

Microperforated-based modified atmosphere incorporated with vapors of oregano essential oil to preserve blackberry fruits in postharvest

Atmósfera modificada con microperforado incorporada con vapores de aceite esencial de orégano para preservar frutos de zarzamora en poscosecha

Angélica Martínez-López¹; Salvador Valle-Guadarrama^{1*}; Diana Guerra-Ramírez¹; Ma. de Lourdes Catalina Arevalo-Galarza²; Rosa Elvira Sánchez-Fernández³

¹Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, MÉXICO.

²Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco de Mora, Estado de México, C. P. 56230, MÉXICO.

³Universidad Autónoma Chapingo, Laboratorio Nacional de Investigación y Servicio Agroalimentario y Forestal (LANISAF). Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, MÉXICO.

*Corresponding author: svalleg@taurus.chapingo.mx

Abstract

Blackberry fruits have a shelf life of 3 d at ambient temperature, due to fungal development. Essential oils (Eo) can increase shelf life because of their antifungal potential. The objective was to evaluate the use of modified atmosphere packaging incorporated with vapors of an Eo to prolong shelf life of blackberry fruits. The methodology included the use of oregano Eo to inhibit fungi development. Eo was analyzed with gas chromatography-mass spectrometry. The minimum inhibitory concentration of Eo to inhibit fungi in blackberry fruits was determined *in vitro* and *in vivo*. The storage of blackberry fruits under modified atmosphere with vapors of oregano Eo was evaluated at ambient temperature. The compounds linalool, *o*-cymene, and thymol were identified as the main constituents of Eo. Based on fruits with fungal development, isolates were made in culture media and the presence of *Aspergillus carbonarius*, *Alternaria alternata*, and *Penicillium digitatum* was identified. A minimum inhibitory concentration of Eo in the head space of fruits was found with value of $0.8 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$. The handling of blackberry fruits in modified atmosphere with micro-perforation and exposition to volatilized Eo (MAP-Eo) reduced the rate of weight loss, the loss of consistency, and that of alteration of color attributes, which allowed maintaining a better appearance during 6-7 d at 23 °C. MAP-Eo kept the content of phenolic compounds and anthocyanins, as well as the antioxidant capacity, without significant changes. In conclusion, MAP-Eo is a useful alternative to extend shelf life of blackberry fruits.

Keywords: *Rubus fruticosus* L., *Origanum vulgare*, essential oil, fungal control, minimum inhibitory concentration.

Resumen

Los frutos de zarzamora tienen una vida de anaquel de tres días a temperatura ambiente debido al desarrollo de hongos. Los aceites esenciales (Ae) pueden prolongar esta etapa por su potencial antifúngico. El objetivo fue evaluar el uso de empaques de atmósfera modificada incorporados con vapores de un Ae para prolongar la vida de anaquel de frutos de zarzamora. La metodología incluyó el uso de Ae de orégano para inhibir el desarrollo de hongos. El Ae se analizó mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas. La concentración inhibitoria mínima del Ae para los hongos en frutos de zarzamora fue determinada tanto *in vitro* como *in vivo*. El almacenamiento de frutos de zarzamora en atmósfera modificada con vapores de Ae de orégano se evaluó a temperatura ambiente. Los compuestos linalol, *o*-cimeno y timol se identificaron como los componentes principales del Ae. A partir de frutos con desarrollo de hongos, se realizaron aislamientos en medios de cultivo y se identificó la presencia de *Aspergillus carbonarius*, *Alternaria alternata* y *Penicillium digitatum*. Se encontró que la concentración inhibitoria mínima es de $0.8 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ en el espacio de cabeza de los frutos. El manejo de frutos de zarzamora en atmósfera modificada con microperforado y exposición a vapores de Ae (EAM-Ae) redujo la tasa de pérdida de peso, la pérdida de consistencia y la alteración de los atributos del color, lo cual permitió mantener una mejor apariencia durante 6-7 días a 23 °C. La EAM-Ae mantuvo los compuestos fenólicos, las antocianinas y la capacidad antioxidante, sin cambios significativos. En conclusión, el EAM-Ae es una alternativa útil para prolongar la vida de anaquel de los frutos de zarzamora.

Palabras clave: *Rubus fruticosus* L., *Origanum vulgare*, aceite esencial, control de hongos, concentración inhibitoria mínima.

