



UNIVERSIDAD
MICHOCANA DE SAN
NICOLAS DE HIDALGO



Facultad de Ingeniería y Tecnología de la Madera
División de estudios de Posgrado

**MODELO DE EMBALAJE A BASE DE ACEITES
ESENCIALES/CELULOSA PARA EL FRUTO
AGUACATE cv. HASS**

Tesis que para obtener el grado de
Maestro en Ciencias y Tecnología de la Madera

L.B.T NORMANDO ELIZONDO ORTIZ

Asesor

D.C. CRISANTO VELÁZQUEZ BECERRA

Co-asesor

D.C. MAURO MANUEL MARTÍNEZ PACHECO

Morelia, Michoacán

Octubre 2023

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo por ser mi alma madre en el ámbito académico, un miembro fructífero de la sociedad michoacana y orgullo nicolaíta

A la Facultad en Ciencia y Tecnología de la Madera por abrirme las puertas al conocimiento de áreas inexploradas con excelentes profesores y seres humanos que me guiaron para la realización personal y académica

A mis padres “Pedro y María Alejandra” por su aliento, motivación y acompañamiento que sin su ayuda no hubiese sido posible

A mi familia por todo el apoyo durante toda mi vida académica con sus guías y consejos

A mi asesor el D.C Crisanto Velázquez Becerra por guiarme no solo en lo académico, sino en lo personal

A mi co-asesor el D.C. Mauro Manuel Martínez Pacheco que, sin su espíritu laboral, competitivo, insistencia y carácter fortaleció debilidades que las creía incurables y demostró que si se quiere se puede

Al laboratorio de fisiología celular que más que un grupo de trabajo somos una familia en los buenos y en los malos momentos, pero siempre unidos con fuerza y voluntad que nada nos detiene

A Wily, Erick, Erick Daniel, Allister, Zachary amigos que se cuentan con los dedos de la mano y sé que, aunque no nos veamos siempre puedo contar con ustedes

A Gaby por ser un pilar muy importante un motor y un amor para conmigo siempre

A Timoteo por ser un pedazo de mi corazón en cuatro patas

“Mirarte con los años es el peso de los sueños”

Xenon

RESUMEN

La celulosa por su naturaleza biológica y química es un elemento primario para la fabricación de embalajes. Los embalajes de celulosa son los contenedores universales más útiles en la industria alimentaria por sus capacidades físicas y mecánicas beneficiosas durante la cadena de suministro. Sin embargo, se considera que tienen una protección “pasiva” que deja vulnerable el control microbiológico. El aguacate es un fruto de exportación mundial sensible al ataque de hongos fitopatógenos. El uso de fungicidas químicos es el método más aplicable en postcosecha, pero a lo largo del tiempo generó una resistencia sistémica y contaminación ecológica; por lo que, esta práctica se busca sustituir por tratamientos más ecológicos y menos invasivos. El cartón corrugado es el biomaterial principal para la realización de cajas para aguacate. Los embalajes de cartón corrugado tienen capacidad para funcionalizarse, esto con la aplicación de aditivos antimicrobianos en la matriz biopoliméricas que crea un sistema de atmósfera de protección al interior del embalaje y elimina la presencia de contaminantes fúngicos y mejora las propiedades físicas, de barrera y mecánicas. El propósito de este trabajo consistió en obtener un cartón corrugado funcionalizado con componentes naturales (aceites esenciales) para evaluar su efecto antimicrobiano contra hongos causantes de pudrición peduncular en aguacate (PPA). Por lo que, se evaluó el índice de crecimiento (IC) de PPA en cartón funcionalizado y el índice de severidad (IS) en aguacate en el uso de aceites esenciales (AE). Posteriormente, se analizaron sus propiedades físicas, mecánicas y de barrera con los recubrimientos de nanopartículas de quitosana (NP) y alcohol polivinílico (PVA). La última evaluación fue determinar el efecto antifúngico del cartón funcionalizado en la superficie de *C. acutatum*. Los resultados indicaron una inhibición del crecimiento de *C. acutatum* en el cartón funcionalizado. Se mostraron cambios en las propiedades de barrera con el uso de PVA y NP. Un efecto inhibitorio de *C. acutatum* se observó con el recubrimiento de PVA en la superficie del cartón corrugado. El cartón corrugado funcionalizado con PVA + AE de cítricos y *T. lucida* 5% y 10% queda como perspectiva para crear embalajes antimicrobianos.

Palabras claves: Embalaje, Cartón, Hongos fitopatógenos, Funcionalización

ABSTRACT

Cellulose, due to its biological and chemical nature, is a primary element for the manufacture of packaging. Cellulose packaging is the most useful universal container in the food industry due to its beneficial physical and mechanical capabilities during the supply chain. However, they are considered to have “passive” protection that leaves microbiological control vulnerable. Avocado is a worldwide export fruit sensitive to attack by phytopathogenic fungi. The use of chemical fungicides is the most applicable method in postharvest, but over time it generated systemic resistance and ecological contamination; Therefore, this practice seeks to replace it with more ecological and less invasive treatments. Corrugated cardboard is the main biomaterial for making avocado boxes. One of the benefits of corrugated cardboard packaging is its ability to be functionalized, this with the application of antimicrobial additives in the biopolymeric matrix that creates a protective atmosphere system inside the packaging and eliminates the presence of fungal contaminants and improves the properties. physical, barrier and mechanical. The purpose of this work was to obtain a corrugated cardboard functionalized with natural components (essential oils) to evaluate its antimicrobial effect against fungi that cause stem rot in avocado (APP). Therefore, the growth index (CI) of PPA in functionalized cardboard and the severity index (SI) in avocado were evaluated in the use of EO. Subsequently, their physical, mechanical and barrier properties were analyzed with the NP and PVA coatings. The last evaluation was to determine the antifungal effect of the functionalized cardboard on the surface of *C. acutatum*. The results indicated an inhibition of the growth of *C. acutatum* on the functionalized cardboard. Changes in barrier properties were shown with the use of PVA and NP. An inhibitory effect on *C. acutatum* was observed with the PVA coating on the corrugated cardboard surface. Corrugated cardboard functionalized with PVA + citrus EO and *T. lucida* 5 and 10% remains as a perspective to create antimicrobial packaging.

Keywords: Packaging, Cardboard, Phytopathogenic fungi, Functionalization

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	10
1.1 La celulosa y sus generalidades	10
1.2 La industria mundial de la celulosa	12
1.3 Los embalajes	13
1.3.1 Tipos de embalajes	15
1.3.2 Embalajes de celulosa	16
1.3.3 El cartón	17
1.4 Los embalajes de cartón corrugado para la industria frutihortícola	19
1.4.1 Limitaciones de los embalajes de cartón corrugado	21
1.4.2 Funcionalización del cartón corrugado	23
1.5 Recubrimientos en cartón corrugado	25
1.5.1 Aceites esenciales	25
1.5.2 Quitosano	27
1.5.3 Alcohol polivinílico (PVA)	28
1.6 El aguacate cv Hass y la susceptibilidad a <i>C. acutatum</i> en los embalajes celulósicos pasivos	29
1.7 Embalajes antimicrobianos de cartón corrugado para aguacate	31
2. JUSTIFICACIÓN	33
3. HIPÓTESIS	33
4. OBJETIVO GENERAL	33
4.1 OBJETIVOS PARTICULARES	33
4. MATERIALES Y MÉTODOS	34
4.1 Materia vegetal y reactivos	34
4.2 Preparación de recubrimiento biológicos	34

4.2.1	Nanopartículas de quitosana cargadas con el aceite esencial de cítricos (NP + AE de cítricos).....	34
4.2.2	Nanopartículas de quitosana cargadas con el aceite esencial de <i>T. lucida</i> (NP + AE de <i>T. lucida</i>).....	35
4.2.3	Solución de Alcohol polivinílico/Glicerol/Disolvente Eutéctico/Aceite esencial (PVA/Gli/DES/AE).....	35
4.3	Identificación del punto isobéctico de la señal característica de los aceites esenciales (AE) de <i>T. lucida</i> y cítricos	36
4.4	Índice de crecimiento (IC) de <i>C. acutatum</i> en cartón corrugado funcionalizado con aceites esenciales (AE).....	36
4.5	Evaluación <i>in situ</i> de la pudrición peduncular en aguacate (PPA) por <i>C. acutatum</i> con la aplicación del aceite esencial de <i>T. lucida</i>	37
4.6	Determinación de la liberación sostenida de los recubrimientos bioactivos en cartón corrugado	39
4.7	Adsorción de los AE en fijadores polímeros impregnados en matrices celulósicas.....	39
4.8	Determinación de las propiedades físicas del cartón corrugado funcionalizado.....	40
4.8.1	Gramaje	40
4.8.2	Porcentaje del contenido de humedad (% CH)	40
4.8.3	Espesor.....	41
4.9	Determinación de las propiedades de barrera del cartón corrugado funcionalizado.....	41
4.9.1	Permeabilidad al vapor de agua (WVTR)	41
4.9.2	Resistencia a la grasa.....	42
4.9.3	Ángulo de contacto.....	43

4.10 Microscopia electrónica de barrido (MEB) de la superficie funcionalizado con AE.....	43
4.11 Determinación de las propiedades microbiológicas del cartón corrugado funcionalizado.....	43
4.11.1 Evaluación antifúngica en la superficie de cartón corrugado funcionalizado.....	43
4.11.2 Evaluación antibacteriana en la superficie de cartón corrugado funcionalizado.....	46
4.12 Análisis estadístico.....	46
6. DISCUSIÓN	47
7. CONCLUSIÓN	57
8. BIBLIOGRAFÍA	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Obtención de fibras de celulosa a partir de la materia vegetal	12
Figura 2. Estructura del cartón corrugado para cajas de embalaje	20
Figura 3. Representación esquemática de los factores que influyen en las limitaciones de los embalajes de cartón corrugado	24
Figura 4. Aplicación de recubrimiento y funcionalización en cartón corrugado.....	25
Figura 5. Funcionalización de la superficie de cartón corrugado con la incorporación de AE en matrices poliméricas natural (Nanopartículas de quitosano) y sintéticas (PVA) para la obtención de embalajes antimicrobianos.....	27
Figura 6. Representación de la funcionalidad del embalaje de cartón corrugado con agentes antimicrobianos (aceites esenciales	31
Figura 7. Modelo de embalaje de celulosa funcionalizado con un recubrimiento y AE para la preservación del aguacate cv. Hass	33
Figura 8. (A) Tiempo 0 de la germinación de la spora de <i>C. acutatum</i> (B) Tiempo a las 4 h estadio de germínula de <i>C. acutatum</i>	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales de embalaje para la contención de alimentos	15
Tabla 2. Tipos de embalaje de acuerdo a sus características de operatividad	16
Tabla 3. Tipos de cartón aplicables en la industria de embalajes para alimentos y sus características	19
Tabla 4. Ejemplos de las capacidades de conservación de alimentos frutícolas en embalajes de cartón corrugado	21
Tabla 5. Proporcionalidad para preparación de las soluciones por grado de permeabilidad	43

1. INTRODUCCIÓN

1.1 La celulosa y sus generalidades

La celulosa es el segundo homopolímero biológico más abundantes en el reino vegetal. El nombre “celulosa” se acuñó en 1838 por el científico Anselme Payet que aisló y estableció la primera aproximación en cuanto a su estructura molecular ($C_6H_{10}O_5$). La proporcionalidad de elementos químicos constitutivos (45% de carbono, 6.5% de hidrogeno y 48% de oxígeno), obtuvo por hidrolisis a la “celobiosa” y logró un avance en la purificación de enzimas degradadoras de almidón “ α -amilasa” (Payet, 1839). La celulosa es un polímero versátil, accesible para modificaciones químicas, económico, biodegradable y natural. La celulosa al día de hoy es la fibra natural más útil para la obtención de materiales de primera necesidad (Lavanya *et al.*, 2011). La **Fig 1.** ilustra el proceso de obtención de celulosa.

Las características de la celulosa demuestran que es un biopolímero orgánico natural, higroscópico, anisotrópico, insulso, insoluble en solventes polares, isométrico, quiral, inocuo, aislante eléctrico, termoestable, de densidad baja y biodegradable (Updegraff, 1969; Nilsoon *et al.*, 1995; Bledzki *et al.*, 1996; Chandra y Rustigi, 1998; Anderson, 2008; Zugenmaier, 2008).

La principal fuente de abastecimiento de celulosa es la materia vegetal y se encuentra en forma de microfibrillas. Las plantas constituyen el 70% de la producción de celulosa; el 50% maderas duras y 40% maderas blandas (Shokri y Adibki, 2013). Las plantas sintetizan hasta 180 mil toneladas de celulosa cada año y son integrantes elementales del soporte mecánico y resistencia en la pared celular primaria (Cosgrove, 2005). La celulosa se puede obtener de otros organismos como *Valonia ventricosa*, *Halocynthia papillosa* y *Pseudomonas* sp. (Kleem *et al.*, 2005; Madsen y Gamstedt, 2013; Niu *et al.*, 2020).

La constitución estructural de la celulosa es una serie de unidades repetidas de D-glucopiranosas unidas covalentemente por cadenas no ramificadas por enlaces β -1-4-O-glucosídico, peso molecular de 200 000 - 800 000 (g/mol) dependiente de la especie

vegetal, unidades repetidas de glucosa de 200 a 500, grosor de las fibras de 3.5 nm y largo de 100 nm (Habibi *et al.*, 2011; Moon *et al.*, 2011).

La química de la celulosa demuestra un grado de polimerización (GP) de 1 000 - 30 000 nm, semi-cristalinidad del 40-60% por los tres radicales hidroxilo libres (OH⁻) que conforman enlaces intramoleculares e intermoleculares de fuerza débil (puentes de hidrogeno o Van der Waals) que origina una extensión a la orientación planar característico de las fibras de celulosa al acumularse consecuentemente forman una matriz polimérica heterogénea que determinan su estado físico-químico (Oh *et al.*, 2005; Kamide, 2005; loelovich, 2008; Avolio *et al.*, 2012).

Las características físicas de la celulosa son: densidad de 1.5 (g/cm³), punto de fusión de 270 °C, peso molecular de 162 141 (g/mol), resistencia a la flexión longitudinal, restricción en liberación calorífica y comportamiento físico – mecánico variable por su aspecto espacial en los ejes axial, radial y tangencial. La cristalinidad se correlaciona a la resistencia mecánica de la celulosa (Watanabe *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2002; Khalil *et al.*, 2018).

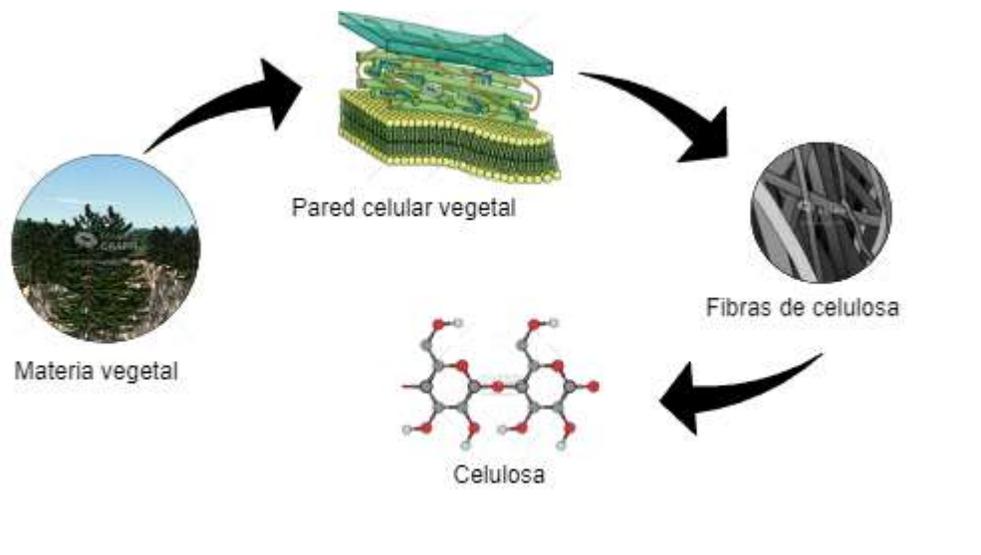


Figura 1. Obtención de fibras de celulosa a partir de la materia vegetal

1.2 La industria mundial de la celulosa

La celulosa tiene antecedentes históricos beneficiosos desde la aparición de los primeros homínidos que la descubrieron y utilizaron en forma rudimentaria para la fabricación de cajas, cestas, bolsos y utensilios de celulosa para transportar cárnicos, granos, frutas u hortalizas que incluso perduran hasta nuestros días en la vida cotidiana.

La celulosa en la industria tiene una presencia significativa. La cantidad de biomasa que se produce anualmente son 10^{12} millones de toneladas por año para materia prima, modificación y transformación en sectores de la farmacéutica, automotrices, electrodomésticos, embalajes, alimentos, cosméticas.

En términos de modelo de negocios internacional deja una derrama económica de 346 millones de dólares, para el 2026 se estima un crecimiento en su demanda del 2.6% y que aumente su tasa de valorización a 900 millones de dólares. La industria celulósica emplea en el mundo a más de 3 000 000 de personas. El observatorio de complejidad económica (OCE) menciona que la celulosa ocupa el lugar 466° en el índice de complejidad de productos (ICP), lugar 280° en el ciclo de retribución en la actividad económica y una utilidad bruta de 6 000 millones de dólares (Cosgrove, 2005, Smither-Piras, 2017; Observatory of Economic Complexity, 2021).

Los 10 países dominante en el sector celulósico lo conforman: Estados Unidos, Canadá, Japón, China, Finlandia, Suecia, Alemania, Brasil y Francia. Los Estados Unidos de América (EUA) son el primer lugar en exportación de celulosa con el 96.9% en Norteamérica, Canadá (2.37%) y México (0.33%) en la zona económica de Norteamérica. La industria de celulosa y sus derivados en México promueven el empleo directo e indirecto de 400 000 mil personas y el intercambio comercial con una derrama económica de 247 millones de dólares (SEGOB, 2023). La industria mexicana de la celulosa hace la transformación a papel y cartón para posteriormente transformarlo a embalajes, Una de las áreas de mayor crecimiento son el uso de celulosa por las tendencias de “ecotecnologías verdes”.

El papel y el cartón son los productos de transformación primarios para embalajes de alimentos con mayor demanda en los mercados nacionales e internacionales (Stenius, 2000; Khwaldia *et al.*, 2010; Bogatti, 2011; Jones y Comfort, 2017).

1.3 Los embalajes

El embalaje es un “sistema operacional de contención, protección, almacenaje y transporte de un bien mercantil con la finalidad de perpetuar la seguridad e integridad del producto contra daños externos y llegar a los confines de los consumidores” (Coles, 2003; Robertson, 2006; Robertson, 2018; Schmid *et al.*, 2023).

El embalaje cumple tres principios básicos desde su origen: resguardo, utilidad e información. El resguardo significa la protección contra daños ambientales (vibraciones, humedad, insolación, oxidación, contaminación microbiana o magulladuras). La utilidad es la facilidad del diseño/apilamiento que permita la óptima manipulación y el transporte y, por último, la imagen e información que la atención del posibles compradores y representa un embajador de la marca (Lockhart, 1997; Risch, 2009).

