



Foto 1. Naranja con síntomas de podredumbre verde causada por *Penicillium digitatum*.

Recubrimientos comestibles formulados con pectina y compuestos antifúngicos naturales para reducir la podredumbre verde y las pérdidas de calidad en naranjas 'Valencia Late' frigoconservadas

Se estudió la actividad antifúngica de recubrimientos comestibles (RCs) a base de pectina de cítricos, con la incorporación de extractos naturales y aceites esenciales como ingredientes antifúngicos contra *Penicillium digitatum* (PD), hongo causante de la podredumbre verde en cítricos. En ensayos *in vitro* se observó que los AEs de *Satureja montana*, canela (CN) y mirra (MY), el eugenol (EU), el geraniol (GE) y los extractos de vainillina y propóleo fueron los más efectivos, con inhibiciones del crecimiento micelial del hongo entre 90-100%. Las sustancias y concentraciones más efectivas (0,2-2%) se incorporaron al RC de pectina y se evaluó la actividad curativa en naranjas 'Valencia Late' inoculadas artificialmente e incubadas durante 8 días a 20°C. Posteriormente, con los mejores RCs, se evaluó la actividad curativa y la calidad fisicoquímica y sensorial de las naranjas durante 8 semanas de almacenamiento a 5°C más una semana a 20°C. Después de 8 días de incubación a 20°C, los RCs que contenían 0,2% GE, 0,8% EU o 1,5% MY redujeron la incidencia de la podredumbre verde un 40-60%. En condiciones de frigoconservación, los RCs con 0,2% GE y 0,8% EU redujeron la incidencia de la enfermedad en más del 50%, siendo el RC de EU el más efectivo reduciendo la pérdida de peso y proporcionando el mayor brillo. Por tanto, este RC presenta un alto potencial para reducir las pérdidas de poscosecha de los cítricos.

Palabras clave: Poscosecha, recubrimientos antimicrobianos, *Citrus sinensis*, pectina, aceites esenciales, extractos naturales

Paloma
Quintanilla^{1,2*},
María Victoria
Álvarez³,
Verónica Taberner¹,
María B. Pérez-Gago¹,
Lluís Palou¹

¹ Centre de Tecnologia
Postcollita (CTP),
Institut Valencià
d'Investigacions
Agràries (IVIA),
Montcada, Valencia.
*quintanilla_pal@
externos.gva.es

² Vicerrectorado
de Investigación,
Universitat Politècnica
de València (UPV),
València

³ Grupo de Investigación
en Ingeniería en
Alimentos. Facultad de
Ingeniería. Universidad
Nacional de Mar del
Plata.

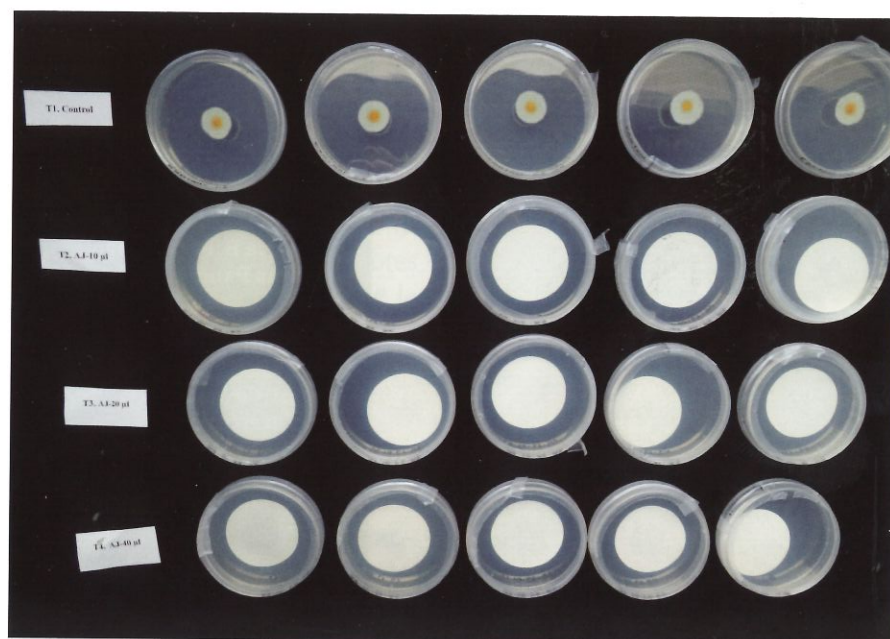


Foto 2. Ejemplo de ensayo *in vitro* de inhibición de *Penicillium digitatum* realizado según el método de exposición a compuestos volátiles.

Las enfermedades de poscosecha de los cítricos son causadas por hongos patógenos que infectan la fruta antes, durante o después de la cosecha, pero que se desarrollan tras la recolección, representando un riesgo económico importante para el sector. La podredumbre verde, causada por *Penicillium digitatum* (PD), es la enfermedad de poscosecha más importante de los cítricos en todo el mundo y, particularmente, en las regiones de clima mediterráneo (Soto-Muñoz y col., 2021; Foto 1). El uso de ceras convencionales, generalmente formuladas con fungicidas químicos, ha sido tradicionalmente la tecnología utilizada para reducir las podredumbres de poscosecha y prolongar la vida útil de los cítricos (Palou y col., 2015). Sin embargo, la aplicación continua de estos tratamientos conlleva serios problemas tanto de salud, como ambientales, ya que generan residuos químicos y conducen al desarrollo de cepas fúngicas resistentes (Guimarães y col., 2019). En este sentido, muchos países están restringiendo cada vez más el uso de fungicidas químicos de síntesis (Papoutsis y col., 2019). Asimismo, mercados como el de cítricos de 'residuo cero' o ecológicos, demandan cada vez más productos con niveles bajos o nulos de plaguicidas para satisfacer las demandas de calidad y seguridad de los consumidores, por lo que se necesitan

nuevas estrategias que prioricen la implementación de tratamientos de poscosecha alternativos más seguros para controlar las enfermedades de poscosecha y reducir las pérdidas.

