/news/botrytis-en-fresa-sintomas-y-tratamientos-para-esta-enfermedad/>
- [11] Cortés-Genchi, P et al. Síntomas ocasionados por plaguicidas en trabajadores agrícolas. Rev Med Ins Mex Seguro Soc. [Internet]. 2008 [citado 03 de noviembre]; 46. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/267302359>
- [12] Leroch, M., Kretschmer, M., & Hahn, M. Fungicide Resistance Phenotypes of *Botrytis cinerea* Isolates from Commercial Vineyards in South West Germany. Journal of Phytopathology, [Internet]. 2010. [citado 20 de diciembre 2019]; 159(1), 63-65. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2010.01719.x>
- [13] Tabora Andrade, L. A., Sanchez Orozco, M. S., Bonilla Correa, C. R., & Huertas Davey, C. Efecto fungistático de extractos y aceites esenciales de *Lippia organoides* HBK y *Thymus vulgaris* L. Como alternativas de manejo de *Botrytis cinerea* en fresa. Acta Agronómica [Internet]. 2010. [citado 17 de octubre 2019]; 64(1), 93-99. Disponible en: <https://doi.org/10.15446/acag.v64n1.35773>
- [14] Jayaprakasha, G. K., Ohnishi-Kameyama, M., Ono, H., Yoshida, M., & Jaganmohan Rao, L. Phenolic Constituents in the Fruits of *Cinnamomum zeylanicum* and Their Antioxidant Activity. Journal of Agricultural. Food Chemistry [Internet]. 2007 [citado 13 de diciembre 2019]; vol.54, pp. 1672-1679. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf052736r>



- [15] Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, supl.p/farmacias 2a edición, 2000. Disponible en: https://www.academia.edu/36546183/FARMACOPEA_DE_LOS_ESTADOS_UNIDOS_DE_AM%C3%89_RICA_NF_25_Volumen_1
- [16] Sánchez-González, L.; Vargas, M.; González-Martínez, C.; Cháfer, M. y Chiralt, A. Incorporación de productos naturales en recubrimientos comestibles para la conservación de alimentos. En memorias: VIII Congreso SEAE “Alimentación y Agricultura Ecológica”. Murcia. Bullas: Ed. Sociedad Española de Agricultura Ecológica.
- [17] González, M. Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (*cinnamomum zeylanicum*). [tesis de pregrado]. Riobamba: ESPOCH. 2010
- [18] Saltos A. Investigación y desarrollo de tecnologías aplicadas a la conservación de frutas – mora de castilla (*rubus glaucus benth*). [tesis de pregrado]. Ambato: Universidad técnica de Ambato. 2001.
- [19] Muller-Riebau F, Berger B y Yegen. O. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oil of selected aromatic plants growing wild in turkey. *Journal of agricultural and food chemistry*. [Internet]. 2005 [citado 13 noviembre 2019]; Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf00056a055>
- [20] Wilson, C. L., Solar, J. M., El Ghaouth, A., & Wisniewski, M. E. Rapid Evaluation of Plant Extracts and Essential Oils for Antifungal Activity Against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*. [Internet]. 1998 [citado 03 de octubre 2019]; Disponible en: <https://doi.org/10.1094/pdis.1997.81.2.204>
- [21] Daferera, D. J., Ziogas, B. N., & Polissiou, M. G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Protection* [Internet]. 2008. [citado 19 de octubre 2019]; 22(1): 39-44. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/s0261-2194\(02\)00095-9](https://doi.org/10.1016/s0261-2194(02)00095-9)
- [22] Bullerman, L. B., Lieu, F. y., & Seier, S. A. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils. Cinnamic aldehyde and eugenol. *Journal of Food Science* [Internet]. 1997. [citado 20 de octubre 2019]; 42(4): 1107-1109. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb12677.x>.
- [23] Tsao, R., & Zhou, T. Antifungal Activity of Monoterpenoids against Postharvest Pathogens *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructicola*. *Journal of Essential Oil Research* [Internet]. 2000. [citado 21 de octubre 2019]; 12(1): 113-121. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10412905.2000.9712057>
- [24] García., E. Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*cinnamomum zeylanicum* blume) y orégano (*origanum vulgare* l.) y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez pecanera. *Revista mexicana de fitopatología*. [Internet]. 2006.



- [citado 01 de enero 2020]; Vol (24): 8-12. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61224102>
- [25] Instituto colombiano de normas técnicas. Frutas frescas: fresa variedad chandler, especificaciones. NTC4103. Bogotá: icontec, 1997
- [26] Stone, H. Sidel, J.L. Sensory evaluation practices. Food science and technology. [Internet]. 2003 [citado 03 de enero 2020]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780126726909500056>
- [27] Association of official analytical chemists (A.O.A.C.). Official methods of analysis. 16a. Ed. Washington. D.c, A.O.A.C., 2000. pp. 376 – 384
- [28] Soliman, K. M., & Badaea, R. I. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food and Chemical Toxicology. [Internet]. 2004 [citado 19 de octubre 2019]; 40(11): 1669-1675. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(02\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(02)00120-5)
- [29] Mueller-Riebau, F., Berger, B., & Yegen, O. Chemical Composition and Fungitoxic Properties to Phytopathogenic Fungi of Essential Oils of Selected Aromatic Plants Growing Wild in Turkey. Journal of Agricultural and Food Chemistry [Internet]. 1995 [citado 19 de octubre 2019]; 43(8): 2262-2266. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf00056a055>
- [30] Rodríguez Saucedo, E. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. Ra ximhai, [Internet]. 2011.[citado 03 de enero 2020]; 153-170. Disponible en: <https://doi.org/10.35197/rx.07.01.2011.14.er>