En términos socioeconómicos los embalajes representan hasta el 2% de producto interno bruto (PIB), ganancias lucrativas de 400 billones de dólares, emplea a más de 500 000 personas en todo el mundo y es un elemento ingenieril indispensable para la transportación, terrestre, aérea o marítima de productos alimentarios, electrónicos, automotrices, farmacéuticos, etc. (Sydow y Bieńczyk, 2018).

El área con mayor ocupación de embalajes son los alimentos envasados ya que requiere seleccionar los materiales y tecnologías necesarias indispensable para preservar la comida (Ibrahim *et al.*, 2022). Los alimentos frescos (aguacate, fresa, nectarina, uvas, lechugas), procesados (pizza, hamburguesas, cereales, té, panificadoras, confituras) y las bebidas alcohólicas/no alcohólicas son los principales acaparadores de embalajes primarios, secundarios o terciarios (Soroka, 2002).

La cadena de suministro es un punto crucial en la participación de los embalajes por el control de calidad, la movilidad de los mercados minoristas que exigen la inmediata exhibición del producto, posicionamiento y comercialización del producto (Rodríguez, 1997; Emblem, 2012).

Los materiales derivados de distintas fuentes a día de hoy son cuatro elementos los más aplicables en embalajes que se representan en la **Tab. 1**. Del 100 % en la manufactura de embalajes, el 34% son cajas de cartón y envoltorios de papel, 34% cajas y bolsas de plástico, 17% botellas y latones de metal, 10% botellas de vidrio y 5% fibras de celulosa (cestas tejidas, canastas) y madera (huacal) (Embleem, 2012).

Tabla 1.

Materiales de embalaje para la contención de alimentos

	Tipo de material			
	Cartón	Plástico	Metales	Vidrio
Características	Económico	Impermeable	Anticorrosivo	Inerte
	Resistente	Económico	Impermeable	No migrante química
	Biodegradable	Termoestable	Termosellable	Termoestable
Percepción del cliente	Limpieza	Un solo uso	Almacenaje	Fineza
	Naturaleza	Desecho prematuro	Esterilidad	Pulcritud
	Reutilidad		Reutilidad	Limpieza
Área de aplicación	Frutas Verduras	Frutas Verduras	Refrescos Agua	Cerveza Vinos



Nota. Datos obtenidos de Kirwan y Strawbriggs, 2003; Marsh y Bugusu, 2007; Emblem, 2012

1.3.1 Tipos de embalajes

Los embalajes se dividen por sus características de utilización de acuerdo al área de operación que se requieren y desarrollen. La **Tab 2.** ejemplifica la influencia en embalajes puede aumentar costos, reducir los tiempos de entrega de los productos o mejorar su calidad

Tabla 2.

Tipos de embalaje de acuerdo a sus características de operatividad

	Primario	Secundario	Terciario
Características	Son embalajes de contacto directo con el alimento	Son embalajes para adjuntar empaques pequeños y depositarlos en un embalaje de mayor dimensión	Son embalajes para recolectar embalajes secundarios y primarios para su exportación terrestre, aérea o marítima
Ejemplo			

1.3.2 Embalajes de celulosa

Los embalajes sustentables en conjunto con las eco-tecnología “verdes” son tendencias ambientales sólidas que reducen la huella de carbono, emisiones de CO₂, aprovechamiento de recursos multifuncionalidades en áreas aplicativas y fácilmente biodegradables (Pan *et al.*, 2016). La demanda de embalajes sustentables se plantea que alcance hasta 1 billón de dólares y un crecimiento en su demanda del 2.7% (Smithers-Pira, 2017).

Los embalajes de celulosa ocupan un lugar privilegiado para la contención y exportación de productos por sus capacidades de resistencia físico mecánicas, economía, ecología y reutilización (Afra *et al.*, 2016). El uso de embalajes de celulosa (papel o cartón) para el año 2027 se espera un incremento en su utilidad del 3.5 % y una derrama económica superior de los 500 mil millones de dólares. Los embalajes celulósicos a base de fibras naturales producen cestas, bolsas, empaques que preservan productos alimentarios (Ramesh *et al.*, 2020). A los consumidores les parece una estrategia excelente los embalajes celulósicos aun con un aumento de precio pues lo asocian a pulcritud e higiene (Srivastava *et al.*, 2022).

La creciente población depende invaluablemente de los embalajes pues son elementos competitivos en la cadena de suministro en cualquier producto. Esto suscita a la creación y retorno de embalajes verdes que genere concientización y una gestión continua de los recursos. La principal función de los embalajes de celulosa es la trasportación y almacenamiento de alimentos (frutas, verduras, bebidas), el incursionar en embalajes amigables, ecológicos, costeables y agradables para el cliente aporta un margen importante de utilidad además de extender la vida en anaquel (Kirwan, 2005; Aviat *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2017).

1.3.3 El cartón

El cartón es un subproducto celulósico reforzado que se fabrica a partir de fibras Kraft vírgenes provenientes de maderas duras, blandas, desechos maderables o reciclaje de desperdicios celulósicos (Del Curto *et al.*, 2016). El cartón es un elemento obtenido a partir de fibras vírgenes de celulosa por un reforzamiento del papel, ortotrópica con capacidades diversas de acuerdo al eje de corte (prensado, perpendicular y plano (Jiménez-Caballero *et al.*, 2009). El cartón es un material biológico, reciclable, biodegradable, hidrofílico, poroso, áspero, heterogéneo, fibroso, rígido, resistente a la compresión perpendicular y paralela (Ramarao y Chatterjee, 2000; Bastioli, 2001; Afra *et al.*, 2016).

Un cartón se caracteriza por un gramaje ≤ 200 g/m², espesor mínimo de 0.2 mm, sistema simple o multicapas, versatilidad de moldeo, modificación química y uso para contacto directo con alimentos por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) como material de embalaje (Soroka, 1999; Marsh y Bugusu, 2007). El cartón desde una percepción sensorial es aceptable para la población por su salubridad, olores y colores naturales referentes al ecosistema a diferencia de los plásticos (Fernqvist *et al.*, 2016)

La industrial cartonera centra su producción principalmente en el embalaje de alimentos. Las cajas de cartón corrugado son las más solicitadas para la importación y exportación de alimentos. Los alimentos de contención con más demanda en embalajes de cartón son frutas, verduras, cárnicos, embutidos, quesos, bebidas azucaradas, bebidas alcohólicas, zumos, confitería, panificación congelados, farmacéuticos, electrodomésticos y cosméticos (Cataldi *et al.*, 2019).

El cartón tiene subcategorías de acuerdo al grado de necesidad y destino final del cliente. Los embalajes en la **Tab 3**. son más específicos en los requerimientos para su venta y consumo.

Tabla 3.

Tipos de cartón aplicables en la industria de embalajes para alimentos y sus características

Cartón corrugado	Cartón blanco	Cartón sólido	Aglomerado
Capa interior y exterior de papel Kraft con un acanalado central Resistente a golpes y compresión Contacto directo con alimentos Recubrimiento	Capa delgada Blanqueo químico Contacto directo con alimentos Recubrimiento con cera	Varias capas gruesas Blanqueo químico Embalaje secundario para zumos o bebidas no alcohólicas Resistente	Reciclado Imperfecciones o impurezas Económica Embalajes secundarios o terciarios de bolsas de té
			

El cartón corrugado es la mejor opción para el almacenamiento, transporte, venta al por mayor y comercialización de mercancía por su capacidad de resistencia a la compresión, apilamiento, economía, trazabilidad y biodegradabilidad (Heredia-Guerrero *et al.*, 2017). El cartón corrugado para la industria mercantil necesita anualmente 100 000 millones de t/m² para fabricación de embalajes; el 80% del cartón corrugado se implementa de base para la elaboración de cajas de cartón corrugado (Lu *et al.*, 2001; Twede y Selke, 2005).

La **Fig 2.** es la estructura del cartón corrugado que consiste en dos o más laminas planares adyacentes a un ondulado reforzado de nervio central tipo flauta adherido con cola natural “almidón” por un prensado que finaliza en una conformación de emparedado que le otorga un sistema multicapa voluminoso, fuerza a la compresión y capacidad de amortiguamiento (Twede y Selke, 2005; Marsh y Bugusu, 2007; Martínez–Sartorius, 2009; Navaranjan y Johnson, 2006; Kaushal *et al.*, 2021).

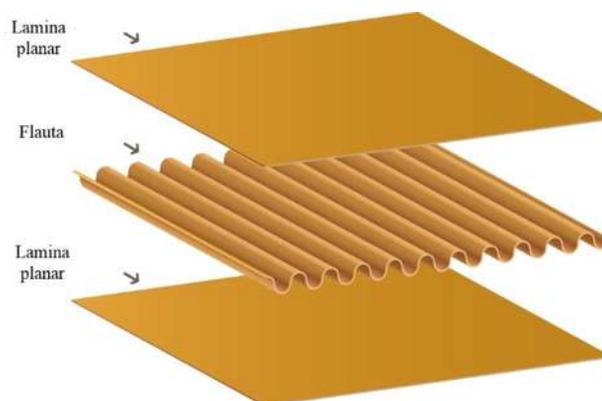


Figura 2. Estructura del cartón corrugado para cajas de embalaje

1.4 Los embalajes de cartón corrugado para la industria frutihortícola

El cartón corrugado se emplea de embalaje primario en contacto directo para la exportación de frutas, verduras, cárnicos, lácteos o mariscos y embalaje secundario en pizza, hamburguesas, helados o sopas instantáneas (Navaranjan y Johnson, 2006).

Las frutas y verduras son los alimentos de mayor desplazamiento y ocupación de cajas de cartón corrugado (Opara y Mditshwa, 2013). Los embalajes de cartón corrugado especialmente las cajas son los elementos más aplicables para limitar daños y complicaciones operativas durante la cadena de suministro a diferencia de los plásticos, aceros o silicatos; representa menor costo de fabricación, reciclabilidad, control microbiológico, control logístico, manipulación y mínimo daño ambiental (Levi *et al.*, 2011; Kaushal *et al.*, 2021).

Las frutas y verduras son alimentos perecederos en condiciones desfavorables de temperatura, humedad relativa (HR) y contaminantes microbiológicos que representan un factor de riesgo sanitario para su consumo. Los alimentos tienen un periodo de vida más estable en la interacción embalaje de cartón/alimento. La **Tab 4.** indica los atributos del cartón corrugado se dilucidan en nuestros días.

Tabla 4.

Ejemplos de las capacidades de conservación de alimentos frutícolas en embalajes de cartón corrugado

Atributos en la etapa de almacenamiento, transporte y refrigeración de frutos en embalajes de cartón corrugado

Fruto	Resultado	Referencia
Dátil cv. Barhi	La refrigeración a 5 ± 2 °C durante 90 días en embalajes de cartón corrugado aumenta el contenido de sólidos solubles totales (SST) y disminuyó la maduración del fruto a comparación de embalajes de plástico	Taain, 2004
Plátanos	Los embalajes de cartón corrugado reducen la pérdida de peso, lesiones por magulladuras/cortes y al incluir un amortizado plástico preserva el fruto en etapa de transporte	More <i>et al.</i> , 2015
Ciruela	El uso de embalajes de cartón corrugado reduce las pérdidas postcosecha en un 26% en comparación a cajas de madera	Shahzad <i>et al.</i> , 2015
Tomate	Las cajas de cartón corrugado preservan y extienden su vida en anaquel del fruto al tener una aireación continua, resistencia del cartón y no estar abierto	Misai <i>et al.</i> , 2010

1.4.1 Limitaciones de los embalajes de cartón corrugado

El embalaje de cartón corrugado es un material “pasivo y tradicional” es decir únicamente genera una protección externa. Las debilidades por el origen son claras en el aspecto microbiológico y fisicoquímico. El cartón corrugado tiene varias desventajas sino se le aplica un reforzamiento. La **Fig 3.** indica de manera general los factores desfavorables al no reforzar el cartón corrugado.

La naturaleza porosa y capacidad hidrofílica del cartón capta moléculas de agua del medio circundante lo que ocasiona una saturación de las microfibras de celulosa, el mayor problema se observa en refrigeración por debajo de los 2 °C debilita la constitución del embalaje (Defraeye *et al.*, 2015; Cataldi *et al.*, 2019).

La correcta humedad relativa (HR) de los frutos en refrigeración permite evitar problemas de pudrición y pérdida postcosecha. Sin embargo, el contacto directo de los embalajes con el fruto puede transmitir y humedecer el interior del empaque. Un soporte tipo alveolo aísla al fruto, aunque aumenta los costos del empaque. El empaque cuando no tiene ninguna protección contra golpes predispone una contaminación microbiana (Patrignani *et al.*, 2016; Schmid *et al.*, 2023).

La contaminación de microorganismos es uno de los mayores problemas en los embalajes la presencia de endófitos y saprofitos en la superficie del cartón hace posible su diseminación a pesar de su desinfección, por ejemplo; con peróxido de hidrogeno (H₂O₂) y esterilización UV previamente a la manufactura de la caja de cartón (Lacey, 1989; Leonardi *et al.*, 1990; Pastorelli *et al.*, 2018).

Los hongos *Penicillium* y *Aspergillus* son endófitos del cartón y en condiciones de esporulación colonizan las microfibras de celulosa lo que puede suscitar una contaminación cruzada por superar las propiedades de barrera y causar daño contra la salud en humanos (Johansson *et al.*, 2012). Los hongos crean biopelículas y se adhieren a regiones de soporte que les permitan colonizar áreas del cartón viables para su supervivencia a pesar del limitado contenido de humedad, pH, temperatura u oxigenación (Scholte, 1995).

La colonización, motilidad y reproducibilidad depende de la estructura superficial del material (lisa, rugosa, heterogénea, homogénea) y la existencia de un recubrimiento o ausencia de ello (Mariani *et al.*, 2007).

La ventilación y el sistema de flujo de aireación de los embalajes es un factor determinante para impedir las pérdidas postcosecha. Los frutos emiten etileno, CO₂ o O₂ cuando el diseño del embalaje tiene poca distribución para el flujo de continuo de aire aumenta la posibilidad de una maduración prematura. El tamaño de los orificios del flujo de aireación, flujo de enfriamiento de la cámara de refrigeración y el transporte afectan la vida en anaquel del fruto y la seguridad del embalaje (Pathere *et al.*, 2016)

El manejo inadecuado por el personal operatorio de las industria agroalimentarias, los tramos carreteros inestables, movimiento oscilatorio vibracionales durante el transporte, apilamiento erróneo, almacenamiento y el peso-longitud-altura en el diseño del embalaje son factores que aumenta el riesgo de abolladuras, raspones, lesiones y contaminantes microbiológicos en el fruto; por ello embalajes débiles provocan pérdida de frutos, económicas y descontento del consumidor (Kader y Rolle, 2004; Fadji *et al.*, 2016).

La migración de trazas de sustancias químicas puede transferirse del embalaje al alimento o viceversa y causar daños en la salud (Grob *et al.*, 2006). La adición de sustancias adheribles (aceite mineral, benzofenonas, ftalatos) en matrices de papel/cartón puede tener un efecto de migración hacia los alimentos (Choi *et al.*, 2002; Biedermann y Grob, 2010). Una contaminación cruzada puede liberar amins aromáticas que se pueden adherir al alimento por medio del embalaje (Triantafyllou *et al.*, 2007; Peters *et al.*, 2019; Selin *et al.*, 2021).

Una cantidad de alimentos perecederos se desperdician anualmente por las limitantes tecnológicas y microbiológicas por la constitución de los embalajes (Gunders, 2012). Por tanto, se necesitan estrategias de manejo de embalajes celulósicos que promuevan una protección gradual así se aminoran los costos de producción daños ecológicos y se apertura áreas de investigación.

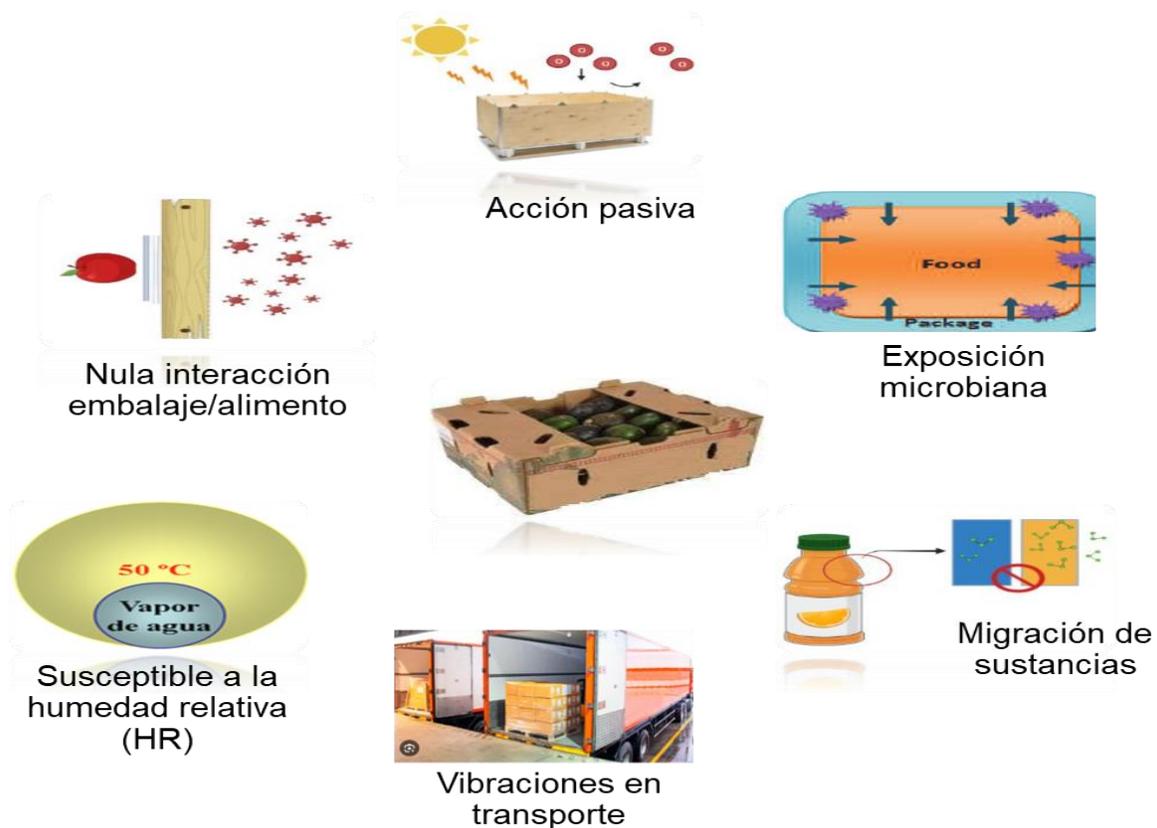


Figura 3. Representación esquemática de los factores que influyen en las limitaciones de los embalajes de cartón corrugado

1.4.2 Funcionalización del cartón corrugado

El cartón es un biomaterial deficiente por naturaleza en repeler agua, permeable a grasa, semipermeables a oxígeno, vapor de agua, bacterias y hongos por lo que se considera un elemento “pasivo”. Una de las formas más efectivas de mediar estos problemas es la funcionalización (Kong y Hu, 2012). La funcionalización corresponde al mejoramiento de propiedades de barrera, físicas, mecánicas y microbiológicas mediante la aplicación de recubrimientos, revestimientos, biopelículas con componentes sintéticos o naturales (Kumar *et al.*, 2022). El objetivo final es generar superficies más hidrofóbicas, resistentes y antimicrobianas o una combinación según sea el caso (Sangroniz *et al.*, 2019). La especificación de un “material funcional” debe tener al menos una capa penetrable de la estructura del biomaterial y quede internamente cubierta.