En este sentido, en los últimos años, dentro de este tipo de estrategias, que podemos denominar de "control integrado no contaminante de enfermedades de poscosecha" (CINCEP), se están desarrollando y estudiando nuevos recubrimientos comestibles naturales (RCs) con propiedades antifúngicas para su aplicación en poscosecha de fruta fresca. En estos RCs, la actividad antifúngica se logra principalmente mediante la incorporación a las formulaciones de ingredientes antifúngicos no contaminantes, como pueden ser aceites esenciales (AEs), extractos de plantas, compuestos de baja toxicidad como aditivos alimentarios o sustancias GRAS (*Generally recognized as safe*) o microorganismos antagonistas como agentes de biocontrol (Palou y col., 2016; Papoutsis y col., 2019). Entre estos ingredientes, el uso de AEs y extractos naturales ha despertado mucho interés por su actividad antimicrobiana frente un amplio espectro de microorganismos en ensayos *in vitro* y distintos estudios han reportado su potencial para el control de enfermedades de poscosecha de los frutos cítricos (Duan y col., 2018; OuYang y col., 2020; Plaza y col., 2004). Sin embargo, la

mayoría de estas investigaciones se centran en soluciones acuosas de los extractos o en la aplicación de ceras comerciales convencionales a base de polietileno o goma laca formuladas con los AEs o compuestos volátiles. Tan solo algunos estudios reportan el efecto del quitosano como polisacárido base de los RCs (Cháfer y col., 2012; Shao y col., 2015), mientras que muchas otras matrices, como la pectina de cítricos, siguen sin haberse estudiado. Además, un gran número de extractos de plantas y compuestos volátiles no han sido evaluados como posibles agentes antifúngicos para controlar las enfermedades de poscosecha de los cítricos. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar varios extractos naturales de plantas y AEs como ingredientes antifúngicos de RCs a base de pectina (PEC) para controlar la podredumbre verde y mantener la calidad fisicoquímica y sensorial de naranjas 'Valencia Late' frigoconservadas a 5°C, a partir de estudios *in vitro* (selección de los agentes más efectivos) e *in vivo* (selección de los RCs antifúngicos con mayor actividad curativa en naranjas inoculadas artificialmente e incubadas a 20°C).

Materiales y métodos

Aceites esenciales (AEs) y extractos naturales

Los AEs utilizados para el estudio fueron: canela (CN, *Cinnamomum zeylanicum*) y citronela (LG, *Cymbopogon citratus*) suministrados por Sigma-Aldrich (St. Louis, EE UU), *Satureja montana* (SM) y mirra (MY, *Commiphora myrrha*) adquiridos en Essential' aroms (Lleida). Los compuestos puros que se evaluaron fueron el eugenol (EU), geraniol (GE) y vainillina (VA), adquiridos en Sigma-Aldrich. Los extractos naturales incluyeron: té verde (GT; *Camellia sinensis*) y propóleo (PRO), comprados en Guinama (Valencia).

Patógeno de estudio

Se utilizó la cepa NAV-7 de *Penicillium digitatum*, que se aisló e identificó a partir de frutos cítricos infectados procedentes de la zona citrícola de Valencia. Esta cepa forma parte de la colección de patógenos de poscosecha del CTP del IVIA y también está

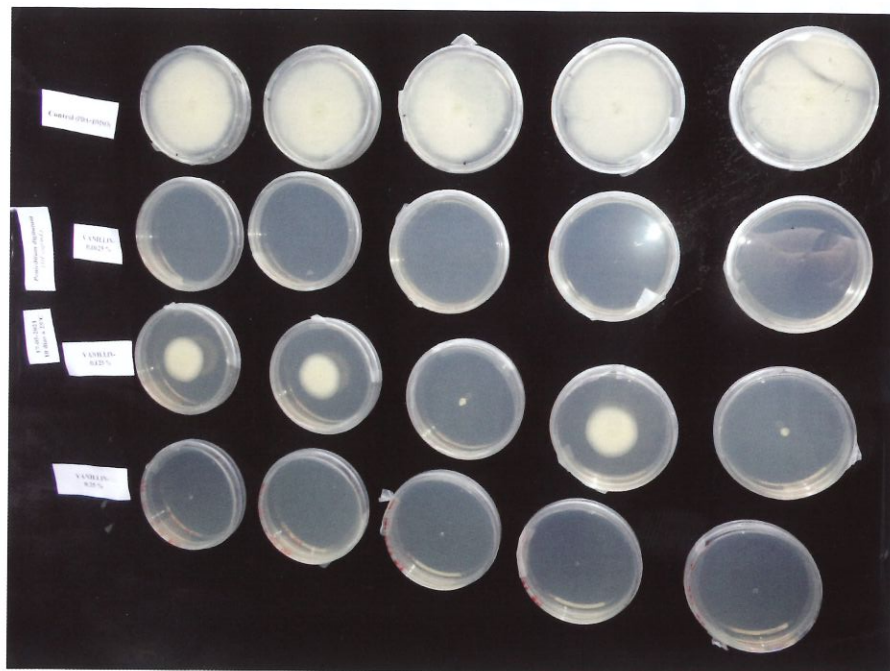


Foto 3. Ejemplo de ensayo *in vitro* de inhibición de *Penicillium digitatum* realizado según el método de dilución en medio agar.