La **Fig 4.** muestra las aplicaciones más comunes para recubrir el cartón en la industria incluyen extrusión, deposición asistida, incrustación, inmovilización no covalente, electrohilado, laminado o tratamiento de corona (Pykönen *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2022). Una de las mayores tendencias por la demanda de embalajes alimentarios son las superficies funcionalizadas con efecto antimicrobiano. La procuración de la higiene, toxicidad, normativas de operación, diseño, extensión de vida en anaquel y satisfacción del cliente es una labor titánica que cumplen los embalajes para que se cataloguen “funcionales” (Sturges *et al.*, 2019).

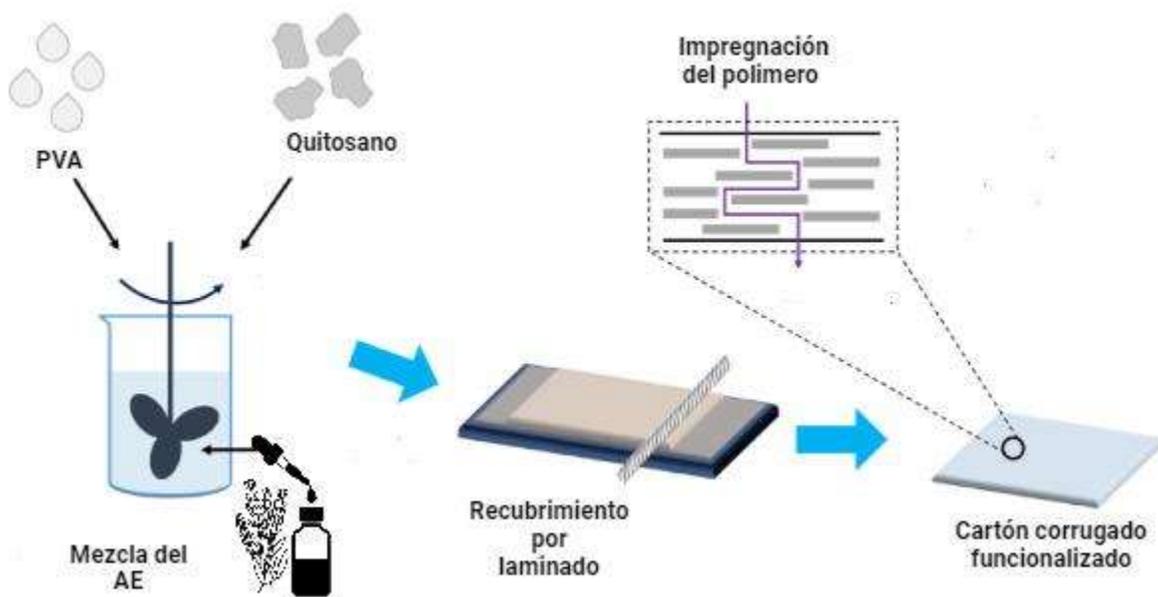


Figura 4. Aplicación de recubrimiento y funcionalización en cartón corrugado

Los recubrimientos se clasifican en naturales generalmente para actividad antimicrobiana (aceites esenciales, quitosano, almidón, proteína de suero, carboximetilcelulosa) y sintéticos para reforzamiento físico-mecánico (alcohol polivinílico, polietileno, tereftalato de polietileno, tereftalato de polibutileno) en ambos casos aumentan las propiedades integrales del cartón (Wang *et al.*, 2022). El cartón se puede volver un material antimicrobiano con la aplicación de agentes biológicos como los AE; así mismo la incorporación en matrices poliméricas (Cai *et al.*, 2020). El producto final de una superficie antimicrobiana es uno de los desafíos ingenieriles complejos en la industria y una solución es la incorporación de AE.

1.5 Recubrimientos en cartón corrugado

1.5.1 Aceites esenciales

Los aceites esenciales (AE) se utilizan desde la edad antigua por las propiedades medicinales que les proveían las plantas y perduran hasta la época actual por sus beneficios a la salud y la ciencia (Burt, 2004). La Organización Internacional de Normalización (ISO) define a los aceites esenciales (AE) como sustancias químicas complejas obtenidas de materia vegetal (hojas, ramas, tallo, raíz, corteza, hoja) por destilación por arrastre de vapor/destilación seca; el producto final es una sustancia oleosa sin alteraciones en sus propiedades químicas con capacidades antimicrobianas (ISO, 2014; Sivakumar *et al.*, 2014). El efecto antimicrobiano se genera por una sinergia de metabolitos secundarios de bajo peso molecular y una mezcla de grupos funcionales (Franz y Novak, 2010). Los AE son componentes volátiles, fotooxidativos y sensible a cambios de temperatura y pH.

El incorporar de forma directa a los AE en matrices de celulosa es inviable, pero adherirlo con un fijador a una matriz celulósica resulta en una mejor opción para mantener su efectividad biológica. Estudios demuestran el uso de películas o recubrimientos por impresión o aspersión a los frutos con AE que presentan una erradicación en la aparición de contaminantes bacterianos o fúngicos (Sivakumar y Bautista-Baños, 2014). Sin embargo, otra estrategia es recubrir el material de embalaje para crear un sistema volátil de protección acción que generan los AE **Fig 5**.

La innovación de crear biomateriales antimicrobianos presenta las ventajas para incorporar a los AE en matrices de cartón corrugado (Oussalah *et al.*, 2004). Los embalajes antimicrobianos de cartón con incorporación de AE muestran un control eficiente contra fitopatógenos fúngicos al emitir una atmósfera de protección interna y una extensión de vida en anaquel.

A diferencia de las practicas convencionales del uso de químicos directa o indirectamente en los alimentos (de Kruijf *et al.*, 2002; Buendía-Moreno *et al.*, 2019). Los AE se reportan con actividad inhibitoria contra hongos fitopatógenos *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. y

Botrytis cinerea que son contaminantes de naranja (Regnier *et al.*, 2010). Uno de los mejores efectos antifúngicos lo muestran el carvacrol, eugenol y timol por su composición fenólica (Lambert *et al.*, 2001).

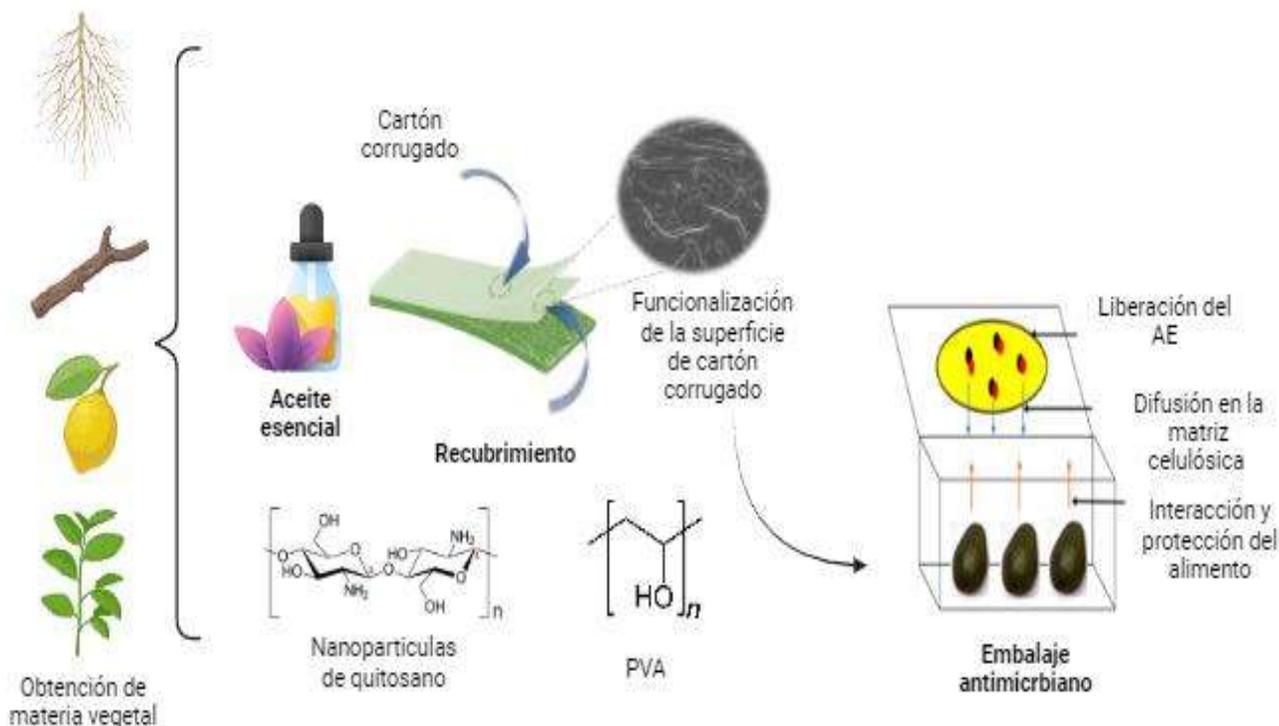


Figura 5. Funcionalización de la superficie de cartón corrugado con la incorporación de AE en matrices poliméricas natural (Nanopartículas de quitosano) y sintéticas (PVA) para la obtención de embalajes antimicrobianos (Buendía-Moreno *et al.*, 2019; Vrabič & Tihole, 2020; Song *et al.*, 2022).

El cartón funcionalizado con los AE de orégano, canela y carvacrol con el uso de β -ciclodextrinas logró una extensión de vida del tomate Cherry en anaquel de 4 días adicionales a diferencia del control (20 días) a 8°C y 90% HR (Buendía-Moreno *et al.*, 2019). El ensayo en durazno, uvas y lechugas demostró un efecto similar con la aplicación de β -ciclodextrinas con los AE de carvacrol, orégano, menta y canela.

Las uvas aumentaron 10 días su extensión de vida en anaquel, para el durazno fueron 5 días adicionales y en la lechuga 6 días mientras sin embalajes antimicrobianos solo 8 días a condiciones de refrigeración de 2°C (López-Gómez *et al.*, 2020).

1.5.2 Quitosano

El quitosano es un polisacárido natural de origen marino que se prepara por desacetilación de la quitina. Las unidades predominantes del quitosano son de β -(1–4)-2-acetamido-D-glucosa y β -(1–4)-2-amido-D-glucosa. El quitosano es un compuesto económico, biodegradable, catiónico, químicamente estable y formador de recubrimientos (Elsabee y Abdou, 2013). La actividad antimicrobiana es uno de sus puntos fuertes con una mejor actividad inhibitoria en bacterias que en hongos, pero dependiente del grado de acetilación y del peso molecular (Tsai *et al.*, 2000; Younes *et al.*, 2014). El efecto antifúngico radica en el impedimento de la germinación de esporas que suscita a la aparición de micelio aéreo que coloniza a los alimentos (Sahai y Manocha, 2007).

Los hongos pueden utilizar como sustrato al quitosano en condiciones de sobrevivencia (Cota-Arriola *et al.*, 2011). Sin embargo, la mayor evidencia de inhibición del crecimiento con el uso de recubrimientos es en forma de películas, revestimientos o incorporación en matrices biocompatibles. El ensayo de (Chien *et al.*, 2007) que un recubrimiento de quitosano al 0.1% en el tanger mostró un control en la pudrición del fruto contra *P. digitatum*, *P. italicum*, *Botrydiploidia lecanidion* y *B. cinerea* en condiciones de refrigeración a 15 °C durante 2 meses. El recubrimiento de quitosano al 1.5% perpetuaron la sanidad de la papaya contra el ataque de *C. gloeosporioides* hasta las 4 semana en refrigeración (Ali *et al.*, 2010).

La incorporación de quitosano en materiales de embalajes alimentarios se comienza a evaluar principalmente en derivados celulósicos. Por ejemplo; el cartón recubierto con quitosano/AE de limoncillo a partir de tres capas aniquiló a los curculiónidos y sentó las bases para crear un embalaje celulósico anti-insecto para protección de arroz (de Fátima Silva *et al.*, 2022).

El ensayo de (Hefft, (2018) demuestra que proteger y revestir el cartón con quitosano al 2% aumentó la vida en anaquel de los arándanos contra *B. cinerea* durante 48 h más a diferencia del control que pudrió el fruto a partir de las 48 h. Además, no causó cambios organolépticos significativos.

El papel Hanji recubierto de nanopartículas de plata/quitosano a una concentración de 0.1% en efecto sinérgico logró inhibir a *E. coli*. El papel se funcionalizó y mejoró en propiedades de barrera y mecánicas (Raghavendra *et al.*, 2017).

1.5.3 Alcohol polivinílico (PVA)

El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero sintético, cristalino, degradable en agua a 80°C, filmogénico, hidrofílico, biocompatible, ecológico, no tóxico, resistente a la grasa, resistente a disolventes orgánicos, reticulante con componentes naturales y aprobado por la FDA para el contacto directo con alimentos para estucado de papel (Jayasekara *et al.*, 2004; Estévez-Areco *et al.*, 2018; Haghighi *et al.*, 2020).

El PVA es un recubrimiento filmogénico que aporta un mejoramiento en la resistencia mecánica por la adhesión con los grupos OH⁻ que se acoplan intermolecularmente. Por ejemplo; las películas de PVA/quitosano mejoraron su resistencia a la tracción, repelieron el agua, bloquearon la incidencia de luz UV (Yan *et al.*, 2020).

El PVA puede mezclarse con biopolímeros (almidón zeína, proteína, alginatos, AE) que pueden incorporarse en superficies para quedar embebidas y prolongar la vida en anaquel de alimentos con un sistema de protección contra bacterias y hongos (Oussalah *et al.*, 2006).

Sin embargo, para la incorporación de recubrimientos de derivados al papel es limitada la información. La aplicación superficial de PVA/nano-sílice en embalajes activos de desechos de paja de arroz mostraron mejoras en las propiedades de barrera (Saini *et al.*, 2023).

Un recubrimiento de PVA/quitosano/nisina en papel para embalaje se evaluó. Los resultados indicaron que el papel reciclado inhibió el crecimiento de *E. coli*, *S. aureus* y *Bacillus* sp. (Molaei *et al.*, 2015). El electrohilado es una técnica de incorporación de AE para la fabricación de microfibras en una solución filmogénica delgada, homogénea e inocua con capacidad para implementarse en el embalaje de alimentos de contacto directo (Wen *et al.*, 2016). El incluir AE mejora las propiedades microbiológicas aunado con el uso de electrohilado (Lamarra *et al.*, 2020)

1.6 El aguacate cv Hass y la susceptibilidad a *C. acutatum* en los embalajes celulósicos pasivos

Persea americana cv. Hass comúnmente conocido como “aguacate” es el fruto de exportación más importante en Michoacán, México. El fruto es climatérico con riqueza endémica en zonas tropicales y subtropicales, ovoide, de piel rugosa, pulpa mantecillosa, inoloro y abundante en vitaminas, fibra, aminoácidos, minerales y grasas (Ameer, 2016). México aporta al mundo cerca del 47% de la producción total aguacates del consumo población anual.

El aguacate cv. Hass es susceptible a contaminantes microbiológicos principalmente a hongos fitopatógenos oportunistas por las condiciones de humedad relativa (HR), contenido de humedad (%) y riqueza del sustrato. La aplicación desmedida y el aumento de las dosis en los huertos ocasionó con el tiempo una resistencia sistémica de *C. acutatum*, *C. gloesporoides* y *L. theobromae* (Bowen *et al.*, 2018). La incidencia de hongos fitopatógenos genera pérdidas agrícolas de más del 70% que se presentan durante la cadena de suministro (cosecha, corte, asepsia, empaque, almacenaje, refrigeración, transporte y comercialización) (Munhuweyi *et al.*, 2018).

C. acutatum es un hongo cosmopolita perteneciente al consorcio de los hongos de pudrición peduncular (PPA) e invasivo catalogado dentro de las 10 especies más destructivas de cultivos (Dean *et al.*, 2012; Bordoh *et al.*, 2020).

Los embalajes pasivos de cartón corrugado en la contención de aguacates por la ineficiencia en ventilación, diseño y aditivos microbiológicos se pierden hasta el 30% por el empaque (Kader, 2013; Rodríguez, 1997). La protección pasiva de los embalajes de cartón corrugado en aspectos biológicos es otro factor interesante para la aparición de hongos fitopatógenos por contaminación cruzada e ineficiencia microbiológica.

El uso de embalajes activos para proteger al aguacate contra daños mecánicos ayuda a disminuir la incidencia de magulladuras, raspones o aberturas y contribuyen a minimizar daños mecánicos, correlativamente merma la posible aparición de agentes microbiológicos (Thompson *et al.*, 2013).

El embalaje de cartón corrugado se encuentra regulado por las normas ISO 3364, NMX-N-107-SCFI-2010 y UNE 137005 que estipulan las reglamentaciones mínimas para la importación y exportación del aguacate cv. Hass. El embalaje debe estar constituido por fibras vírgenes, flauta tipo B, dimensiones (60 x 40 x 25 cm) y un peso máximo de 10 kg de aguacate por caja. A pesar de las adecuaciones y cuidados en el aguacate aún existe una pérdida significativa en el producto por lo tanto una estrategia es la incorporación de agentes bioactivos funcionalizables en la superficie del cartón corrugado que extenderá la vida en anaquel del aguacate cv. Hass y mejorará las propiedades físicas, mecánicas y microbiológicas del embalaje de exportación **Fig. 6**.

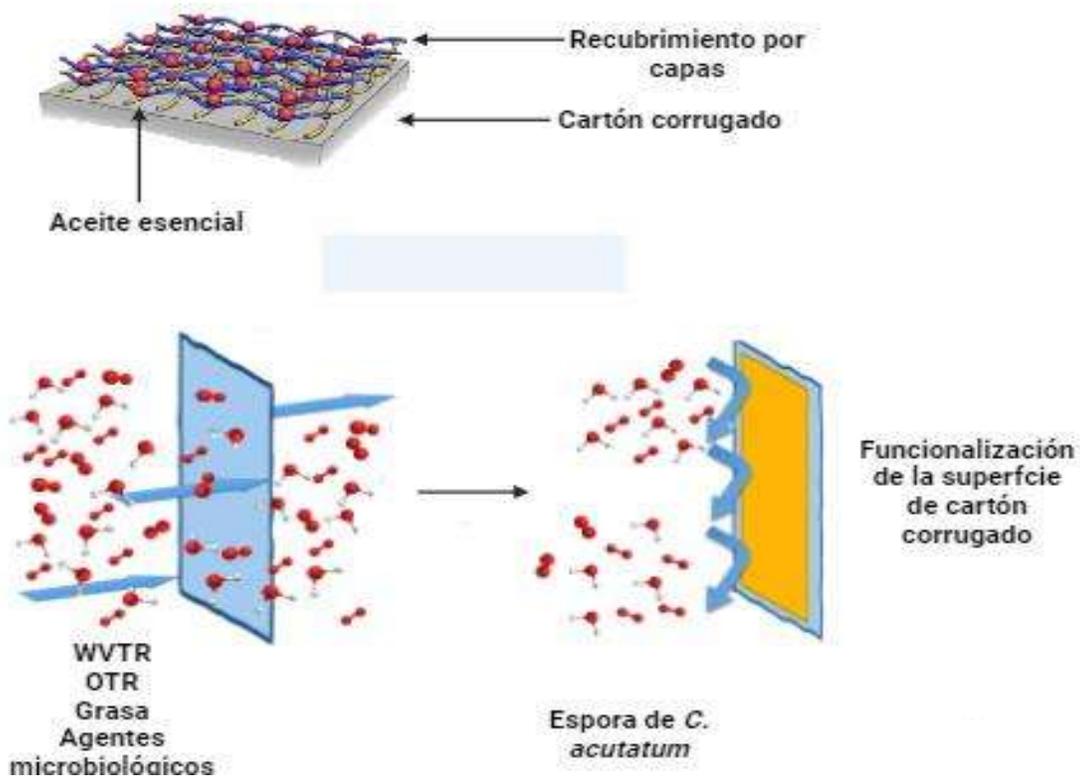


Figura 6. Representación de la funcionalidad del embalaje de cartón corrugado con agentes antimicrobianos (aceites esenciales)

1.7 Embalajes antimicrobianos de cartón corrugado para aguacate

Los embalajes antimicrobianos son sistemas innovadores para el control de microorganismos patógenos al incorporar en las superficies interiores de los empaques agentes, películas, aditivos o recubrimientos bioactivos que generen y liberen una atmosfera de protección sostenida de sustancias antagonicas para microorganismos patógenos y salvaguardar los alimentos contenidos (Pérez-Pérez *et al.*, 2006).

La incorporación de AE en la matriz del embalaje genera una opción viable y novedosa en embalajes de cartón corrugado. La nula migración de sustancias potencialmente toxica, extender la vida en anaquel del fruto, reducción de procesos enzimáticos dañinos, dejar un precedente para regulaciones en la adición de componentes bioactivos, incrementar la seguridad alimentaria y mejoramiento de propiedades microbiológicas, de barrera y mecánicas del embalaje (Han, 2000; Cooksey, 2005; Quintavalla y Vicini 2002; Mauriello *et al.*, 2005).

Los embalajes de cartón corrugado antimicrobianos se estudian toma relevancia por las condiciones en la demanda de alimentos mínimamente procesados, orgánicos y biológicamente sostenibles en ambos casos (embalaje/aguacate) (Brody *et al.*, 2001). Los embalajes de cartón cuentan con las cualidades necesarias para incorporar compuestos bioactivos antimicrobianos para la conservación de alimentos (Barbiroli *et al.*, 2012). La extensión de vida en anaquel de frutos con el uso de cajas de cartón con AE en mandarina, uva y lechuga indican una óptima conservación de sus propiedades organolépticas (Buendía-Moreno *et al.*, 2020), en panificación se incorporó vainillina y logró un efecto inhibitorio contra *E. coli* (Rakchoy *et al.*, 2009), así mismo el recubrimiento con nisina en la superficie de papel consiguió inhibir el crecimiento de *M. flavus* (Lee *et al.*, 2004). En otras áreas para repeler insectos la funcionalización de la superficie con quitosano y AE de limoncillo ahuyento y mató al gorgojo (Silva *et al.*, 2022).

El uso de embalajes de cartón corrugado es una de las tendencias más importantes por la necesidad de biomateriales reciclables y biodegradables, sin descuidar el aspecto físico-mecánico y microbiológico en la cadena de suministro de alimentos. La funcionalización de la superficie del cartón corrugado con AE incorporados en una matriz polimérica natural (nanopartículas de quitosano) o sintética (alcohol polivinílico) es una alternativa eficaz para lograr un sistema de liberación sostenida en el empaque por difusión de componentes bioactivos y preservar de manera indirecta al fruto. Los embalajes antimicrobianos para aguacate cv Hass no se han estudiado, por lo que en el presente estudio es una propuesta innovadora y revolucionaria para implementar en la ciencia aplicada **Fig 7**.

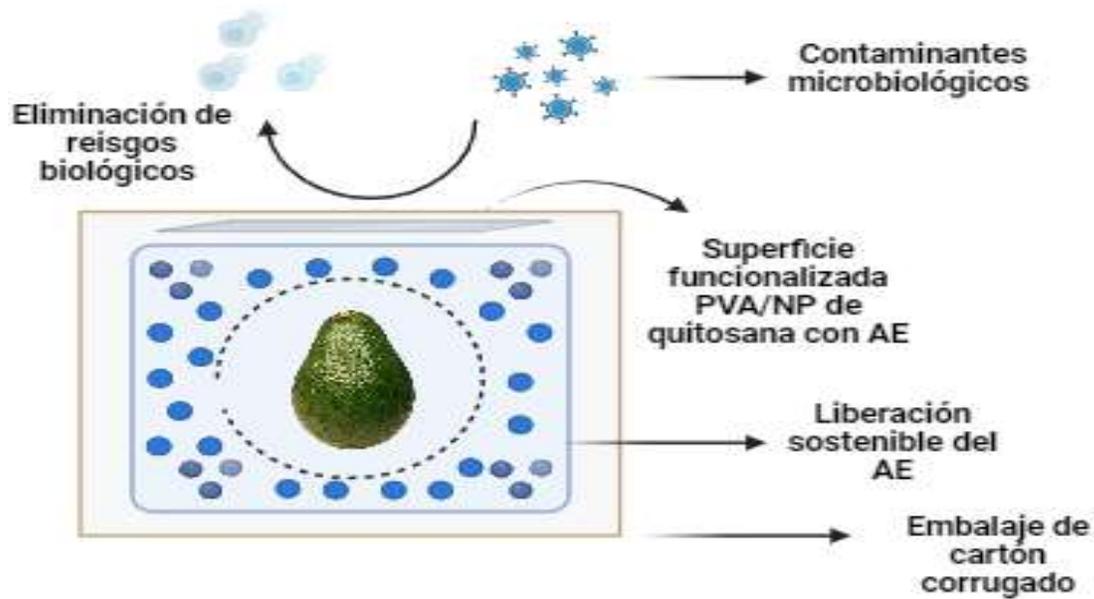


Figura 7. Modelo de embalaje de celulosa funcionalizado con un recubrimiento y AE para la preservación del aguacate cv. Hass

2. JUSTIFICACIÓN

Los embalajes celulósicos son elementos para la protección de los alimentos durante la cadena de suministro. El cartón corrugado es el embalaje predilecto para la contención, transportación, almacenaje y venta de aguacate. Los embalajes de cartón corrugado son pasivos protegen externamente el producto contenido, pero dejan internamente una exposición a daños microbiológicos. El mejoramiento de los embalajes celulósicos es un área de oportunidad en la ingeniería en tecnología de la madera para la preservación del aguacate cv. Hass en conjunto con componentes naturales como los aceites esenciales vegetales. La funcionalización del embalaje de cartón corrugado en sus propiedades microbiológicas preservara al aguacate cv. Hass

3. HIPÓTESIS

- Un modelo de embalaje celulósico con la incorporación de aceites esenciales proporciona un sistema de control antimicrobiano para la preservación del aguacate cv. Hass

4. OBJETIVO GENERAL

- Modelar un embalaje celulósico funcionalizable con la incorporación de aceites esenciales para la preservación de aguacate cv. Hass

4.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Elegir los aceites esenciales que presenten actividad inhibitoria contra hongos causantes de la pudrición peduncular para su incorporación a embalajes celulósicos
- Caracterizar *in vitro* las modificaciones físicas, de barrera y mecánicas de las matrices celulósicos con la aplicación de los aceites esenciales
- Evaluar las propiedades microbiológicas del cartón corrugado funcionalizado con los aceites esenciales

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materia vegetal y reactivos

El aceite esencial de *Tagetes lucida* cv. Santa María fue donado por la D.C. Rosa María Espinosa Madrigal mediante la técnica de arrastre de vapor. El aceite esencial de *T. lucida* tuvo un rendimiento de 0.05% (p/v). El aceite esencial de cítricos se adquirió de una casa comercial. El alcohol polivinílico (PVA) en hojuelas y con un grado de hidrolizado de 87-89% se adquirió de Sigma Aldrich. El cartón corrugado se compró de una casa comercial local con un gramaje de 270 (g/m²)

4.2 Preparación de recubrimiento biológicos

4.2.1 Nanopartículas de quitosana cargas con el aceite esencial de cítricos (NP + AE de cítricos)

Una solución de ácido acético al 1% se preparó con 1 ml de ácido acético y disuelto en 99 ml de agua desionizada. La disolución se colocó en un oscilador manual con una muesca para su agitación y homogeneización durante 4 h, 30°C y 2 000 rpm. La quitosana (250 mg) se agregó a la solución de ácido acético (1%); este se dejó en agitación continua hasta su homogeneización. El AE de cítricos (500 µl) se mezcló con las nanopartículas de quitosana (NP) durante 30 min a las mismas condiciones.

500 µl del emulsificante Tween 20 se agregaron a la solución de NP/AE de cítricos. Las NP cargadas con el AE de cítricos se agitaron durante 4 h, 25°C y 2 000 rpm. Las nanopartículas de quitosana cargadas con el aceite esencial de cítricos se almacenaron en frascos ámbar a 4 °C hasta su uso.

4.2.2 Nanopartículas de quitosana cargadas con el aceite esencial de *T. lucida* (NP + AE de *T. lucida*)

Una solución de ácido acético al 6% se preparó con 6 ml de ácido acético y disuelto en 94 ml de agua desionizada. La quitosana (1 g) se agregó a la solución de ácido acético (6%); se colocó en un oscilador manual con una muesca en agitación contante durante 20 h, 50°C y 2 000 rpm hasta su homogeneización. En un vaso de precipitado se vertieron 80 ml de metanol y se depositaron 80 µl del AE de *T. lucida*. Posteriormente se mezclaron las dos soluciones y se mantuvieron en agitación durante 1 h. Las NP cargadas con el AE de *T. lucida* se colocaron en un rotavapor. La operatividad del rotavapor fue a 200 rpm, 1 h y 80°C hasta la evaporación del metanol presente en la superficie de las NP. Las NP cargadas con AE de *T. lucida* se transfirieron a tubos para centrifuga de 50 ml, se equilibraron los tubos y se hizo una centrifugación a 14 000 rpm durante 5 min. La centrifugación se realizó dos veces para obtener una mayor concentración de NP/AE de *T. lucida*. El material se recolectó y almacenó en frascos ámbar hasta su uso.

4.2.3 Solución de Alcohol polivinílico/Glicerol/Disolvente Eutético/Aceite esencial (PVA/Gli/DES/AE)

Una solución de alcohol polivinílico (PVA) se preparó al 8% (p/v) al agregar 8 g de PVA y disolverlo en 92 ml de agua desionizada; los componentes se mezclaron a 150 rpm durante 4 h a 25 °C. El glicerol, disolvente eutético (DES) y el aceite esencial (Gli/DES/AE) se incorporó en el PVA en proporción molar (2:1).

La proporción de la mezcla (PVA/Gli/DES/AE) se calcula en porcentaje con respecto al peso seco del PVA. El compuesto de PVA/Gli/DES/AE se almacenó en frascos transparentes a temperatura ambiente hasta su uso.

4.3 Identificación del punto isobéptico de la señal característica de los aceites esenciales (AE) de *T. lucida* y cítricos

El aceite esencial de *T. lucida* y de cítricos (8 µg/ml) se vertió en un tubo Eppendorf, se disolvió en 2 ml de metanol y se mezcló en un Vortex Mixer VM-300. La solución que se obtuvo fue el Stock 1 000 (µg/ml) del AE de *T. lucida* y cítricos. Las diluciones sucesivas se prepararon al verter en viales independientes 1 ml del AE de (*T. lucida* o cítricos) y 2 ml de metanol para por último mezclarlos en el Vortex Mixer VM-300. Un espectrofotómetro (Cary 50 BIO) se utilizó para realizar un barrido espectral para identificar el punto isobéptico (PI) de las diluciones sucesivas de los AE de cítricos y *T. lucida*. La longitud de onda se midió en un intervalo de 190 nm a 800 nm en el programa Scan Easy.

4.4 Índice de crecimiento (IC) de *C. acutatum* en cartón corrugado funcionalizado con aceites esenciales (AE)

C. acutatum se resembró en agar papa dextrosa (APD) y se dejó en incubación a 25 °C durante 7 días. Discos de cartón corrugado se obtuvieron con una perforadora manual a (Ø:3 cm); estos se colectaron y colocaron en un frasco de vidrio. Se preparó APD y se esterilizó en una autoclave. En cajas de Petri se vertió el ADP y se dejó solidificar. Los discos de cartón corrugado se impregnaron con 6 µl del tratamiento correspondiente. Un disco de cartón corrugado funcionalizado se colocó en el centro de la caja Petri con APD y se inoculó un propágulo de 5 mm x 5 mm de *C. acutatum* en la superficie del disco de cartón corrugado funcionalizado. Los tratamientos se incubaron a 25 °C durante 72 h.

El índice de crecimiento (IC) de *C. acutatum* se determinó por la siguiente fórmula:

$$IC = \frac{DCT}{DCC}$$

Donde:

IC: índice de crecimiento (mm)

DCT: Diámetro de crecimiento del tratamiento

DCC: Diámetro de crecimiento del control

El diámetro de crecimiento de *C. acutatum* se midió con el programa ImageJ. El IC indica que valores superiores a 1 el tratamiento promueve el crecimiento, inferior a 1 inhibe el crecimiento e igual a 1 indica que el tratamiento no tiene ningún efecto.

4.5 Evaluación *in situ* de la pudrición peduncular en aguacate (PPA) por *C. acutatum* con la aplicación del aceite esencial de *T. lucida*

Los aguacates cv. Hass con un peso de 200 g se adquirieron de un mercado local. Los aguacates cv. Hass se sanitizaron por un lavado con agua, jabón y etanol al 70%. Los aguacates limpios se colocaron en bandejas de plástico herméticas previamente sanitizadas de la misma forma que los aguacates.

De 10-15 aguacates se colocaron sobre bases de plástico al interior de las bandejas de plástico, se rotuló a los aguacates con su respectivo tratamiento (Control, Azoxystrobin, AE de *T. lucida* y Esporas de *C. acutatum*). El pedúnculo del aguacate se quitó, se dejó expuesto el pedicelo, con una micropipeta se adicionaron 24 μ l del AE de *T. lucida* en el pedicelo y se inoculó un propágulo de 5 mm x 5 mm de *C. acutatum* en el pedicelo.

El pedicelo se cubrió con cinta microporo y los aguacates se depositaron en los soportes de plástico y se guardaron en las bandejas de plástico. Las cajas con los aguacates se cerraron herméticamente, se sellaron y se almacenaron en una cámara de crecimiento (Novatech CA-550) a 20°C a 90 \pm 5% de humedad relativa (HR) durante 8 días.

Las bandejas con los aguacates se sacaron de la cámara de crecimiento a los 8 días. Los parámetros que se evaluaron fueron el índice de severidad (IS), efectividad biológica (EB) y la conservación de las propiedades organolépticas (color y textura).

El índice de severidad (IS) se determina de acuerdo a la escala de (Abbott, 1925) y de la Asociación de Productores y Empacadores y Exportadores de Aguacate de México (APEAM).

El índice de severidad (IS) se determina por la siguiente fórmula:

Donde:

$$IS = \frac{n(0) + n(1) + n(2) + n(3)}{\sum n}$$

IS: Índice de severidad

n: Tipo de daño de acuerdo a la severidad por la escala del APEAM

∑n: Sumatoria del total de frutos evaluados



Escala del índice de severidad en aguacate del APEAM	
Valor	Severidad del daño
0	Fruto sano
1	Indicios de presencia de un hongo fitopatógeno
2	Presencia del fitopatógeno
3	Pudrición del fruto por el fitopatógeno

La efectividad biológica (EB) se utiliza la siguiente formula

Donde:

$$EB = \frac{A - B}{A} \times 100$$

EB: Porcentaje de efectividad biológica

A: Índice de severidad del testigo absoluto

B: Índice de severidad del control

4.6 Determinación de la liberación sostenida de los recubrimientos bioactivos en cartón corrugado

El ensayo de liberación de los aceites esenciales (AE) incorporados en matrices poliméricas se realizó de acuerdo a la norma (UNE-EN 1186-6: 2002). 1 g de las matrices poliméricas (PVA y NP) incorporadas con AE se pesaron y depositaron en matraces Erlenmeyer de 50 ml. Un simulante alimentario se preparó que fue etanol 10%. En los matraces Erlenmeyer se puso 1 g de la matriz polimérica y se vertieron 20 ml del etanol 10%. Los matraces Erlenmeyer se colocaron en un oscilador a 200 rpm a 27 °C. Una curva patrón del AE de cítricos y *T. lucida* se realizó. Para determinar la residualidad del AE en la matriz polimérica se tomaron alícuotas de 1.5 ml de cada muestra cada 8 h y se midió la absorbancia a 270 nm en el espectrofotómetro UV (Cary 50 BIO).

4.7 Adsorción de los AE en fijadores polímeros impregnados en matrices celulósicas

Piezas de cartón corrugado, papel estraza, papel filtro y papel Whatman de 3 cm x 3 cm se obtuvieron. Las piezas de las matrices celulósicas se secaron en una estufa durante 1 h a 55 °C. Las matrices celulósicas se impregnaron con una micropipeta (100 µl) del recubrimiento (PVA/NP), se dejaron secar las muestras, se colocaron y almacenaron en cajas de Petri de vidrio a 25 °C. Cada 24 h se pesaron las muestras y se determinó la adsorbancia. La adsorción de los AE se hizo a las 0, 24, 48 y 72 h.

4.8 Determinación de las propiedades físicas del cartón corrugado funcionalizado

4.8.1 Gramaje

La norma TAPPI T-450 determina el peso del cartón con la incorporación de un recubrimiento. El cartón corrugado se cortó en trozos de 3 cm x 3 cm. Las matrices celulósicas se impregnaron con una micropipeta (100 µl) del recubrimiento (PVA/NP), se dejaron secar las muestras y se almacenaron a 25 °C.