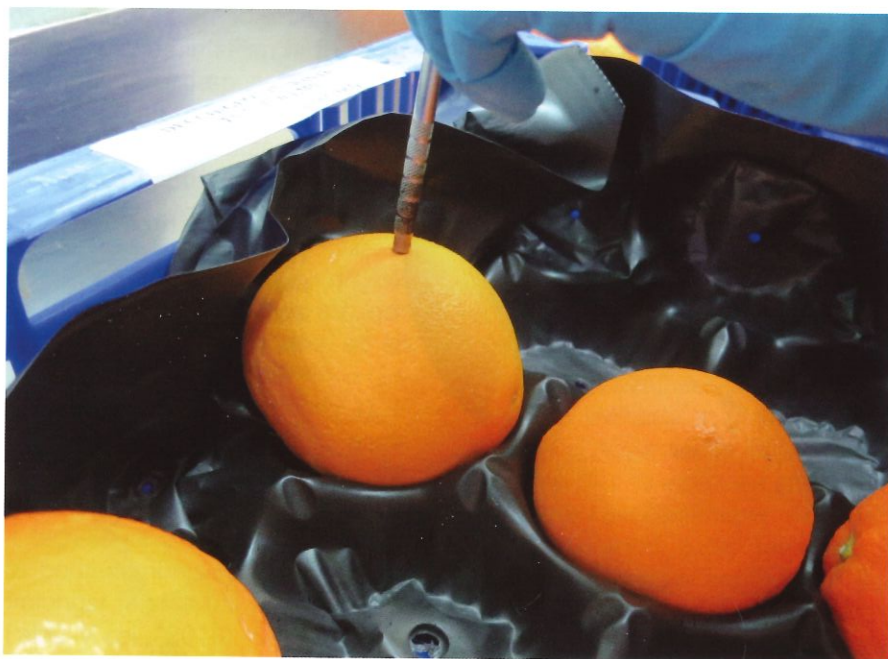


Foto 4. Detalle de la inoculación artificial de naranjas 'Valencia Late' con una suspensión de esporas de *Penicillium digitatum*.

depositada en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT, Universitat de València) con el número de acceso CECT 21108. Antes de los ensayos, el hongo se incubó durante 7-14 días en agar de patata y dextrosa (PDA).

Ensayos *in vitro*

Según la naturaleza química de los compuestos, se utilizaron dos métodos diferentes para evaluar la actividad antifúngica *in vitro*. Se utilizó el

método de "exposición a los compuestos volátiles", descrito por Plaza y col. (2004), para medir la actividad de los AEs y compuestos volátiles puros CN, LG, SM, EU y GE. Estos se aplicaron en dosis de 10, 20 y 40 μ L empapando discos de papel de filtro estériles de 55 mm colocados en la tapa de placas Petri de PDA de 90 mm de diámetro inoculadas con *P. digitatum* (Foto 2). Para los extractos secos y el AE de MY, se utilizó el método de "dilución en medio agar",

siguiendo la metodología descrita por Martínez-Blay y col. (2020) (Foto 3). En este caso, las concentraciones finales en el medio PDA fueron de 0,5, 1,0 y 2,0% GT; 0,5 y 1,0% PRO; 0,0625, 0,125 y 0,25% VA; y 0,125, 0,25 y 0,5% MY. En ambas metodologías, cada placa se inoculó con 20 μ L de una suspensión de 10^6 esporas/mL de *P. digitatum* en el centro del agar. Las placas se incubaron durante 7 días a 25 °C en oscuridad y se evaluó el crecimiento radial del micelio calculando la media de dos diámetros perpendiculares de la colonia fúngica. Para cada agente antifúngico y concentración se utilizaron 5 réplicas. Los resultados se expresaron como el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial respecto al control (placas inoculadas y sin sustancia activa).

Ensayos *in vivo*

Fruta utilizada y preparación del recubrimiento comestible antifúngico.

Los ensayos *in vivo* se realizaron con naranjas 'Valencia Late'. Los frutos seleccionados se distribuyeron al azar, tras ser desinfectados (0,5% de hipoclorito sódico), aclarados con agua y dejados secar a temperatura ambiente.

Todos los RCs se formularon con pectina de cítricos (PEC; Ceampectin RS 4710, DE 70-75%; CEAMSA, Pontevedra) y cera de abeja (BW; Guinama, Valencia) al 2% y 0,7%, respectivamente. Se incorporó glicerol como plastificante y una combinación de 1:1 de ácido oleico y palmítico como emulsificantes. Los AEs y los extractos naturales más efectivos en los ensayos *in vitro* fueron seleccionados como ingredientes antifúngicos e incorporados a los RCs.

Actividad curativa *in vivo* a 20°C.

Como inóculo fúngico se utilizaron placas del hongo de 7-14 días con las que se preparó una suspensión de 10^5 esporas/mL de *P. digitatum*. Cada naranja fue inoculada artificialmente realizando una herida (1x2 mm) en la zona ecuatorial con un punzón de acero inoxidable sumergido previamente en la correspondiente suspensión de esporas (Foto 4). Los frutos inoculados se incubaron durante 24 h a 20 °C y 90% de humedad relativa (HR). Tras ese periodo, los recubrimientos se aplicaron manualmente, agregando

0,4 mL del RC sobre cada fruto, y se dejaron escurrir y secar a temperatura ambiente sobre rejillas metálicas (Foto 5). El tratamiento control incluyó naranjas inoculadas, pero sin recubrir. Además, también se evaluó el recubrimiento a base de PEC sin la adición de agentes antifúngicos (PEC). Una vez secos, los frutos se colocaron en alvéolos plásticos sobre cajas y se incubaron hasta 12 días a 20°C y 90% HR. Durante este período, se determinaron la incidencia de la enfermedad (% de frutos infectados) y la severidad (mm de diámetro de la lesión) en 4 repeticiones de 5 frutas cada una para cada tratamiento.



Foto 5. Escurrido y secado de naranjas recubiertas con recubrimientos comestibles antifúngicos.

Estudio *in vivo* en condiciones de frigoconservación. Los RCs formulados con 0,8% CN, 0,8% EU, 0,2% GE y 1,5% MY fueron seleccionados de los ensayos anteriores para su evaluación durante el almacenamiento en frío. Además, se incluyeron un control sin recubrir y el RC de PEC sin agente antifúngico.

Efectividad de los RCs en el control de la podredumbre verde: la actividad curativa de los RCs frente a la podredumbre verde se evaluó en fruta inoculada artificialmente y almacenada a 5 °C y 90% HR. La incidencia y severidad de la enfermedad se evaluó en cuatro réplicas de diez frutos para cada tratamiento después de 2, 4 y 6 semanas.

Efecto de los RCs en la calidad de las naranjas: se recubrieron manualmente lotes de 70 naranjas por tratamiento tal y como se ha descrito anteriormente. Se evaluó la calidad fisicoquímica (% de pérdida de peso respecto al control, firmeza, índice de madurez, concentración de etanol y acetaldehído en el zumo) y calidad sensorial (calidad global, malos sabores, aspecto externo, brillo) de las frutas tras 4 y 8 semanas de almacenamiento a 5 °C y 90% HR más una semana de vida útil a 20 °C, siguiendo la metodología descrita por Valencia-Chamorro y col. (2009).

Análisis estadístico. Los resultados obtenidos se sometieron a análisis de la varianza (ANOVA). La incidencia de la enfermedad se calculó como porcentaje y se transformó mediante el arco seno de la raíz cuadrada para asegurar la homogeneidad de

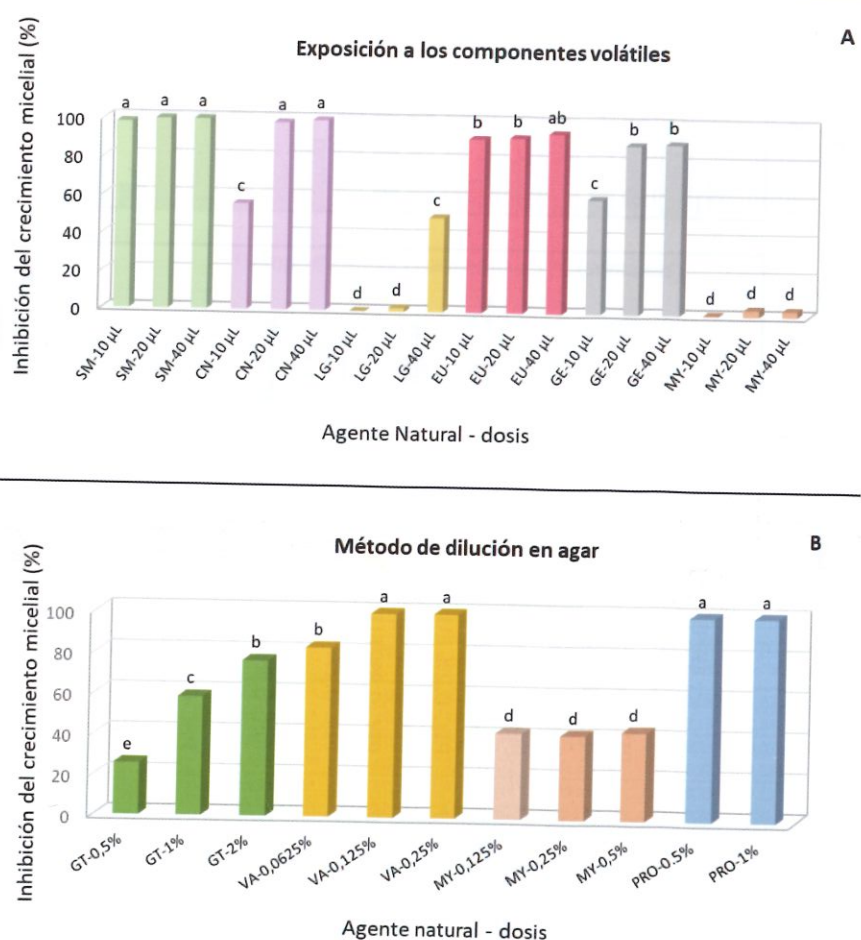


Figura 1. Inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de *Penicillium digitatum* frente a aceites esenciales y compuestos volátiles (A) y extractos naturales (B), tras 7 días de incubación a 25 °C. Medias de tratamientos con letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de la MDS ($p < 0,05$). Ver apartado 1 de Materiales y Métodos para agentes naturales.

las varianzas. Para la separación de medias se llevó a cabo la prueba de la Mínima Diferencia Significativa de Fisher (MDS), al 95% de confianza ($p < 0,05$). Todos los análisis se realizaron con el programa Statgraphics Centurion XVII (Statpoint Technologies Inc., VA, EE UU).

Resultados y discusión

Ensayos *in vitro*

La Figura 1 muestra el efecto de los diferentes agentes antifúngicos sobre el crecimiento micelial *in vitro* de *P. digitatum*. SM y EU fueron los agentes

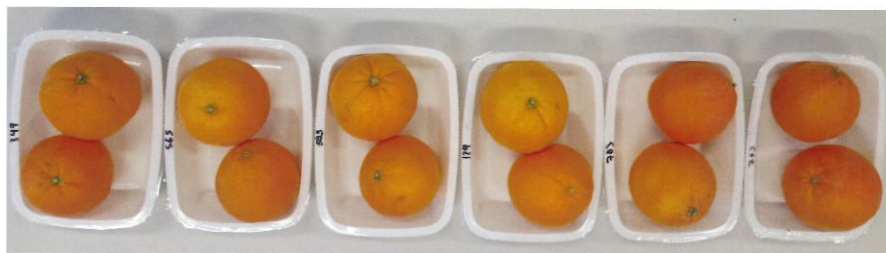


Foto 6. Muestras preparadas para la evaluación sensorial del aspecto externo y el brillo de naranjas recubiertas con recubrimientos comestibles antifúngicos.