El cartón se secó en una estufa a 55 °C durante 4 h. Una vez seco el cartón funcionalizado se pesó en una balanza analítica y el gramaje se determinó con la siguiente fórmula.

$$G = \frac{M}{A}$$

Donde:

G: Gramaje (g/m²)

M: Peso del cartón corrugado funcionalizado (g)

A: Área de exposición de la muestra con el cartón corrugado funcionalizado (m²)

4.8.2 Porcentaje del contenido de humedad (% CH)

La norma TAPPI T-412 determina el contenido de humedad por proporcionalidad de la muestra de cartón corrugado funcionalizado. El procedimiento para el ensayo fue análogo al gramaje. El cartón corrugado se secó en una estufa a 55 °C durante 1 h. De igual forma se pesó en una balanza analítica y el porcentaje de contenido de humedad (%) se determinó con la siguiente fórmula.

$$\% CH = \frac{MH - MS}{MS} \times 100$$

Donde:

% CH: Porcentaje del contenido de humedad

MH: Masa húmeda (g)

MS: Masa seca (g)

4.8.3 Espesor

La norma TAPPI T-411 mide el espesor de muestras de cartón funcionalizado. La norma TAPPI T-412 determina el contenido de humedad por proporcionalidad de la muestra de cartón corrugado funcionalizado. El procedimiento para el ensayo fue análogo al gramaje. El cartón corrugado se secó en una estufa a 55 °C durante 1 h.

El cartón corrugado funcionalizado midió con un pie de Rey el incrementó del espesor. El análisis se realizó en cinco zonas aleatorias en la superficie del cartón funcionalizado.

4.9 Determinación de las propiedades de barrera del cartón corrugado funcionalizado

4.9.1 Permeabilidad al vapor de agua (WVTR)

La norma ASTM E96 estipula el ensayo de WVTR. El cartón corrugado se cortó en círculos de 3 cm x 3 cm. El cartón se impregnó con 100 µl del tratamiento en la superficie y se dejó secar en una campana de flujo laminar. 1 g de gel de sílice se vertió en cajas de Petri de vidrio y se utilizó como desecador. Una malla de alambre de 4 cm x 4 cm se colocó sobre el gel de sílice para evitar el contacto directo con el cartón funcionalizado que se colocó en la parte superior de la malla. Las cajas de Petri se sellaron con Parafilm. Las cajas con los tratamientos se almacenaron en una cámara de refrigeración a 25 ± 2 °C y 50 ± 5 %HR durante 24 h. A las 24 h se sacaron de la cámara de crecimiento (Novatech CA-550) y se pesaron las muestras. La WVTR se determinó por la siguiente fórmula.

$$WVTR = \frac{(G)}{(A \cdot t)}$$

Donde:

G: Peso ganado del sistema (g)

A: Área de exposición del recubrimiento del cartón funcionalizado a la WVTR (m²)

t: Tiempo de evaluación de la prueba (h)

4.9.2 Resistencia a la grasa

La norma ISO 16532-1:2015 especifica la normativa para realizar el ensayo. El cartón corrugado se cortó en forma circular de 3 cm x 3 cm. El cartón se impregnó con 100 µl del tratamiento en la superficie y se dejó secar en una campana de flujo laminar.

Tres simulantes grasos (aceite de ricino, *n*-tolueno y fenol) se prepararon en diferentes concentraciones esto de acuerdo al grado de penetrabilidad en el ensayo para papel/cartón **Tab 5**.

Tabla 5.

Proporcionalidad para preparación de las soluciones por grado de permeabilidad

Kit	Aceite de Ricino (ml)	Fenol (ml)	Hexano (g)
1	969	0	0
2	872	50	50
3	775	100	100
4	678	150	150
5	581	200	200
6	485	250	250
7	388	300	300
8	291	350	350
9	194	400	400
10	97	450	450
11	0	500	500
12	0	450	550

El ensayo consistió en depositar una gota de la solución (kit) en la superficie funcionalizado del cartón corrugado y se dejar penetrar durante 15 s. El excedente de la solución se retiró con una servilleta, se revisó el anverso y el reverso para visualizar la permeabilidad de la simulante graso y dictaminar el número de resistencia a la grasa.

4.9.3 Ángulo de contacto

El ángulo de contacto (°) del cartón corrugado funcionalizado se determinó por la norma ISO 14778:2021. El cartón corrugado se cortó en forma circular de 3 cm x 3 cm. El cartón se impregnó con 100 µl del tratamiento en la superficie y se dejó secar en una campana de flujo laminar. Las muestras se evaluaron en un goniómetro manual. Una gota de agua se colocó en la superficie del cartón corrugado funcionalizado y se tomó una fotografía a tiempo 0. Las imágenes se procesaron en el programa ImageJ y se midió el ángulo de contacto. El ángulo de contacto menciona que un valor menor a 90° indica que el material es hidrofílico y superior a 90° son hidrofóbicos

4.10 Microscopia electrónica de barrido (MEB) de la superficie funcionalizado con AE

El cartón funcionalizado se observó por microscopia electrónica de barrido en un equipo JEOL 6400 SEM, JEOL Ltd. el cual tenían un recubrimiento con partículas de plata. Las micrografías se tomaron a 500, 1 000, 1 500, 2 000 y 5 000x.

4.11 Determinación de las propiedades microbiológicas del cartón corrugado funcionalizado

4.11.1 Evaluación antifúngica en la superficie de cartón corrugado funcionalizado

C. acutatum se obtuvo del cepario del Laboratorio de Fisiología Celular del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas (IIBQ). *C. acutatum* se resembró en APD y se dejó en incubación a 25 °C durante 7 días. Una cosecha de esporas de *C. acutatum* se realizó. 6 ml de agua tridestilada estéril se vertió en la caja de APD con *C. acutatum* con una barrilla de vidrio se raspó la superficie del hongo para liberar las esporas.

La colecta de esporas se hizo con una micropipeta donde se recuperó 1 ml del sobrenadante y se depositó en tubos Eppendorf de 1.5 ml. El proceso se realizó tres veces. Las esporas se centrifugaron a 7 000 rpm durante 5 min para obtener el pellet/pastilla. El sobrenadante se desecha y se queda con el pellet/pastilla que se concentra en un solo tubo Eppendorf.

Un concentrado de esporas de *C. acutatum* se hizo. El concentrado de esporas tomar 10 µl y se observó en un microscopio óptico la presencia de esporas y su estadio. Si se comprueba la presencia de esporas se cuantifica el número de esporas que hay por mililitro por la siguiente fórmula:

$$N^{\circ} \frac{\text{esporas}}{\text{ml}} = \frac{(\text{dilución})(\text{número de esporas totales})(\text{número de campos})}{1 \times 10^6 \text{ml}}$$

Un medio mínimo liquidó se preparó para someter a *C. acutatum* a un estadio de estrés para la germinación de las esporas. En un matraz Erlenmeyer se mezclaron macronutrientes y micronutrientes. Los macronutrientes se disolvieron en agua desionizada y se ajustó el pH a 4.5. Después del ajuste del pH se agregaron los micronutrientes. El medio mínimo se filtró al vacío y se vertieron 20 ml del medio mínimo en matraces Erlenmeyer. El medio mínimo se inoculó con *C. acutatum* a una concentración de 10^6 (esporas/ml) y se colocó en agitación a 200 rpm. La germinación de la espora de *C. acutatum* se buscaba en un estadio de germínula por lo que cada 60 min se tomó una alícuota y se verificaba en el microscopio la aparición de dicho estadio

Fig 8.

Reactivo para macronutrientes	Cantidad (g)
Dextrosa	20
Fosfato potásico monobásico	3
Sulfato de magnesio	0.5
Nitrato de amonio	0.5

Reactivo para micronutrientes	Cantidad (g)
Sulfato de Zinc	1 ml
Sulfato ferroso	1 ml
Tiamina	1 ml
Ácido nicotínico	1 ml
Sulfato cúprico	1 ml
Sulfato de manganeso	1 ml

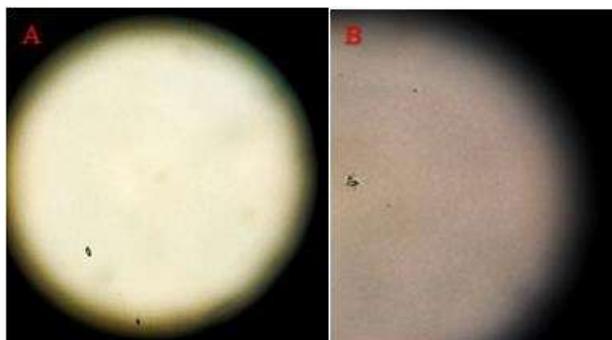


Figura 8. (A) Tiempo 0 de la germinación de la espora de *C. acutatum* (B) Tiempo a las 4 h estadio de germínula de *C. acutatum*

Una vez que se observó la germínula se detuvo la agitación y los matraces Erlenmeyer se guardaron hasta su uso. Discos de cartón corrugado se cortaron en piezas de 3 cm x 3 cm. Las piezas de cartón se esterilizaron en una autoclave durante 20 min. En cajas de Petri se vertió el ADP y se dejó solidificar. Los cartones se impregnaron con una micropipeta (100 μ l) por la técnica de laminación manual (una capa) de acuerdo a los tratamientos (PVA/NP) y se dejaron secar en la campana de flujo laminar. Los cartones se expusieron a luz UV durante 24 h y posterior a dicho tiempo los cartones se guardaron en cajas de Petri estériles hasta su uso. Se preparó APD que se suplementó con cefotaxima (10 μ g/ml) para evitar el crecimiento de bacterias.

Con unas pinzas se retiró la lámina del cartón. Tres cuadros de cartón corrugado funcionalizado se colocaron en la caja de Petri con APD y se inocularon 10 μ l de esporas de *C. acutatum* 10^6 (esporas/ml). Las cajas de Petri se sellaron e incubaron a 25 °C durante 7 días. A partir del 7 día se evaluó la presencia o ausencia de micelio aéreo de *C. acutatum*.

4.11.2 Evaluación antibacteriana en la superficie de cartón corrugado funcionalizado

Las cepas de *E. coli* ATCC 12229, *P. mirabilis* ATCC 29966 y *S. aureus* ATCC 25923 se obtuvieron del cepario del Laboratorio de Fisiología Celular del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas (IIBQ). Las cepas bacterianas se sembraron en agar Mueller-Hinton (MH) y se incubaron a 37 °C durante 24 h. El lineamiento para ensayos de cartón/papel funcionalizado sigue a la norma NOM-210-SSA1-2014.

Cinco tubos roscados de 5 ml se esterilizaron y se prepararon 5 ml de caldo MH. Un ml de caldo MH se vertió en cada tubo roscado de 5 ml. Con una alícuota se esterilizó por flama, se tomó una colonia de las tres cepas bacterianas y se depositó en el caldo MH con un movimiento giratorio. El tubo roscado después de la deposición se cerró y se mezcló en el vortex. Un ml de la concentración bacteriana se vertió en una celda de cuarzo y se hizo una lectura en un espectrofotómetro a 620 nm. La densidad óptica (D.O) que se necesitó fue 0.5 de acuerdo a la escala de McFarland para obtener una concentración de 10^8 (UFC/ml). Cajas Petri con agar MH se prepararon y esterilizaron. A una D.O de 0.5 se dispuso a realizar un isópodo por estriado en césped.

Discos de cartón corrugado de (\varnothing :3 cm) se colectaron y colocaron en un frasco de vidrio para que se esterilizaran. Los discos de cartón corrugado se impregnaron con 6 μ l del tratamiento correspondiente. Un disco de cartón corrugado funcionalizado de cada tratamiento se colocó en un cuadrante específico. Las cajas de Petri se sellaron y se incubaron a 37 °C durante 24 h. A las 24 h se tomaron fotografías y se midió el halo de inhibición del disco de cartón corrugado funcionalizado con el programa Image J.

4.12 Análisis estadístico

Los resultados se reportan como la media \pm desviación estándar para las mediciones por triplicado. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante una prueba de ANOVA de una vía y post hoc Tukey ($p < 0.05$) para comparar las diferencias entre tratamientos. Los análisis estadísticos se realizaron en el programa Statistica 8.0.

6. DISCUSIÓN

La presente investigación tuvo por propósito modelar un material celulósico “cartón corrugado” mediante una funcionalización con la aplicación de recubrimientos biológicos a base de aceites esenciales (AE) incorporados en matrices biopoliméricas.

Tagetes lucida es una planta perenne, herbácea, temporal, olorosa y abundante en regiones del centro y sur de la república mexicana. El efecto antifúngico del AE de *T. lucida* está demostrado por la inhibición del crecimiento micelial de *Sclerotium rolfsii* y *Monilinia fructicola* (Barajas *et al.*, 2011), *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium janthinellum* y *Rhizoctonia solani* (López-López *et al.*, 2018).

El primer resultado que se obtuvo fue el punto isobéptico (PI) del AE de *T. lucida* y cítricos por diluciones sucesivas. El PI es la absorbancia total del analito donde no ocurren cambios por reacciones químicas (concentración o pH) o físicas (luz UV, temperatura) (Duymovich *et al.*, 2005).

El PI del AE de *T. lucida* se identificó a 249 nm. El AE de *T. lucida* contiene metil-chavicol, β -mirceno, β -omiceno, cis-anetol y trans-anetol. El compuesto mayoritario fue el metil-chavicol. El PI corresponde a las señales identificadas en suero de albumina bovino (ASB) con metil-chavicol 250 - 279 nm (Singh *et al.*, 2023), el estragol un isómero del chavicol identificó su señal en un intervalo de 220 nm a 278 nm en *Ocimum* sp. (Tangpao *et al.*, 2018) y el PI del anetol un compuesto minoritario se presentó a 259 nm (Fagundes *et al.*, 2014).

El PI del AE de cítricos se identificó a 264 nm. El AE de cítricos contiene D-limoneno, terpinoleno, γ -terpineno y β -pineno. El PI del AE de cítricos se dilucidó a 250 nm (Lide, 1993), en nanoemulsiones de quitosano a 260 nm (Zhang *et al.*, 2015) y en el AE de *Citrus x jambhiri* Lush. a 262 nm (Urrumaga-Ormachea *et al.*, 2022). El D-limoneno es el compuesto mayoritario del AE en nuestro estudio y los datos en la literatura muestran el PI en regiones similares en el espectrofotómetro de UV-vis.

Los resultados de los puntos isobécticos del AE de *T. lucida* (249 nm) y cítricos (264 nm) en comparación con los datos en la literatura indican la presencia de los componentes mayoritarios (metil-chavicol) y (D-limoneno) y que no existen cambios aún en diluciones sucesivas donde las señales UV-vis se mantienen.

Los efectos inhibitorios con derivados biológicos de *T. lucida* y cítricos para el control de *C. acutatum* perteneciente al consorcio de pudrición peduncular en aguacate (PPA) se comparan en la literatura. El AE de albahaca con metil-chavicol como compuesto mayoritario inhibió *in vitro* a una concentración de 4 µl/ml en un halo radial de 3.2 mm a las 96 h el crecimiento de la cepa *C. acutatum* (Danh *et al.*, 2021), AE de clavo con una concentración de 4 µl/ml inhibió el crecimiento micelial de *L. theobromae* y *F. oxysporum* identificados en el consorcio SER (Nilmini *et al.*, 2020) y el AE de timol a concentración de 8 µl/ml inhibió totalmente a *C. gloeosporioides* (Perumal *et al.*, 2016).

El AE de cítricos muestra un efecto inhibitorio contra *C. acutatum*. Una concentración de 32 µl/L inhibió a *C. gloeosporioides* (Cheng *et al.*, 2022), el AE de hojas de *S. terebinthifolius* con monoterpenos mayoritarios (α - felaldreno, α -pineno y D-limoneno) tuvo actividad fungicida contra *C. acutatum* a intervalos de 2 mg/ml a 5 mg/ml (Elshafie *et al.*, 2016) y el aldehído acíclico citral inhibió el crecimiento radial y germinación de esporas de *L. theobromae* con una concentración de 4 µl/ml; además activo la síntesis de enzimas de defensa (Obianom y Sivakumar, 2018).

Los mecanismos de acción aún no están completamente comprendidos; de manera general la lipofiliidad de los AE para penetrar la pared celular de los hongos ocasiona una alteración y desbalance en procesos metabólicos (presión osmótica, pH, potencial de membrana, bloqueo enzimático, DNA) lo que suscita una lisis y muerte (Bakkali *et al.*, 2005; Hyldgaard *et al.*, 2012; Dwivedy *et al.*, 2016). Los resultados de dicho ensayo indican una efectividad inhibitoria en el AE de cítricos

El tercer ensayo que se realizó fue el índice de severidad (IS) *in situ* en el pedúnculo del modelo biológico del aguacate cv. *Hass*. De acuerdo a la literatura la aplicación de compuestos naturales en el pedúnculo tiene un efecto protector y disminución para evitar la aparición de PPA. El AE de tomillo a una concentración de 66.7 µl/L disminuyó hasta un 92.5% la virulencia de *C. gloeosporioides* en mango (Perumal *et al.*, 2016).

El AE de tomillo 0.1 % (v/v) y ploclozaz 500 ($\mu\text{g/ml}$) maximiza la inhibición contra la cepa *C. gloeosporioides* y *L. theobromae* en aguacate cv. Fuerte inoculados artificialmente; el fruto no disminuyó dureza y conservó la presencia de sólidos totales (ST) (Obianom y Sivakumar, 2018). La goma laca cargada con 10 $\mu\text{l/ml}$ del AE de carvacrol y timol redujo el daño por *Lasiodiplodia theobromae* en cadena en frío (Jiaqi *et al.*, 2020).

El punto isobéptico (PI), el índice de crecimiento (IC) *in vitro* de *C. acutatum* en cartón funcionalizado y el índice de severidad (IS) *in situ* en el pedúnculo del aguacate por la inoculación de *C. acutatum* fueron ensayos contundentes que los AE de *T. lucida* y cítricos tuvieron un efecto protector; ya que estos redujeron la incidencia/aparición/colonización en el cartón y en el fruto. Por lo que son candidatos elegibles para los ensayos posteriores.

Los AE son susceptibles a factores de pH, fotooxidación y temperatura (Kiralan *et al.*, 2021). La incorporación de AE a matrices biopoliméricas es una estrategia de control sostenido que libera al compuesto bioactivo gradualmente sin sufrir modificaciones físicas o químicas.

La incorporación del D-limoneno incluso en matrices afines de almidón poroso demuestra una tasa de volatilización total a las 24 h con 99.1%. La liberación de AE de cítricos es sensible a cambios de temperatura y a la abundancia de moléculas orgánicas

Las NP + AE de cítricos y *T. lucida* fueron el grupo intermedio en liberación y volatilidad en las matrices poliméricas con intervalos de 24-32 h. La literatura nos indica que en el AE de tomillo tuvo una residualidad del 11% a 4°C durante 7 días. La volatilidad fue del 60% a las 9 h; en nuestros resultados presentamos una volatilidad de 40% y 23% a las 8 h para *Tagetes lucida* y cítricos; seguido de 46 % y 54% respectivamente 16 h (González-Reza *et al.*, 2021). En otro estudio las nanopartículas (NP) de sulfato-dextrano cargadas con curcumina liberó el 70% del compuesto a las 120 h (Anitha *et al.*, 2011).

El PVA demostró la mejor capacidad de retención y liberación en intervalos de tiempo de 60 h a 68 h. El PVA presenta capacidades filmogénicas para la formación de películas adhesivas y plastificadas. El AE de *Mentha longifolia* L. (3%) incorporado en goma de semilla de *Balangu* liberó el 80% del AE a los 3 min en etanol 10% y posteriormente

mantuvo un carácter estándar de liberación hasta 180 min (Rezaeinia *et al.*, 2019). El sistema de retención y liberación de AE en PVA puede explicarse por el fenómeno de difusión por modelos matemáticos de Korsmeyer-Peppas de primer orden que son la base fundamental de las leyes de Fick. Los parámetros de difusión Fickiano se evalúan de la siguiente forma.