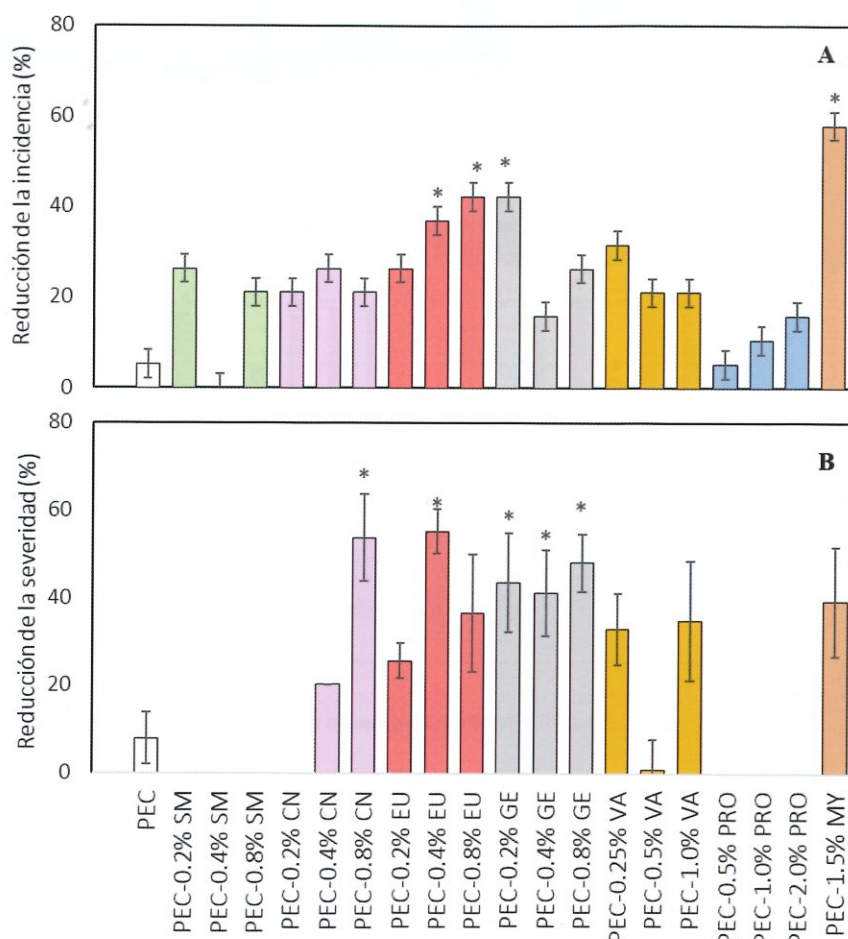


Figura 2. Porcentaje de reducción de la incidencia (A) y la severidad (B) de la podredumbre verde en naranjas 'Valencia Late' inoculadas artificialmente con *Penicillium digitatum* y recubiertas 24 h después con recubrimientos comestibles a base de pectina (PEC) y distintos aceites esenciales y extractos (ver apartado 1 de Materiales y Métodos), tras 8 días de incubación a 20 °C y 90 %HR. Líneas verticales en cada columna indican error estándar. * indica medias significativamente mayores que el recubrimiento de PEC sin agente antifúngico, según la prueba de la MDS ($p < 0,05$).

más efectivos aplicados como volátiles a una dosis de 10 μ L, presentando una inhibición del crecimiento radial del 90-100% (Figura 1.A). A una dosis de 20 μ L, CN y GE causaron el mismo efecto inhibitorio (90-100%). El AE de MY no mostró un efecto inhibitorio cuando se ensayó por el método de exposición a los compuestos volátiles. Sin embargo, incorporado al medio agar mostró un efecto inhibitorio moderado (Figura 1.B). Entre los demás

agentes antifúngicos probados por el método de 'dilución en medio agar', VA y PRO consiguieron una inhibición del crecimiento radial del hongo del 100% a concentraciones de 0,125 y 0,5%, respectivamente. GT presentó una efectividad del 76% a la concentración más alta ensayada. Por lo tanto, SM, CN, EU, GE, VA, PRO y MY fueron los agentes seleccionados para ser incorporados a los RCs y evaluados en los ensayos *in vivo* posteriores.

Actividad curativa *in vivo* a 20°C

En la Figura 2 se presenta la reducción de la incidencia y la severidad de la podredumbre verde después de 8 días de incubación a 20 °C en naranjas 'Valencia Late' respecto a la fruta control (sin recubrir). Los RCs formulados con 0,4% y 0,8% EU, 0,2% GE, y 1,5% MY redujeron significativamente la incidencia de la enfermedad en un 40-58% (Figura 2.A). Además, los RCs que contenían 0,8% CN, 0,4% UE y todas las concentraciones ensayadas de GE redujeron la severidad de la podredumbre en un 44-55% respecto al control (Figura 2.B). Por el contrario, SM, VA y PRO, que fueron muy efectivos en los ensayos *in vitro*, no resultaron efectivos incorporados a los RCs y aplicados en la fruta. Estas diferencias pueden atribuirse, entre otros factores, a interacciones del compuesto antifúngico con los componentes del RCs, que pueden afectar la disponibilidad y la capacidad de liberación del agente (Guimarães y col., 2019; Martínez-Blay y col., 2020). A partir de estos resultados, se seleccionaron los RCs que contenían 0,8% CN, 0,8% EU, 0,2% GE y 1,5% MY para ser ensayados en condiciones comerciales de almacenamiento en frío.

Estudio *in vivo* en condiciones de frigoconservación

Actividad curativa a 5°C. La efectividad de los RCs antifúngicos para controlar la podredumbre verde durante almacenamiento a 5°C se muestra en la Figura 3. Tras 4 semanas de almacenamiento, se observó que los RCs de EU y GE redujeron la incidencia de la enfermedad en más del 50%. Sin embargo, al finalizar el periodo de almacenamiento (6 semanas), no se observaron diferencias significativas entre el control y la fruta recubierta. En cuanto a la severidad de la enfermedad, los RC que contenían UE fueron los más efectivos, con reducciones de hasta el 70% respecto al control después de 4 semanas y por encima del 40% a las 6 semanas. La eficacia de los RCs antifúngicos disminuyó durante el almacenamiento, lo que confirma que el efecto de estos agentes naturales es más fungistático que fungicida, tal y como se ha descrito en otros trabajos con cítricos en los

que se han incorporado sales GRAS a RCs (Martínez-Blay y col., 2020; Soto-Muñoz y col., 2021).

Calidad fisicoquímica y sensorial.

La Tabla 1 muestra la calidad fisicoquímica y sensorial de las naranjas tras 4 y 8 semanas de almacenamiento a 5°C, seguidos de 7 días de simulación de la vida comercial a 20°C. La pérdida de peso de las naranjas osciló entre 2,9 y 3,8 % al final del almacenamiento. Los RCs que contenían EU, GE o MY redujeron significativamente la pérdida de peso respecto al control, siendo los formulados con EU y MY los más efectivos, con reducciones de alrededor de un 20% al final del período de conservación.

En general, el resto de los parámetros de calidad fisicoquímica evaluados no se vieron modificados por la aplicación de los RCs, a excepción del contenido de etanol y acetaldehído en el zumo. La firmeza disminuyó durante el almacenamiento, pero los RCs no afectaron a este atributo, con excepción del recubrimiento de CN que indujo una menor deformación al final del almacenamiento. En relación a la concentración de etanol y acetaldehído en el zumo, éstos aumentaron con el tiempo de almacenamiento, con rangos de entre 434,7 a 1148,9 y de 10,5 a 20,5 mg/L, respectivamente. Además, la fruta recubierta presentó mayor contenido de estos volátiles que la fruta control, lo que muestra la capacidad de estos RCs para modificar la composición gaseosa interna de la fruta al crear una barrera a los gases (Valencia-Chamorro y col., 2009). De todos los RCs, PEC-GE fue el que menor contenido de etanol en el zumo presentó al final de las 8 semanas en frío más 7 días a 20°C.

El incremento del contenido en etanol y acetaldehído de la fruta recubierta no tuvo un efecto negativo en la calidad sensorial ($p > 0,05$). No se detectó la presencia de malos sabores, ya que el contenido, principalmente el etanol, no llegó a los límites que inducen malos sabores reportados en trabajos previos con cítricos (Valencia-Chamorro y col., 2009). Por otra parte, todos los frutos fueron evaluados con un buen aspecto visual (Foto 6). Además, en la ordenación de los tratamientos en función del brillo,

las naranjas recubiertas con PEC-EU mostraron un brillo significativamente mayor que las recubiertas con el resto

de tratamientos a las 4 semanas de almacenamiento en frío más 1 semana de vida útil (datos no mostrados).

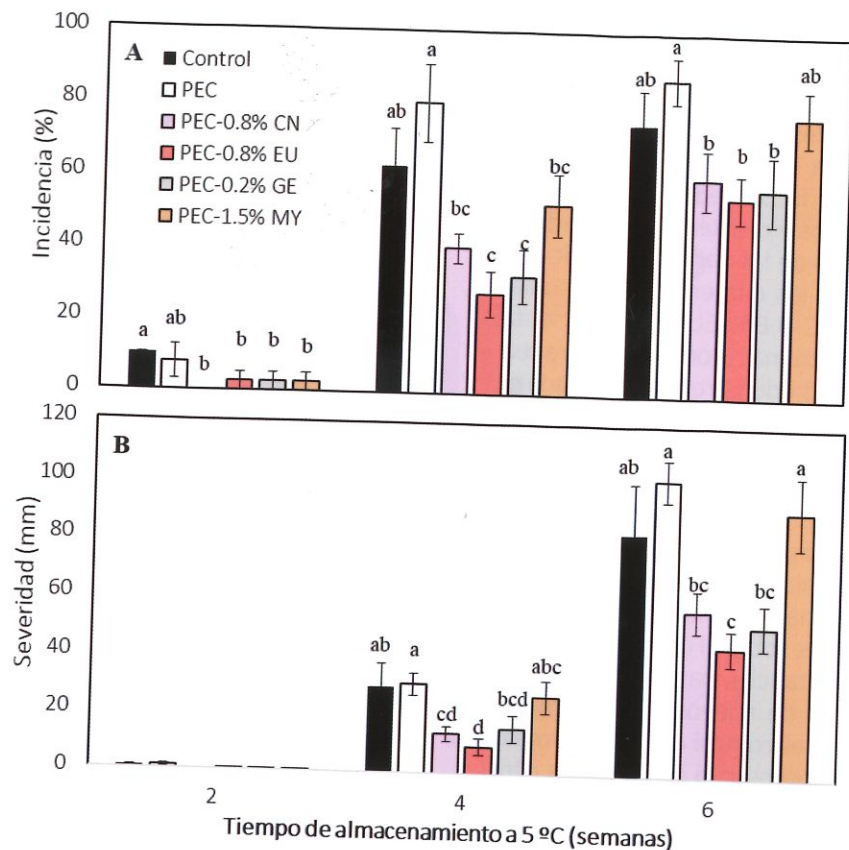


Figura 3. Incidencia (A) y severidad (B) de la podredumbre verde en naranjas 'Valencia Late' inoculadas artificialmente con *Penicillium digitatum*, recubiertas a las 24 h de la inoculación con recubrimientos comestibles a base de pectina (PEC) formulados con aceite esencial de canela (CN), mirra (MY), eugenol (EU) o geraniol (GN) como agentes antifúngicos, y almacenadas en frío durante 6 semanas. Medias de tratamientos con letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de la MDS ($p < 0,05$).