Los valores de $0.54 \geq n \leq 0.75$ el fenómeno es Finkiano, cuando $n \leq 0.8$ es un fenómeno Finkiano anómalo (susceptibilidad de la matriz a la difusión del compuesto activo) $n = 1$ (desplazamiento del compuesto bioactivo por diferencia del gradiente de concentración) y es independiente del tiempo y por último $n > 1$ el mecanismo es complejo de trasportación (Papadopoulou *et al.*, 2006).

Las nanofibras de PVA/goma de almendra/vainillina por la técnica de electrohilado presentó una liberación pseudo-finkiana que liberó el 58% de la vainillina hasta 90 días (Rezaei *et al.*, 2016). Microcápsulas de AE de lavanda en PVA mostraron una liberación lineal del 80% a partir de las 6 h con un efecto de primer orden y un comportamiento linealizable (Zhang *et al.*, 2020). La película de agar (AG), AE de corteza de canela (AEC) y alcohol polivinílico (PVA) en proporción 75:25 redujo la cinética de liberación y tuvo un comportamiento de difusión constante Finkiano anómalo (Jung-Soo *et al.*, 2018).

Las matrices para incorporación de compuestos bioactivos de acuerdo a (Wilkins, 1990) se clasifican por su degradabilidad y estructura química. Las NP de quitosana están en el segundo lugar y PVA en quinto (Anitha *et al.*, 2011). La hidrofobicidad, hinchazón, solvente, espesor, sistema de recubrimiento, número de capas, temperatura, humedad relativa, pH, tipo de impregnación, adsorción, difusión y el tipo de soporte de encapsulamiento o revestimiento son factores que influyen en la liberación de los AE en una matriz polimérica (Akbar y Azadeh, 2015; López De Dicastillo *et al.*, 2016; Estévez-Areco *et al.*, 2018; Beltrán-Sanahuja y Valdés-García, 2021).

Los AE de *T. lucida* y cítricos quedan atrapados en el material polimérico o bio polimérico. Sin embargo, estos revestimientos o encapsulamientos deben incorporarse en matrices superficiales que sean compatibles para mejorar propiedades físicas, mercancías, químicas o microbiológicas. Las características dependen de la prestabilidad para incluir el agente bioactivo en la matriz celulósica (Medronho y Lindman, 2014).

La adsorción es un fenómeno físico-químico de retención de una sustancia líquida o sólida en la capa externa de un polímero. Los soportes celulósicos son matrices que atrapan a los AE. La efectividad en la adsorción de un AE se centra en la elección del soporte biopolimérico con propiedades de retención y adhesión por las interacciones químicas (Wicochea-Rodríguez *et al.*, 2019). El segundo objetivo fue evaluar cuatro matrices celulósicas (papel estraza, papel Whatman y papel filtro) con aceptación para contacto directo con alimentos y la fabricación de embalajes celulósicos activos (FDA, 2022).

El D-limoneno es un terpeno volátil a diferencia del carvacrol o eugenol, el secado y la temperatura puede influir en una rápida liberación y pérdida de componentes fenólicos (Kurek *et al.*, 2012). El cartón corrugado es estructuralmente más grueso y denso que el papel. El reforzamiento en papel y la ondulación del tipo de flauta puede ser crucial para una mayor adsorción de cualquier sustancia líquida en el cartón. Los AE pueden interacciones con grupos hidroxilos libres de la celulosa y funcionalizar su incorporación, incluso con la ayuda de gomas, lacas, polímeros (Kurek *et al.*, 2012). Por ejemplo; el atrapamiento de D-limoneno se logró con el uso de goma arábica en papel Kraft a forma de recubrimiento (Konuk *et al.*, 2015).

La adsorción afín de las matrices poliméricas en ambos AE de *T. lucida* y cítricos puede deberse a su carácter de compuesto ionizado (Wicochea-Rodríguez *et al.*, 2019). El metil-chavicol tiene una naturaleza química similar a el eugenol únicamente con un sustituyente en la posición 2 de un grupo OH⁻. Las interacciones intramoleculares del eugenol es un donador de protones y en la celulosa forma un acoplamiento intramolecular más estables (Ben-Arfa, 2007).

La naturaleza química, sorción (celulosa/AE), tamaño molecular, emulsificación del recubrimiento, tipo de impregnación, cristalinidad, polaridad y humedad relativa (HR) de la matriz en la que queda atrapado el agente activo también podría influir en el mecanismo de liberación y su adhesión a la celulosa (Chalier *et al.*, 2007; Wicochea-Rodríguez *et al.*, 2019). En dicho caso (Schuman *et al.*, 2004) menciona que la afinidad química en papel Kraft puede representar una incompatibilidad y rechazar sustancias activas que puede ser papel filtro, Whatman y estraza con el AE.

El glicerol es una base plastificante que puede adherirse en forma de película sobre superficies rugosas o lisa de forma sólida. El uso de glicerol de revestimiento con AE rellena poros vacíos y liberación gradualmente los componentes activos (Kurek *et al.*, 2012). (Wicochea-Rodríguez *et al.*, 2019) menciona que el carvacrol y eugenol en matrices de proteína de soya o almidón tuvieron una liberación más lenta que depende del número de capas, difusión y humedad. Asimismo, el PVA se utiliza para la formación de recubrimientos en papel al ser una base plastificante tiene un comportamiento similar al glicerol.

Este ensayo es un primer análisis de matrices celulósicas incorporados con recubrimientos poliméricos y AE. El cartón corrugado es un material de embalaje adecuado para la retención y adsorción de AE de *T. lucida* y cítricos.

Las propiedades de barrera, físicas y mecánicas son parámetros de evaluación de la funcionalidad en los biomateriales. Las propiedades de barrera protegen al producto contenido y procuran disminuir la permeabilidad al vapor de agua (WVTR), permeabilidad al oxígeno (OTR), resistencia a la grasa y pérdida de aromaticidad catalogados factores de deterioro de los embalajes (Riley, 2012; Wang *et al.*, 2018; Sangroniz *et al.*, 2019). El cartón tiene una baja propiedad de barrera (Khwaldia *et al.*, 2010). El impregnar recubrimientos en la superficie (PVA, EVOH, látex, AE, NP) es una de las técnicas útiles en la industria. El cartón refuerza las debilidades nativas y se convierte en un biomaterial funcionalizable (An *et al.*, 2008).

La funcionalización de la superficie en la celulosa ofrece protección contra microfracturas, roturas, rugosidad, granulosidad y protección antimicrobiana.

Las técnicas de impregnación más comunes son el laminado y dispersión poliméricas acuosas en materiales celulósicos por la uniformidad que crea en la superficie (Kjellgren *et al.*, 2006). La incorporación de quitosana en papel fabricado a partir de sulfito demostró una resistencia a la grasa en proporción a la permeabilidad al oxígeno y un incrementó en el gramaje dependiente de la capa con 2.4 g/m² a 5.2 g/m² y no proporción barrera contra el agua en nuestros resultados difieren en los valores pues nuestro gramaje fue de 8.25 g/m² que puede explicarse por la triple capa de deposición impregnada en la superficie del papel (Kjellgren *et al.*, 2006).

Un caso similar se observó en el estudio de un recubrimiento de quitosano en cartón como repelente de insectos donde se observó un incremento del espesor en intervalos de 0.40 mm a 0.48 mm y un valor de resistencia a la grasa de 5 a 11 dependiente de la corrida (de Fátima-Silva *et al.*, 2022). El cartón corrugado funcionalizado repele aceites y tintes el PVA como las NP (Schuman *et al.*, 2004). El WVTR 28.06 ± 2.92 y el contenido de humedad (%) 8.80 ± 0.10 presentan valores similares a nuestros resultados. Una de las diferencias es el grado de acetilación que se utilizó y el número de capas; para lograr un efecto hidrofóbico (Gatto *et al.*, 2019). El PVA/fibras de bambú incrementó 2 g/m^2 , logró una resistencia a la grasa de un valor inicial de 1 hasta 9, un mejoramiento en el ángulo de contacto de 67° a diferencia del control únicamente PVA en electrohilado 35° (Huang *et al.*, 2022; Gao *et al.*, 2023). Jianprasert *et al.*, (2016) elaboraron un embalaje de cartón con incorporación de un compuesto de ácido palmítico/carbón activado/quitosano por un sistema multicapa donde se redujo el WVTR, el valor de resistencia a la grasa incrementó a 11 (dos Santos *et al.*, 2022).

El PVA se reporta que al incorporarlo en papel incrementa entre los valores de 8 a 11. El embalaje de cartón con incorporación de una solución de PVA mejora las propiedades oleofilicas (valor 12) y un recubrimiento total de los poros con dos capas laminares de PVA con un gramaje de 2.4 g/m^2 (Christophliemk *et al.*, 2023). El ángulo de contacto fue 88° menor al incorporar PVA/Tung en cartón corrugado que indica una humedad en la superficie (Jianprasert *et al.*, 2016).

La caracterización por el recubrimiento superficial en el cartón se visualizó por microscopia electrónica de barrido (SEM) a escala de 500x. La estructura superficial de PVA + AE de cítricos y *T. lucida* es lisa, continua, sin grietas, de capa delgada, sin aglutinaciones, homogeneidad en la cubierta. La rugosidad y zonas heterogéneas dependerá del aditamento que se le agrega como suero de leche, pectina, almidón y de la estructura del recubrimiento (Nassar y Hassan, 2013). Las imágenes de SEM para PVA/aceite de Tung en la superficie de cartón mostró regularidad y uniformidad al aplicar el recubrimiento y una obstrucción de poros datos similares a nuestros resultados (Jianprasert *et al.*, 2016). En papel con PVA/zeína se observa una estructura fina, lisa sin apertura de poros (Hamdani *et al.*, 2021)

El eje central de la presente investigación es funcionalizar el cartón corrugado y generar un efecto antifúngico. Los biomateriales funcionalizados con agentes bioactivos tienen la misión de preservar las propiedades organolépticas de los alimentos contenidos e inhibir la tasa de reproducción de los fitopatógenos. Una de las tendencias más importantes surgen para la manufactura de embalajes antimicrobianos (Campos *et al.*, 2014).

La madera es un material higiénico controlador de la diseminación microbiana en su superficie (Fink *et al.*, 2013). El cartón es estructuralmente “pasivo” e innatamente heterogéneo en la distribución de fibras de celulosa, su porosidad organizacional impide la distribución, desplazamiento, motilidad y desarrollo de microorganismos que suscita a una muerte celular (Patrignani *et al.*, 2016). Sin embargo, la carga microbiana, resistencia y especificidad del microorganismo pueden superar barreras estructurales del cartón y permitir vivir en latencia en un cohabitado hasta encontrar condiciones ideales de sobrevivencia en el cartón (Walton, 2022).

Las superficies de cartón no funcionalizadas son susceptibles a hospedantes microbianos que se aniden en fibras internas de la superficie, fijarse e iniciar procesos de metabólicos y de reproducción como la secreción de esporas que colonizan el material por completo en un tiempo finito (Suominen *et al.*, 1997; Uhlich *et al.*, 2006).

La incidencia más grave es la contaminación cruzada por contacto directo con hongos o bacterias al alimento presentes en la superficie del material e incrementa las posibilidades de transmisión de enfermedades en refrigeración en temperatura mesófila, pH o humedad relativa (HR) principalmente en frutos (Han, 2000; De Candia *et al.*, 2015).

La funcionalización de materiales implica la adición/impregnación de revestimientos superficiales que garanticen un mejoramiento en propiedades físico-mecánicas, de barrera o microbiológicas de manera individual o sinérgica (Jo *et al.*, 2012; Ju *et al.*, 2019). El impregnar recubrimiento biológico (quitosano, almidón, proteína de soya, carboximetilcelulosa, aceites esenciales) es principio de mejoramiento en embalajes celulósicos (Khwaldia *et al.*, 2010). El papel y cartón muestran propiedades funcionalizables en aspectos microbiológicos.

El ensayo de (Peter *et al.*, 2022) demostró con cuatro tipos de papel (SLO: Eslovenia), (IT: Italia), (RO: Rumania) y (SP: España) una naturaleza química y comportamiento diferente en propiedades de barrera y microbiológicas. El RO recubierto con polietileno demostró mayor ángulo de contacto (°) y propiedades de barrera a diferencia de SLO a base de almidón. En el aspecto antimicrobiano SLO inhibió la tasa de crecimiento de *E. coli*, *S. enterica*, *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa* y *P. fluorescens* en contraste con RO, SLO y IT que fueron modestamente efectivas.

El cartón corrugado con una mezcla de carboximetilquitosano/ácido palmítico/nano óxido de zinc en película demostró un reforzamiento en propiedades de barrera e inhibición en el crecimiento de *E. coli* a una concentración del carboximetilquitosano del 1.5% (Zhang *et al.*, 2021)

La evaluación de tres papeles a partir de un blanqueado, crudo y reciclado con la incorporación del AE de *Coriandrum sativum* L. demostró un efecto antibacteriano con intervalos de inhibición del 60 al 100% (Kostova *et al.*, 2020). El papel recubierto con un micro encapsulado del AE de *Cymbopogon* a una concentración de 30 (g/m²) inhibió el crecimiento de *E. coli* a las 24 h (Šumiga *et al.*, 2019).

El papel Kraft acetilado y con cinamaldehído logró aumentar las propiedades de barrera, resistencia a la tensión e inhibición (30 mm) en el crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* a una concentración del 6-8% (Zhang *et al.*, 2021).

El diámetro de inhibición de *E. coli* (12.4 ± 0.4) y *S. áureas* 14.4 ± 0.7b concordó con nuestros resultados. La efectividad del cinamaldehído puede ser por el grado de pureza a diferencia de *T. lucida*.

Las bases biológicas de papel para embalaje con la incorporación superficial de zeína/AE de romero demostró un efecto repelente y una opción viable para utilizarse como embalaje de contacto directo (Vrabič y Tihole, 2020).

El uso de embalajes activos con AE es un área potencialmente económica y tecnológicamente sustentable para biomateriales. Uno de los retos biotecnológicos es la aplicación *in situ* de los embalajes antimicrobianos para frutos de exportación (Becerril *et al.*, 2020).

El cartón corrugado con β -ciclodextrina/AE de carvacrol, menta, orégano y canela se impregnó en la cara interna del embalaje; con ello consiguieron una conservación de las propiedades organolépticas hasta por 30 días en refrigeración (2 °C) en uva, lechuga y durazno. En dicho estudio se redujo la carga de bacterias de mesófilos (López-Gómez *et al.*, 2020). El tomate también se envasó en cartón corrugado con AE en ciclodextrinas durante 22 días a 8 °C; en el que se incrementó la extensión de vida en anaquel del fruto, conservación de firmeza, color y sólidos totales (ST) (Buendía-Moreno *et al.*, 2019). Los AE de *Cymbopogon citratus* y *Mentha piperita* mostraron un efecto anti adhesivo para la formación de biopelículas.

El uso de biomateriales funcionalizados para alimentos es una tendencia que está en constante investigación y desarrollo (I+D) por cuerpos académicos, investigadores e industrias. El aumento en el consumo de alimentos por la demanda poblacional en los próximos años supone un reto pues se necesitan estrategias sociales, políticas, económicas y culturales para el aseguramiento e inocuidad de los alimentos para su exportación y consumo, así como satisfacer las necesidades mundiales.

El cartón es un derivado de la madera que cumple funciones de embalaje para exportar múltiples productos. Su mayor aplicación radica en la trasportación de frutos, el aguacate cv. Hass es uno de los alimentos más adquirido en el mundo.

La funcionalización del cartón corrugado con aditivos de AE convierten al embalaje de “pasivo” a “activo” inmersamente con un efecto antimicrobiano. En este trabajo, se demostró que la funcionalización de la superficie de cartón corrugado con el recubrimiento de alcohol polivinílico (PVA) y los aceites esenciales (AE) determinó un efecto antifúngico en el crecimiento de *C. acutatum*, así mismo se mejoraron propiedades de barrera que dejan en perspectiva la posible fabricación de un embalaje antimicrobiano.

7. CONCLUSIÓN

El cartón corrugado funcionalizado con recubrimientos de alcohol polivinílico (PVA) y los aceites esenciales (AE) de *T. lucida* y cítricos al 5% y 10% controlaron el crecimiento del hongo fitopatógeno *C. acutatum*. Por lo que se propone como candidato para la fabricación de un embalaje antimicrobiano

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265-267.
- Afra, E., Mohammadnejad, S., & Saraeyan, A. (2016). Cellulose Nanofibrils as Coating Material and its Effects on Paper Properties *Progress in Organic Coating* 101, 455-460.
- Akbar, Esmaeili., & Azadeh, Asgari. (2015). *In vitro* release and biological activities of *Carum copticum* essential oil (CEO) loaded chitosan nanoparticles, *International Journal of Biological Macromolecules*, 81, 283-290.
- Ali, A., Muhammad, M. T. M., Sijam, K., & Siddiqui, Y. (2010). Potential of chitosan coating in delaying the postharvest anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) of Eksotika II papaya. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(10), 2134-2140.
- Ameer, K. (2016). Avocado as a Major Dietary Source of Antioxidants and Its Preventive Role. *Adv. Neurobiology*.12: 337-354
- An, J., Zhang, M., Wang, S., & Tang, J. (2008). Physical chemical and microbiological changes in stored green asparagus spears as affected by coating of silver nanoparticles-PVP. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1100-1107.
- Andersson, C. (2008). New Ways to Enhance the Functionality of Paperboard by Surface Treatment - A Review. *Packaging Technology and Science*, 21, 339-373.
- Anitha, A., Deepagan, V. G., Divya Rani, V. V., Menon, D., Nair, S. V., & Jayakumar, R. (2011). Preparation, characterization *in vitro* drug release and biological studies of curcumin loaded dextran sulphate–chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 84, 1158-1164.
- Aviat, F., Gerhards, C., Rodriguez-Jerez, J., Michel, V., Bayon, I. Le, Ismail, R., & Federighi, M. (2016). Microbial Safety of Wood in Contact with Food: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3), 491-505.