Tabla 1. Parámetros de calidad fisicoquímica y sensorial de naranjas 'Valencia Late' tratadas con recubrimientos comestibles a base de pectina de cítricos (PEC) y sustancias naturales antifúngicas y almacenadas a 5°C seguidas de un período de vida útil comercial de 7 días a 20.

Parámetros de calidad fisicoquímica	Condiciones de almacenamiento (Semanas a 5 °C + 1 semana a 20 °C)	Tratamientos					
		Control	PEC	PEC-0,8% canela	PEC-0,8% eugenol	PEC-0,2% geraniol	PEC-1,5% mirra
Pérdida de peso (%)	4	2,25 ± 0,07 ^a	2,26 ± 0,07 ^a	2,15 ± 0,10 ^{ab}	1,97 ± 0,09 ^{bc}	1,97 ± 0,08 ^{bc}	1,87 ± 0,08 ^c
	8	3,75 ± 0,12 ^a	3,77 ± 0,15 ^a	3,60 ± 0,13 ^{ab}	3,05 ± 0,16 ^c	3,34 ± 0,13 ^{bc}	2,94 ± 0,13 ^c
Firmeza (% deformación)	4	2,88 ± 0,09 ^a	3,01 ± 0,13 ^a	2,99 ± 0,18 ^a	3,08 ± 0,14 ^a	2,95 ± 0,13 ^a	3,05 ± 0,14 ^a
	8	3,50 ± 0,20 ^{ab}	4,00 ± 0,20 ^a	2,40 ± 0,23 ^c	3,33 ± 0,13 ^b	3,12 ± 0,20 ^b	3,37 ± 0,28 ^b
Acidez titulable (g/L ácido cítrico)	4	6,70 ± 0,55 ^a	8,12 ± 0,35 ^a	7,58 ± 0,31 ^a	8,19 ± 0,46 ^a	7,44 ± 0,23 ^a	7,13 ± 0,59 ^a
	8	7,17 ± 0,12 ^{bc}	8,90 ± 0,12 ^a	8,08 ± 0,52 ^{ab}	7,93 ± 0,42 ^{ab}	6,66 ± 0,26 ^c	7,84 ± 0,31 ^{bc}
Contenido sólidos solubles ("Brix")	4	12,0 ± 0,3 ^a	11,9 ± 0,1 ^a	10,7 ± 0,3 ^b	10,9 ± 0,1 ^b	11,8 ± 0,0 ^a	11,0 ± 0,2 ^b
	8	11,0 ± 0,1 ^a	11,2 ± 0,1 ^a	10,8 ± 0,2 ^a	10,6 ± 0,3 ^a	10,1 ± 0,4 ^a	11,2 ± 0,5 ^a
Etanol (mg/L)	4	316,1 ± 14,9 ^d	534,2 ± 91,5 ^{bc}	810,2 ± 105,2 ^a	712,3 ± 44,7 ^{ab}	544,0 ± 51,5 ^b	328,5 ± 57,2 ^{cd}
	8	434,7 ± 86,9 ^d	1039,7 ± 31,0 ^{ab}	1148,9 ± 78,0 ^a	905,9 ± 103,4 ^{bc}	747,1 ± 11,6 ^c	1011,6 ± 38,8 ^{ab}
Acetaldehído (mg/L)	4	10,5 ± 0,5 ^c	13,2 ± 1,1 ^{abc}	14,5 ± 0,9 ^a	15,0 ± 0,8 ^a	13,8 ± 0,7 ^{ab}	11,7 ± 1,2 ^{bc}
	8	10,5 ± 1,4 ^b	18,4 ± 0,3 ^a	20,5 ± 0,5 ^a	18,6 ± 1,5 ^a	19,1 ± 0,4 ^a	19,3 ± 0,5 ^a
Calidad sensorial							
Sabor global	4	6,8 ± 0,4 ^{ns}	6,6 ± 0,5	6,9 ± 0,5	6,8 ± 0,3	7,0 ± 0,7	7,1 ± 0,4
	8	4,4 ± 0,5 ^{ns}	4,9 ± 0,2	5,4 ± 0,4	4,6 ± 0,4	4,0 ± 0,7	5,8 ± 0,4
Malos sabores	4	1,2 ± 0,1 ^{ns}	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,0
	8	1,8 ± 0,4 ^{ns}	1,8 ± 0,4	1,5 ± 0,2	1,6 ± 0,3	2,0 ± 0,5	1,4 ± 0,3
Aspecto visual	4	3,0 ± 0,0 ^{ns}	3,0 ± 0,0	3,0 ± 0,0	3,0 ± 0,0	3,0 ± 0,0	3,0 ± 0,0
	8	2,4 ± 0,2 ^{ns}	2,5 ± 0,3	2,6 ± 0,2	2,5 ± 0,3	2,4 ± 0,3	2,4 ± 0,3

Media ± error estándar.

Para cada atributo de calidad y período de almacenamiento, diferentes letras y "ns" indican diferencias significativas y no significativas entre tratamientos, respectivamente, según la prueba de la MDS ($p < 0,05$).

Sabor global calificado de 1 - 9, malos sabores de 1 - 5 y aspecto visual de 1-3, siendo los valores menores los más desfavorables.