- Avolio, R., Bonadies, I., Capitani, D., Errico, M. E., Gentile, G., & Avella, M. (2012). A multitechnique approach to assess the effect of ball milling on cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 87, 265-273.
- Bakkali, F Averbeck, S Averbeck, D Zhiri, A., & Idaomar, M. (2005). Cytotoxicity and gene induction by some essential oils in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 585(1),1-3.
- Barajas P. J. S., R. Montes-Belmont, F. Castrejón A., H. E. Flores-Moctezuma & M. A. Serrato C. (2011). Propiedades antifúngicas en especies del género *Tagetes*. *Revista Mexicana de Micología*, 34,85-91.
- Bastioli, C. (2001). Global Status of the Production of Biobased Packaging Materials *Starch* 53(8), 351-355.
- Becerril, R.; Nerín, C.; Silva, F. Encapsulation Systems for Antimicrobial Food Packaging Components: An Update. *Molecules* 2020, 25, 1134.
- Beltrán-Sanahuja, A., & Valdés-García, A. (2021). New Trends in the Use of Volatile Compounds in Food Packaging. *Polymers*, 13, 1053.
- Ben Arfa, A., Preziosi-Belloy, L., Chalier, P., & Gontard, N. (2007). Antimicrobial paper based on a soy protein isolate or modified starch coating including carvacrol and cinnamaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 2155-2162.
- Bledzki, A. K., Reihmane, S., & Gassan, J. (1996). Properties and modification methods for vegetable fibers for natural fiber composites. *Journal of Applied Polymer Science*, 59, 1329-1336
- Bogati, D. R. (2011). Cellulose based Biochemicals and their Applications Degree Programme in Chemical Engineering, (Tesis de maestría) Universidad de Ciencias Aplicadas de Saimaa, Finlandia
- Biedermann, M., & Grob, K. (2010). Is recycled newspaper suitable for food contact materials? Technical grade mineral oils from printing inks. *European Food Research and Technology*. 230, 785-796.
- Brody, A. L., Strupinsky, E. P., & Kline, L. R. (2001). Active packaging for food applications. CRC press.

- Bordoh, P. K., Ali, A., Dickinson, M., Siddiqui, Y., & Romanazzi, G. (2020). A review on the management of postharvest anthracnose in dragon fruits caused by *Colletotrichum* spp. *Crop Protection*. 130: 105067.
- Bowen, J., Billing, D., Connolly, P., Smith, W., Cooney, J., & Burdon, J. (2018). Postharvest Biology and Technology Maturity, storage and ripening effects on anti-fungal compounds in the skin of 'Hass' avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 146, 43-50.
- Buendía, L., Soto, S., Ros, M., Antolinos, V., Navarro, L., Sánchez, M. J., & López, A. (2019). Innovative cardboard active packaging with a coating including encapsulated essential oils to extend cherry tomato shelf life. *Lwt*, 116, 108584.
- Buendía-Moreno, L., Ros-Chumillas, M., Navarro-Segura, L., Sánchez-Martínez, M. J., Soto-Jover, S., Antolinos, V., & López-Gómez, A. (2019). Effects of an active cardboard box using encapsulated essential oils on the tomato shelf life. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 1548-1558.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
- Cai, J., Xiao, J., Chen, X., & Liu, H. (2020). Essential oil loaded edible films prepared by continuous casting method: Effects of casting cycle and loading position on the release properties. *Food Packaging Shelf Life*, 26,100555.
- Campos-Raquena, V., H, Rivas, B.L, Pérez, A., M, Figueroa, C., R & Sanfuentes, E., A. (2015). The synergistic antimicrobial effect of carvacrol and thymol in clay/polymer nanocomposite films over strawberry gray mold. *LWT - Food Science and Technology*. 64(1), 390-396.
- Cataldi, P., Profaizer, M., & Bayer, I. S. (2019). Preventing water-induced mechanical deterioration of cardboard by a sequential polymer treatment. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 58, 6456-6465.
- Chalier, P., Ben Arfa, A., Preziosi-Belloy, L., & Gontard, N. (2007). Carvacrol losses from soy protein coated papers as a function of drying paper conditions *Journal of Applied Polymer Science*,106, 611-620.

- Chandra, R., & Rustgi, R. (1998) Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, 23, 1273-1335
- Cheng, Y. J., Wu, Y. J., Lee, F. W., Ou, L. Y., Chen, C. N., Chu, Y & Kuan, Y., C (2022). Impact of Storage Condition on Chemical Composition and Antifungal Activity of Pomelo Extract against *Colletotrichum gloeosporioides* and Anthracnose in Post-harvest Mango. *Plants* 2022, 11, 2064.
- Chien, P. J., Sheu, F., & Yang, F. H. (2007). Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 225-229.
- Choi, J. O., Jitsunari, F., Asakawa, F., Park, H. J., & Lee, D. S. (2002). Migration of surrogate contaminants in paper and paperboard into water through polyethylene coating layer. *Food Additives & Contaminants*, 19, 1200-1206.
- Christophliemk, H.; Bohlin, E., Emilsson, P., & Järnström, L. (2023). Surface Analyses of Thin Multiple Layer Barrier Coatings of Poly (vinyl alcohol) for Paperboard. *Coatings*, 13, 1489.
- Coles, R., Kirwan, M, J., & McDowell, D. 2003. *Food and Beverage Packaging Technology*. 2° Edición. Hoboken, Nueva Jersey, E.U.A. Blackwell Publishing Ltd. 344 pp.
- Cosgrove, D., J. (2005). Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6(11), 850-61.
- Cota-Arriola, O., Cortez-Rocha, M.O., Rosas-Burgos, E.C., Burgos-Hernández, López-Franco, Y.L., & Plascencia-Jatomea, M. (2011). Antifungal effect of chitosan on the growth of *Aspergillus parasiticus* and production of aflatoxin B1. *Polymer International*, 60, 937-944.
- Danh, L, T., Giao, B, T., Duong, C. T., Nga, N. T. T., Tien, D. T. K., Tuan, N. T., Huong BTC, Nhan T. C., & Trang, D. T. X. (2021). Use of Essential Oils for the Control of Anthracnose Disease Caused by *Colletotrichum acutatum* on Post-Harvest Mangoes of Cat Hoa Loc Variety. *Membranes (Basel)*, 11(9):719.
- De Candia, S., Morea, M., & Baruzzi, F. (2015). Eradication of high viable loads of *Listeria monocytogenes* contaminating food-contact surfaces. *Frontier Microbiology*, 6,733.

- de Fátima Silva, M., Maciel, V. B. V., Noletto, A. P. R., Venturini, A. C., de Carvalho, R. A., & Yoshida, C. M. P. (2022). Chitosan active coating on paperboard surface forming an anti-insect grain-based food packaging. *Packaging Technology and Science*, 35(4), 361-372.
- de Kruijf, N., van Beest, M., Rijk, R., Sipilainen-Malm, T., Paseiro, L. P., & De Meulenaer, B. (2002). Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 19, 144-162.
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430
- Defraeye, T., Cronjé, P., Berry, T., Opara, U. L., East, A., Hertog, M., ... & Nicolai, B. (2015). Towards integrated performance evaluation of future packaging for fresh produce in the cold chain. *Trends in food science & technology*, 44(2), 201-225.
- Del Curto, B., Barelli, N., Profaizer, M., Fare, S., Tanzi, M. C., Cigada, A., Ognibene, G., Recca, G., & Cicala, G. (2016). Poly-paper: a sustainable material for packaging, based on recycled paper and recyclable with paper. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, 14(4), 490-495.
- dos Santos, J. W. S., Noletto, A. P. R., de Azeredo, H. M. C., de Carvalho, R. A., da Silva, C. F., & Yoshida, C. M. P. (2023). Bio-based multilayer paperboard for sustainable packaging application. *Journal of Applied Polymer Science*, 54415.
- Duymovich, C., Acheme, R., Sesini S & Mazziotta, D. (2005). Espectrofotómetros y Fotocolorímetros Guía práctica de actualización. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 39 (4), 529-39
- Dwivedy, A. K., Kumar, M., Upadhyay, N., Prakash, B., & Dubey, N. K. (2016). Plant essential oils against food borne fungi and mycotoxins. *Current opinion in food science*, 11,16-21.
- Elsabee, M. Z., & Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: a review. *Materials Science and Engineering: C*, 33,1819-1841.
- Elshafie, H. S., Ghanney, N, Mang., S. M, Ferchichi., A, Camele., I. (2016). An *In Vitro* Attempt for Controlling Severe Phytopathogens and Human Pathogens Using

Essential Oils from Mediterranean Plants of Genus *Schinus*. *Journal of Medicinal Food*, 19(3), 266-73.

- Emblem, A. (Ed.). (2012). *Packaging technology: Fundamentals, materials and processes*. Elsevier.
- Estevez-Areco, S., Guz, L., Candal, R., & Goyanes, S. (2020). Active bilayer films based on cassava starch incorporating ZnO nanorods and PVA electrospun mats containing rosemary extract. *Food hydrocolloids*, 108, 106054.
- Fadiji, T., Coetzee, C., & Opara, U. L. (2016). Compression strength of ventilated corrugated paperboard packages: Numerical modelling, experimental validation and effects of vent geometric design. *Biosystems Engineering*. 151, 231-247.
- Fagundes, V. H., Pinho, R. J., Wiirzler, L. A., Kimura, E., Bersani-Amado, C. A., & Cuman, R. K. (2014). High performance liquid chromatography method for the determination of anethole in rat plasma. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(5), 793-799.
- Fernqvist, F., Olsson, A., & Spendrup, S., 2015. What's in it for me? Food packaging and consumer responses, a focus group study. *British Food Journal*, 117(3), 1122-1135.
- Fink, R., Filip, S., Oder, M., & Jevšnik, M. (2013). Wood in food industry-potential applications and its limitations. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*, 4, 188-94.
- Franz, C., & Novak, J., (2010). Sources of essential oils. In: Baser, K.H.C., Buchbauer, G. (Eds.), *Handbook of Essential Oils. Science, Technology and Applications*. CRC Press, Boca Raton, Florida 39-82.
- Gao, S., Zhu, C., Ma, L., Liu, C., Zhang, H., & Zhang, S. (2023). Preparation of an Aminated Lignin/Fe(III)/Polyvinyl Alcohol Film: A Packaging Material with UV Resistance and Slow-Release Function. *Foods*, 12, 2794.
- Gatto, M, Ochi, D., Yoshida, C, M, P., & da Silva CF. (2019). Study of chitosan with different degrees of acetylation as cardboard paper coating. *Carbohydrate Polymers*. 210, 56-63.
- González-Reza, R. M, Hernández-Sánchez, H., Quintanar-Guerrero, D., Alamilla-Beltrán, L., Cruz-Narváez, Y. & Zambrano-Zaragoza, M. L. (2021). Synthesis,

Controlled Release, and Stability on Storage of Chitosan-Thyme Essential Oil Nanocapsules for Food Applications. *Gels*, 7(4),212.

- Grob, K., Biedermann, M., Scherbaum, E., Roth, M., & Rieger, K. (2006). Food contamination with organic materials in perspective: packaging materials as the largest and least controlled source? A view focusing on the European situation. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46(7), 529-535.
- Gunders, D., (2012). Wasted: How America is Losing up to 40 Percent of its Food from Farm to Fork to Landfill. 26. Natural Resources Defense Council, 1-26.
- Habibi, Y., Lucia, L. A., & Rojas, O. J. (2010). Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications. *Chemical Reviews*, 110(6), 3479-500.
- Haghighi, H.; Leugoue, S.K.; Pfeifer, F.; Siesler, H.W.; Licciardello, F.; Fava, P.; Pulvirenti, A. (2020). Development of antimicrobial films based on chitosan-polyvinyl alcohol blend enriched with ethyl lauroyl arginate (LAE) for food packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 100, 105419
- Hamdani, S., Li, Z., Ruoqi, P., Rollend, E., & Rabnawaz, M. (2021). Oxygen and water vapor barrier properties of polyvinyl alcohol and zein bilayer-coated paper. *Journal of Applied Polymer Science*. 139.
- Hefft., D. I. (2018). Effects of Chitosan-Coated Paperboard Trays on the *Botrytis cinerea* Formation and Sensory Quality of Bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.) and Redcurrants (*Ribes rubrum* L.), *International Journal of Fruit Science*, 18:3, 300-306.
- Heredia-Guerrero, J. A., Benítez, J. J., Cataldi, P., Paul, U. C., Contardi, M., Cingolani, R., Bayer, I. S., Heredia, A., & Athanassiou, A. (2017). All-Natural Sustainable Packaging Materials Inspired by Plant Cuticles. *Advanced Sustainable Systems*,1(2), 1600024.
- Huang, S., Wang, X., & Zhang. (2022). Cellulose nanofibers/polyvinyl alcohol blends as an efficient coating to improve the hydrophobic and oleophobic properties of paper. *Scientific Reports*. 12, 16148.
- Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R. L., & Debarov, D. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*. 3(1): 1-24.

- Ibrahim, I. D., Hamam, Y. Sadiku, E. R., Ndambuki, J. M., Kupolati, W. K, Jamiru, T., Eze, A. A., & Snyman, J. (2022). Need for Sustainable Packaging: An Overview. *Polymers (Basel)*,14(20), 4430.
- International Organization for Standardization (ISO). (2014). Aromatic natural raw materials - Vocabulary. ISO 9235:2013. Published 2014-09-10.
- loelovich, M. (2008). Cellulose as a nanostructured polymer: A short review. *BioResources*, 3(4), 1403-1418.
- Jayasekara, R.; Harding, I.; Bowater, I.; Christie, G.; Lonergan, G.T. (2004). Preparation, surface modification and characterization of solution cast starch PVA blended films. *Polymer Testing*, 23, 17-27.
- Jianprasert, A., Monvisade, P. & Yamaguchi, M. (2016). Surface improvement on water and oil affinities and absorption rate of PVA/Tung oil-coated paperboard and fiberboard. *Journal of Coatings Technology and Research*. 13, 345-354.
- Jiaqi Yan, Jiuxu Zhang, Cuifeng Hu, Lili Deng, Mark A. (2020). Ritenour, Use of carvacrol and thymol in shellac coating to control stem-end rot on 'Ruby Red' grapefruit and maintain fruit quality during simulated storage and marketing, *Scientia Horticulturae*, 272, 109606.
- Jiménez-Caballero, M. A., Conde, I., García, B., & Liarte, E. (2009). Design of different types of corrugated board packages using finite element tools. In SIMULIA customer conference.
- Jo, J. Y., Min, C. K., & Shin, J. S. (2012). Manufacture of water-resistant corrugated board boxes for agricultural products in the cold chain system. *Journal of Korea Technical Association of the Pulp and Paper Industry*, 44, 29-34
- Johansson, C., Brass, J., Mondragon, I., Nechita, P., Plackett, D., Simon, P., Gregor Svetec, D., Virtanen, S., Baschetti, M.G., & Breen, C. (2012). Renewable fibers and bio-based materials for packaging applications - A review of recent developments. *BioResources*, 7, 2506-2552.
- Jones, P., & Comfort, D. (2017). The forest, paper and packaging industry and sustainability. *International Journal of Sales Retailing and Marketing* 6(1),3-21.

- Ju, J., Chen, X., Xie, Y., Yu, H., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., & Yao, W. (2019). Application of essential oil as a sustained release preparation in food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 92, 22-32.
- Jung-Soo, Lee., Inyoung, Choi., & Jaejoon, Han. (2021). Mathematical modeling of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark oil release from agar/PVA biocomposite film for antimicrobial food packaging: The effects of temperature and relative humidity, *Food Chemistry*, 363, 130306.
- Kader, A. A., & Rolle, R. S. (2004). The role of postharvest management in assuring the quality and safety of horticultural produce. *FAO Agricultural Services Bulletin* (Vol. 152). Rome, Italy: Food & Agriculture Organization of the United Nations.
- Kader, A. A. (2013). Impact of nut postharvest handling, de-shelling, drying and storage on quality. In *Improving the safety and quality of nuts* (pp. 22-34). Woodhead Publishing.
- Kamide, K. (2005). *Cellulose and Cellulose Derivatives: Molecular Characterization and its Applications*, Elsevier, Amsterdam.
- Kaushal, M. C., Sirohiya, V. K., & Rathore, R. K. (2021). Corrugated board structure: A review. *International Journal of Application of Engineering and Technology*, 2(3), 228-234.
- Keijsers, R. P. E., Gülden, Y., & Van Dam, E. G. (2013). The cellulose resource matrix. *Carbohydrate Polymers*, 93(1), 9-21.
- Khalil, H. A., Tye, Y. Y., Leh, C. P., Saurabh, C., Ariffin, F. & Fizree, H. M. (2018). Cellulose reinforced biodegradable polymer composite film for packaging applications. In *Bionanocomposites for packaging applications* (pp. 49-69): Springer.
- Khwaldia, K., Arab-Tehrany, E., & Desobry, S. (2010). Biopolymer coatings on paper packaging materials. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 82-91.
- Kim, D. Y., Nishiyama, Y., & Kuga, S. (2002). Surface acetylation of bacterial cellulose. *Cellulose*, 361-367.

- Kiralan, S. S., Karagoz, S. G., Ozkan, G., Kiralan, M., & Ketenoglu, O. (2021). Changes in volatile compounds of virgin olive oil flavored with essential oils during thermal and photo-oxidation. *Food Analytical Methods*, 14, 883-896.
- Kirwan, M. J. (2003). Paper and paperboard packaging. In: Kirwan, M. J. (eds.). *Food packaging technology*. Hoboken, Nueva Jersey, Estados Unidos. Wiley-Blackwell. pp. 241-281.
- Kirwan, M. J. (Ed.). (2005). *Paper and paperboard packaging technology*. Blackwell Pub. 5-7.
- Kjellgren, H., Gällstedt, M., Engström, G., & Järnström, L. (2006). Barrier and surface properties of chitosan-coated greaseproof paper, *Carbohydrate Polymers*, 65(4), 453-460.
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H. P., & Bohn, A. (2005). Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie International Edition*, 44(22), 3358-93.
- Kong, F., & Hu, Y. F. (2012). Biomolecule immobilization techniques for bioactive paper fabrication. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 403, 7-13.
- Kostova, I., Lasheva, V., Georgieva, D., Damyanova, S., Fidan, H., Stoyanova, A., & Gubenia, O. (2020). Characterization of active paper packaging materials with coriander essential oil (*Coriandrum sativum* L.). *Journal of Chemical Technology & Metallurgy*, 55(6).
- Kumar, L., Deshmukh, R. K., & Gaikwad, K. K. (2022). Antimicrobial packaging film from cactus (*Cylindropuntia fulgida*) mucilage and gelatine. *International Journal of Biological Macromolecules*, 215, 596-605
- Kurek, M., Descours, E., Galic, K., Voilley, A., & Debeaufort, F. (2012). How composition and process parameters affect volatile active compounds in biopolymer films. *Carbohydrate Polymers*, 88, 646-656.
- Lacey, J. 1989. Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, 115-253.

- Lamarra, J., Calienni, M. N., Rivero, S., & Pinotti, A. (2020). Electrospun nanofibers of poly (vinyl alcohol) and chitosan-based emulsions functionalized with cabreuva essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 160, 307-318.
- Lambert, R.L.W., Skandamis, P.N., Coote, P.J., & Nychas, G. J. E. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *The Journal of Applied Microbiology*, 91,453-462.
- Lavanya, D., Kulkarni, Parthasarathi., Dixit, Mudit., Raavi, P. K., & Krishna, L. N. V. (2011). Sources of cellulose and their applications-A review. *International Journal of Drug Formulation and Research*, 2, 19-38.
- Leonardi, A.J., Blakistone, B.A., & Kyryk, S.W. 1990. Applications of microscopy in the paper industry: Case histories of the Mead Corporation. *Food Structure* 9,203-213.
- Levi, M., Cortesi, S., Vezzoli, C., & Salvia, G. (2011). A comparative life cycle assessment of disposable and reusable packaging for the distribution of Italian fruit and vegetables. *Packaging Technology and Science* 24, 387-400.
- Lide, D.R. (ed.). (1993). *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. 73rd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press Inc. 3-308
- Lockhart, H., E. (1997). Paradigm for packaging. *Packaging Technology and Science*, 10(5), 237-252.
- López De Dicastillo, C., Rodríguez, F., Guarda, A., & Galotto, M. J. (2016). Antioxidant films based on cross-linked methyl cellulose and native Chilean berry for food packaging applications. *Carbohydrate polymers*. 136, 1052-1060.
- López-Gómez, A., Ros-Chumillas, M., Buendía-Moreno, L., & Martínez-Hernández, G. B. (2020). Active Cardboard Packaging with Encapsulated Essential Oils for Enhancing the Shelf Life of Fruit and Vegetables. *Frontiers in Nutrition*. 3(7), 559978.
- López-López, E., Peña Ortega, M. G., Colinas León, M. T. B., Díaz Cedillo, F., & Serrato Cruz, M. Á. (2018). Fungistasis of essential oil extracted from a *Tagetes lucida* population of Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(2), 329-341.

- Lu, T. J., Chen, C., & Zhu, G. (2001). Compressive behaviour of corrugated board panels. *Journal of Composite Materials*, 35(23), 2098-2126.
- Ma, X., & Moultrie, J. (2017). What stops designers from designing sustainable packaging? a review of eco-design tools with regard to packaging design, *Smart Innovation Systems and Technologies*. 68, 127-139.
- Madsen, B., & Gamstedt, E., K. (2013). Wood versus plant fibers: similarities and differences in composite applications. *Advances in Materials Science and Engineering*, 564346, 1-14.
- Mariani, C., Briandet, R., Chamba, J.F., Notz, E., Carnet-Pantiez, A., Eyoug, R.N., & Oulahal, N. (2007). Biofilm ecology of wooden shelves used in ripening the French raw milk smear cheese Reblochon de Savoie. *Journal of Dairy Science*. 90, 1653-1661.
- Marsh, K., & B, Bugusu. (2007). Food packaging - roles, materials, and environmental issues. *Journal of Food Science*, 72, (3), 39-55.
- Martínez-Sartorius, I. 2009. Cartón corrugado pruebas a producto terminado. Tesis de licenciatura. Instituto Politécnico Nacional. México, DF. 140 pp.
- Medronho, B., & Lindman, B. (2014). Brief overview on cellulose dissolution/regeneration interactions and mechanisms. *Advances in Colloid and Interface Science*, 222, 502-508.
- Misai, K., Anwar, A., & Saeed, G. (2010). Storage quality of irradiated and autoclaved meal prepared from mash bean (*Vigna mungo* L. Hepper). *Advances in Food Sciences*, 32(1), 7-10.
- Molaei, M., Azadfallah, M., Khodaeian Chegini, F., & Hamzeh, Y. (2015). Effect of Chitosan-Polyvinyl Alcohol Coatings with Nisin on Antibacterial Properties of Packaging Paper. *Forest and Wood Products*, 68(3), 491-502.
- Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., & Youngblood, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 40(7), 3941-3994.
- Munhuweyi, K., Lennox, C.L., Meitz-Hopkins, J.C., Caleb, O.J., & Opara, U.L. (2016). Major diseases of pomegranate (*Punica granatum* L.), their causes and management - A review. *Scientia Horticulturae*, 211, 126-139.

- Nassar, M.A. & Hassan, Y.R. (2013). Formulation and application of whey-protein based coatings for improved paperboard properties. *Egyptian Journal of Chemistry*. 56. 213-224.
- Navaranjan, H. R. M., & Johnson, B. (2006). Modelling and experimental study of creep behaviour of corrugated paperboard. In 60th Appita annual conference and exhibition, 43-50.
- Nilmini, R. K., Panapitiya, D., Abeywickrama, K., & Kuruppu, M. (2020). Morphological and molecular identification of fungal species associated with postharvest stem-end rot disease of avocado in Sri Lanka. *Sri Lanka Journal Online*, 6(1): 47-56.
- Nilsson, S., Sundelöf, L., & Porsch, B. (1995). On The Characterization principles of some technically important water soluble non-ionic cellulose derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 28, 215-265.
- Niu, B., Zhan, L., Shao, P., Xiang, N., Sun, P., Chen, H., & Gao, H. (2020). Electrospinning of zein-ethyl cellulose hybrid nanofibers with improved water resistance for food preservation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1(142), 592-599.
- Obianom, C., & Sivakumar, D. (2018). Differential response to combined prochloraz and thyme oil drench treatment in avocados against the control of anthracnose and stem-end rot. *Phytoparasitica* 6, 273-281.
- Oh, S. Y., Yoo, D. I., Shin, Y., Kim, H. C., Kim, H. Y., Chung, Y. S., Park, W. H., & Youk, J. H. (2005). Crystalline structure analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide by means of X-ray diffraction and FTIR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 340, 2376-2391.
- Opara, U. L., & Mditshwa, A. (2013). A review on the role of packaging in securing food system: Adding value to food products and reducing losses and waste. *African Journal of Agricultural Research*, 8(22), 2621-2630.
- Oussalah, M., Caillet, S., Salmieri, S., Saucier, L., & Lacroix, M. (2004). Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5598-5605.

- Pan, Y., Farmahini-Farahani, M., & O’Hearn, P. (2016). An overview of bio-based polymers for packaging materials. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 1(3): 106-113.
- Papadopoulou, V., Kosmidis, K., Vlachou, M., & Macheras, P. (2006). On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. *International Journal of Pharmaceutics*. 309, 44-50.
- Pastorelli, S., Sánchez-Silva, A., Cruz, J.; Simoneau, C. & Losada, P. (2008). Study of the migration of benzophenone from printed paperboard packages to cakes through different plastic films. *European Food Research and Technology*. 227(6): 1585-1590.
- Pathare, P. B., Berry, T. M., & Opara, U. L. (2016). Changes in moisture content and compression strength during storage of ventilated corrugated packaging used for handling apples. *Packaging Research*. 1(1), 1-6.
- Patrignani, F., Siroli L, Gardini, Fand., & Lanciotti, R. (2016). Contribution of Two Different Packaging Material to Microbial Contamination of Peaches: Implications in Their Microbiological Quality. *Frontiers in Microbiology*.7,938.
- Payen, A. (1839). *Comptes Rendus Chimie*, 8, 51.
- Perumal, A.B.; Sellamuthu, P.S.; Nambiar, R.B., & Sadiku, E. R. (2016). Antifungal activity of five different essential oils in vapour phase for the control of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Lasiodiplodia theobromae* *in vitro* and on mango. *International Journal of Food Science & Technology*. 51, 411-418.
- Peter, A., Cozmuta, L. M., Nicula, C., Cozmuta, A. M., Apjok, R., Talasman, C. M., & Silvi, S. (2022). Barrier properties, migration into the food simulants and antimicrobial activity of paper-based materials with functionalized surface. *Polymers and Polymer Composites*, 30, 09673911221106347.
- Peters, R., Groeneveld, I., Sanchez, P., Gebbink, W., Gersen, A., De Nijs, M., Van Leeuwen, S. P. J. (2019). Review of analytical approaches for the identification of non-intentionally added substances in paper and board food contact materials. *Trends Food Sci Technol*, 85,44-54.
- Pykönen, M., Sundqvist, H., Järnström, O. V., Kaukonen, M., Tuominen, J., Lahti, J., Peltonen, P., Fardim, M., & Toivakka, M. (2008), Effects of atmospheric plasma

activation on surface properties of pigment-coated and surface-sized papers. *Applied Surface Science*, 255, 3217.

- Raghavendra, G. M., Jung, J., Kim, D., & Seo, J. (2017). Effect of chitosan silver nanoparticle coating on functional properties of Korean traditional paper, *Progress in Organic Coatings*, 110, 16-23.
- Ramarao., B. V. & Chatterjee S. G. (2000). Moisture sorption response of paper subjected to ramp humidity changes: modelling and experiments,” *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 39(1), 219-226.
- Ramesh., M, Narendra, G., & Sasikanth, S. (2020). A Review on Biodegradable Packaging Materials in Extending the Shelf Life and Quality of Fresh Fruits and Vegetables. In: Ghosh, S. (eds) *Waste Management as Economic Industry Towards Circular Economy*. Springer, Singapore.
- Regnier, T., Combrinck, S., du Plooy, W., & Botha, B. (2010). Evaluation of *Lippia scaberrima* essential oil and some pure terpenoid constituents as postharvest mycobiocides for avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 57(3), 176-182.
- Rezaeinia, H., Ghorani, B., Emadzadeh, B., & Tucker, N. (2019). Electrohydrodynamic atomization of Balangu (*Lallemantia royleana*) seed gum for the fast-release of *Mentha longifolia* L. essential oil: Characterization of nano-capsules and modeling the kinetics of release, *Food Hydrocolloids*, 93, 374-385.
- Rezaei, A., Nasirpour, A., Tavanai, H., & Fathi, M. (2016). A study on the release kinetics and mechanisms of vanillin incorporated in almond gum/polyvinyl alcohol composite nanofibers in different aqueous food simulants and simulated saliva. *Flavour and Fragrance Journal*, 31(6), 442-447.
- Riley, A. (2012). Paper and paperboard packaging. *Packaging Technology*, Elsevier, 178-239.
- Ripolles-Avila, C., Hascoët., A.S. Ríos-Castillo, A.G. & Rodríguez-Jerez J. J. (2019). Hygienic properties exhibited by single-use wood and plastic packaging on the microbial stability for fish. *LWT - Food Science and Technology*, 113, 108309
- Risch, S.J. (2009). Food Packaging History and Innovations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 8089-8092.

- Robertson, G., (2006). Food Packaging Principles and Practices, second ed. Taylor & Francis, Boca Raton, Florida. E.U.A. 545 pp.
- Robertson, G.L. (2018) Definitions, Functions, Attributes and Environments of Food Packaging. In Reference Module in Food Science; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands.
- Rodríguez, T. F. (1997). Ingeniería en envase y embalaje. Limusa. México 235 p.
- Sahai, A.S., & Manocha, M.S. (2007). Chitinases of fungi and plants: their involvement in morphogenesis and host–parasite interaction. FEMS Microbiology Reviews, 11, 317-338.
- Saini, S., Kardam, S.K., Kadam, A.A., Kumar, V & Gaikwad, K. (2023). Ethylene gas scavenging properties of nano-silica isolated from rice straw and of its PVA-based formulation coated on duplex paperboard made from softwood and rice straw. Biomass Conversion and Biorefinery. 1-10.
- Sangroniz, A., Zhu, J. B., Tang, X., Exteberria, E. Y. X., & Chen, H. (2019). Packaging materials with desired mechanical and barrier properties and full chemical recyclability Nature Communications, 10, 1-7.
- Schmid, P. J., Maitz, S., Plank, N., Knaipp, E., Pölzl, S., & Kittinger, C. (2023). Fiber-based food packaging materials in view of bacterial growth and survival capacities. Frontiers in Microbiology. 14, 1099906.
- Scholte, R.P.M. (1995). Spoilage fungi in the industrial processing of food. Ch. 7 in Introduction to Food Borne Fungi, 4th ed., R.A. Samson, E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad, and O. Filtenborg (Ed.). Centraalbureau voor Schimmel cultures, Baarn
- Schuman, T., Wikström, M., & Rigdahl, Mikael. (2004). Dispersion coating with carboxylated and cross-linked styrene–butadiene latices: Effects of substrate and polymer characteristics on the properties of coated paperboard, Progress in Organic Coatings, 51(3), 228-237.
- Secretaria de Gobernación (SEGOB). (2023). Cartón, Gauta de celulosa, Bandas de fibras de celulosa; cortado a medida o forma, artículos de pulpa de papel.
- Selin, E., Svensson, K., Gravenfors, E., Giovanoulis, G., Iida, M., Oskarsson, A., & Lundqvist, J. (2021). Food contact materials: an effect-based evaluation of the presence of hazardous chemicals in paper and cardboard packaging. Food

Additives & Contaminants: Part A. Chem Anal Control Expo Risk Assess, (9):1594-1607.

- Shahzad, M., Tahir, A., Jehan, N., & Luqman, M. (2015). Impact of different packaging technologies on post-harvest losses of stone fruits in swat Pakistan. Pakistan Journal of Agricultural Research, 28(1).
- Shokri, J., & Adibki, K. (2013). Application of Cellulose and Cellulose Derivatives in Pharmaceutical Industries. InTech.
- Sivakumar, D., & Bautista-Baños, S. (2014). A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. Crop Protection, 64, 27-37.
- Singh, A., Das, S., Chaudhari, A. K., Soni, M., Yadav, A., Dwivedy, A. K., & Dubey, N. K. (2023). Laurus nobilis essential oil nanoemulsion-infused chitosan: A safe and effective antifungal agent for masticatory preservation. Plant Nano Biology, 5, 100043.
- Smithers-Pira. 2017. The Future of Global Packaging to 2022.
- Song X, Shi L, Liu S, Hou C, Zhu K, Cheng, Q., & Mei, L. (2022). Development of Microcapsule Bioactive Paper Loaded with Chinese Fir Essential Oil to Improve the Quality of Strawberries. Coatings, 12(2), 254.
- Soroka, W. (1999). Fundamentals of packaging technology. Institute of Packaging Professionals.
- Soroka, W. (2002). Fundamentals of Packaging Technology (3rd ed.). Institute of Packaging Professionals.
- Srivastava, V., Singh, S., & Das, D. (2022). Biodegradable Fibre-Based Composites as Alternative Materials for Sustainable Packaging Design. In: Scholz, S.G., Howlett, R.J., Setchi, R. (eds) Sustainable Design and Manufacturing. KES-SDM 2021. Smart Innovation, Systems and Technologies, vol 262. Springer, Singapore.
- Stenius, P., Gullichsen, J., & Paulapuro, H. (Eds.) (2000). Papermaking Science and Technology, Book 3. Forest Products Chemistry. Fapet Oy.
- Sturges, M., Kay, M., & Johansson, M. (2019). BioPackLCA-Closing the gap: Extending LCA to reflect the sustainability contributions of bio-based packaging.

- Šumiga, B., Šumiga, B., Ravnjak, D., & Boh, P., B. (2019). Antimicrobial paper coating containing microencapsulated *Cymbopogon citratus* oil. *Coating*, 9, 470
- Sydow, Z., & Bieńczyk, K. (2018). The overview on the use of natural fibers reinforced composites for food packaging. *Journal of Natural Fibers*. 16,1189-1200.
- Taain, D. A. (2005). Effect of the package kind and storage temperature on qualitative characteristics and storage behavior of date fruits cv. Barhi. *Basrah Journal for Date Palm Research*, 4(2). .
- Tangpao, T., Chung, H. H., & Sommano, S. R. (2018). Aromatic profiles of essential oils from five commonly used Thai basils. *Foods*, 7(11), 175.
- Thompson, J.; Slaughter, D.; Arpaia, M.L. (2013). Suspended Tray Package for Protecting Soft Fruit from Mechanical Damage. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 24, 71-75.
- Triantafyllou, V. I., Akrida-Demertzi, K., & Demertzis, P. G. (2007). A study on the migration of organic pollutants from recycled paperboard packaging materials to solid food matrices. *Food Chemistry*, 101(4), 1759-1768.
- Tsai, G. J., Wu, Z. Y., & Su, W. H. (2000). Antibacterial activity of a chito-oligosaccharide mixture prepared by cellulase digestion of shrimp chitosan and its application to milk preservation. *Journal of Food Protection*. 63, 747-752.
- Twede, D., Selke, E, M. S., Kamdem, P., & Shires, D. (2015). *Cartons, Crates and Corrugated Board*. 2° Edición. DEStech Publications de Lancaster, Pennsylvania, E.U.A. pp. 561.
- Uhlich, G. A., Cooke, P. H., & Solomon, E. B. (2006). Analyses of the red-dry-rough phenotype of an *Escherichia coli* O157:H7 strain and its role in biofilm. *Applied and Environment Microbiology*. 72(4), 2564-2572.
- Updegraff, D. M. (1969). Semimicro determination of cellulose in biological materials. *Analytical Biochemistry*, 32(3), 420-424.
- Urrunaga-Ormachea, M., del Carpio-Jiménez, C., Gutiérrez-Chaveza, R. G., & Tomaylla-Cruz, C. (2022). Propiedades fisicoquímicas, composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Citrus jambhiri* (Limón rugoso). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 88(3), 277-288.

- Vrabič Brodnjak U., & Tihole, K. (2020). Chitosan Solution Containing Zein and Essential Oil as Bio Based Coating on Packaging Paper. *Coatings*, 10(5), 497.
- Wang, S., & Jing, Y. (2016). Effects of a chitosan coating layer on the surface properties and barrier properties of kraft paper. *BioResources*, 11(1), 1868-1881.
- Wang, J., Gardner, D. J., Stark, N. M., Bousfield, D. W., & Taividi. Z. (2018). Moisture and oxygen barrier properties of cellulose nanomaterial-based films. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6, 49-70.
- Wang, Q., Chen, W., Zhu, W., McClements, DJ., Liu, X., & Liu, F. (2022). A review of multilayer and composite films and coatings for active biodegradable packaging. *NPJ Science of Food - Nature*, 6(1),18.
- Watanabe, K., Tabuchi, M., & Morinaga, Y. (1998). Structural Features and Properties of Bacterial Cellulose Produced in Agitated Culture. *Cellulose*. 5, 187-200.
- Wen, P.; Zhu, D.H.; Wu, H.; Zong, M.H.; Jing, Y.R.; Han, S.Y. (2016). Encapsulation of cinnamon essential oil in electrospun nanofibrous film for active food packaging. *Food Control*, 59, 366-376.
- Wicochea-Rodríguez, J. D., Chalier, P., Ruiz, T., & Gastaldi, E. (2019). Active food packaging based on biopolymers and aroma compounds: How to design and control the release. *Frontiers in chemistry*, 7, 398.
- Wilkins RM 1990. *Controlled Delivery of Crop Protection Agents*. Taylor and Francis, London.
- Yan J, Li M, Wang H, Lian X, Fan Y, Xie Z. (2020). Preparation and property studies of chitosan-PVA biodegradable antibacterial multilayer films doped with Cu₂O and nano-chitosan composites. *Food Control*. 126,108049.
- Younes, I., Sellimi, S., Rinaudo, M., Jellouli, K., & Nasri, M. (2014). Influence of acetylation degree and molecular weight of homogeneous chitosan's on antibacterial and antifungal activities. *International Journal of Food Microbiology*. 185, 57-63.
- Zhang, J., Guo, Z., Chen, S., Dong, H., Zhang, X., Qin, Y., & Xu, F. (2021). High-barrier, strong, and antibacterial paper fabricated by coating acetylated cellulose and cinnamaldehyde for food packaging. *Cellulose*, 28, 4371-4384.

- Zhang, R., Huang, L., Xiong, X., Qian, M. C., & Ji, H. (2020). Preparation and release mechanism of lavender oil microcapsules with different combinations of coating materials. *Flavour and fragrance journal*, 35(2), 157-166.
- Zugenmaier, P. (2008). In *Crystalline cellulose and derivatives: Characterization and structures*. Springer Series in Wood Science, Springer-Verlag, Berlin: 175-206.