Conclusiones

Los resultados muestran que los RCs de PEC que contienen AEs como agentes antifúngicos son una alternativa no contaminante para controlar la podredumbre verde de los cítricos y mantener la calidad poscosecha de las naranjas 'Valencia Late'. Entre los diferentes RCs estudiados, el PEC-0,8% EU podría ser el tratamiento más prometedor para reducir la podredumbre verde causada por *P. digitatum* y no alterar la calidad de los cítricos, siendo una alternativa segura a las ceras comerciales formuladas con fungicidas químicos de síntesis. En general, la información obtenida en este estudio proporciona una base para futuras investigaciones sobre el uso de PEC de cítricos y sustancias naturales para el desarrollo de nuevos RCs con capacidad para el control de las enfermedades de poscosecha de los frutos cítricos.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del proyecto

StopMedWaste (EU PRIMA Programme-2019; NextGenerationEU/PRTR; "Agencia Estatal de Investigación", PCI 2020-112095). Se ha recibido financiación adicional del IVIA (Proyecto nº 51910) y del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) de la Generalitat Valenciana 2014-2020. La actividad investigadora de P. Quintanilla está financiada por el Programa de Recualificación del sistema universitario español (Ministerio de Universidades; contrato Margarita Salas-UPV; NextGenerationEU). La Dra. M.V. Álvarez cuenta con el apoyo de una beca externa del Programa postdoctoral financiado por el CONICET-Argentina. Por último, los autores agradecen a Fontestad S.A. (Montcada, Valencia) la colaboración prestada en el suministro de fruta y al Ceamsa S.A. (Pontevedra, Spain) por la pectina cítrica proporcionada.

Summary

The antifungal activity of citrus pectin-based edible coatings (ECs), formulated with natural extracts and essential oils (EOs) as antifungal ingredients, was evaluated against *Penicillium digitatum* (PD), the causal agent of citrus green mold. *Satureja montana*, *Cinnamomum zeylanicum* (CN),

Commiphora myrrha (MY) EOs, eugenol (EU), geraniol (GE), vanillin, and propolis extract were selected as the most effective antifungal agents against PD in *in vitro* assays, with mycelial growth inhibitions of 90-100%. The most effective agents and concentrations (0.2-2%) were incorporated into the pectin-based EC and the curative activity was evaluated in 'Valencia' oranges artificially inoculated and incubated for 8 days at 20°C. Finally, the effect of selected antifungal ECs to control green mold and the physicochemical and sensory quality of the oranges were evaluated during 8 weeks of storage at 5°C plus 1 week at 20°C. After 8 days of incubation at 20°C, the ECs containing 0.2% GE, 0.8% EU or 1.5% MY reduced the incidence of green mold by 40-60%. Moreover, during cold storage, ECs formulated with 0.2% GE and 0.8% EU reduced the incidence of the disease by more than 50%, being the coating with EU the most effective in reducing weight loss and providing the greatest shine. Therefore, the PEC-based coating containing EU could be a promising commercial treatment to reduce postharvest losses of citrus.

Bibliografía

- ! Cháfer, M., Sánchez-González, L., González-Martínez, C., Chiralt, A. 2012. Fungal decay and shelf life of oranges coated with chitosan and bergamot, thyme, and tea tree essential oils. *J. Food Sci.* 77, E182-E187.
- Duan, X., OuYang, Q., Tao, N. 2018. Effect of applying cinnamaldehyde incorporated in wax on green mould decay in citrus fruits. *J. Sci. Food Agric.* 98, 527-533.
- Guimarães, J.E.R., de la Fuente, B., Pérez-Gago, M.B., Andradás, C., Carbó, R., Mattiuz, B.H., Palou, L. 2019. Antifungal activity of GRAS salts against *Lasiodiplodia theobromae* in vitro and as ingredients of hydroxypropyl methylcellulose-lipid composite edible coatings to control Diplodia stem-end rot and maintain postharvest quality of citrus fruit. *Int. J. Food Microbiol.* 301, 9-18.
- Martínez-Blay, V., Pérez-Gago, M.B., de la Fuente, B., Carbó, R., Palou, L. 2020. Edible coatings formulated with antifungal GRAS salts to control citrus anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and preserve postharvest fruit quality. *Coatings* 10, 730.
- OuYang, Q., Okwong, R.O., Chen, Y., Tao, N. 2020. Synergistic activity of cinnamaldehyde and citronellal against green mold in citrus fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 162, 111095.
- Palou, L., Ali, A., Fallik, E., Romanazzi, G. 2016. GRAS, plant- and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. *Postharvest Biol. Technol.* 122, 41-52.
- Palou, L., Valencia-Chamorro, S.A., Pérez-Gago, M.B. 2015. Antifungal edible coatings for fresh citrus fruit: A review. *Coatings* 5, 962-986.
- Papoutsis, K., Mathioudakis, M.M., Hasperué, J.H., Ziogas, V. 2019. Non-chemical treatments for preventing the postharvest fungal rotting of citrus caused by *Penicillium digitatum* (green mold) and *Penicillium italicum* (blue mold). *Trends Food Sci. Technol.* 86, 479-491.
- Plaza, P., Torres, R., Usall, J., Lamarca, N., Viñas, I. 2004. Evaluation of the potential of commercial post-harvest application of essential oils to control citrus decay. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 79, 935-940.
- Shao, X., Cao, B., Xu, F., Xie, S., Yu, D., Wang, H. 2015. Effect of postharvest application of chitosan combined with clove oil against citrus green mold. *Postharvest Biol. Technol.* 99, 37-43.
- Soto-Muñoz, L., Martínez-Blay, V., Pérez-Gago, M.B., Fernández-Catalán, A., Argente-Sanchis, M., Palou, L. 2021. Starch-glycerol monostearate edible coatings formulated with sodium benzoate control postharvest citrus diseases caused by *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *Phytopathol. Mediterr.* 60, 265-279.
- Valencia-Chamorro, S.A., Pérez-Gago, M.B., del Río, M.A., Palou, L. 2009. Effect of antifungal hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)-lipid edible composite coatings on postharvest decay development and quality attributes of cold-stored 'Valencia' oranges. *Postharvest Biol. Technol.* 54, 72-79.