Please cite this article as follows (APA 6): Martínez-López, A., Valle-Guadarrama, S., Guerra-Ramírez, D., Arevalo-Galarza, M. L. C., & Sánchez-Fernández, R. E. (2023). Microperforated-based modified atmosphere incorporated with vapors of oregano essential oil to preserve blackberry fruits in postharvest. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 29(1), 53–71. doi: 10.5154/r.rchsh.2022.07.010



Revista Chapingo
Serie Horticultura

Introduction

Fungal development causes deterioration of horticultural crops in postharvest and limits shelf life (Legrand et al., 2021; Moncayo-Pérez et al., 2020). Fungi of genera including *Penicillium* (Kharchoufi et al., 2018), *Colletotrichum* (Shi et al., 2021), *Fusarium* (Medina-Romero, Roque-Flores, & Macías-Rubalcava, 2017), *Rhizopus* (Kong et al., 2019), and *Alternaria* (Li et al., 2021), are among main postharvest deterioration agents. Due to similar factors and phenomena such as dehydration, wrinkling, and aging, blackberry fruits (*Rubus* spp.) have shelf life of only 3 days at 25 °C and 7-8 days at 4 °C (Bersaneti, Prudencio, Mali, & Pedrine, 2021; Toscano-Ávila et al., 2020; Vilaplana, Guerrero, Guevara, & Valencia-Chamorro, 2020). On the other hand, many regions lack refrigeration or cooling systems (Frias-Moreno et al., 2019), so postharvest handling must focus on controlling deterioration factors, even without this infrastructure.

Essential oils (Eo) from different plant species have antimicrobial activity and have attracted attention to be part of disease control strategies in postharvest handling (Aguilar-Veloz, Calderón-Santoyo, Vázquez González, & Ragazzo-Sánchez, 2020). Eo are complex, natural, and volatile products, characterized by having a strong odor and being formed by aromatic plants as terpenes (monoterpenes, diterpenes, and sesquiterpenes) and other components such as alcohols, acids, esters, epoxides, aldehydes, ketones, amines, aromatic phenols, and sulfides (Rehman, Hanif, Mushtaq, & Al-Sadi, 2016; Pandey, Kumar, Singh, Tripathi, & Bajpai, 2017).

The use of Eo has been evaluated in the preservation of blackberry fruits through their incorporation in biopolymeric coatings (Potma da Silva, de Carvalho, Ayub, & Celano-Menezes, 2020; Shi et al., 2022). This form of use of Eo through biopolymers is one of the most common practices and currently seeks to improve release through strategies based on nanoemulsions, encapsulation, multilayer systems, and the production of nanofibers through electrospinning (Zhang, Jiang, Rhim, Cao, & Jiang, 2022). However, the controlled release of vapors of Eo in the headspace of products can induce a greater inhibitory effect (López-Gómez et al., 2021; Peretto et al., 2014; Reyes-Jurado, Cervantes-Rincón, Bach, López-Malo, & Palou, 2019), but this implies retaining the active compounds to ensure a certain concentration. In this sense, the use of Eo vapors can be used in conjunction with modified atmospheres (MAP) to promote the retention of these compounds in the head space (López-Gómez et al., 2021).

The fungal development that causes deterioration of blackberry fruits can include species as *Botrytis* spp.,

Introducción

El desarrollo de hongos causa el deterioro de los cultivos hortícolas en poscosecha y limita la vida de anaquel (Legrand et al., 2021; Moncayo-Pérez et al., 2020). Los hongos de géneros como *Penicillium* (Kharchoufi et al., 2018), *Colletotrichum* (Shi et al., 2021), *Fusarium* (Medina-Romero, Roque-Flores, & Macías-Rubalcava, 2017), *Rhizopus* (Kong et al., 2019) y *Alternaria* (Li et al., 2021) se encuentran entre los principales agentes de deterioro en poscosecha. Debido a factores similares y a fenómenos como la deshidratación, el marchitamiento y el envejecimiento, los frutos de zarzamora (*Rubus* spp.) tienen una vida útil de 3 días a 25 °C y de 7-8 días a 4 °C (Bersaneti, Prudencio, Mali, & Pedrine-Colabone, 2021; Toscano-Ávila et al., 2020; Vilaplana, Guerrero, Guevara, & Valencia-Chamorro, 2020). Por otro lado, muchas regiones carecen de sistemas de refrigeración o enfriamiento (Frias-Moreno et al., 2019), por lo que el manejo poscosecha se debe enfocar en controlar los factores de deterioro, incluso si no se cuenta con infraestructura de ese tipo.

Los aceites esenciales (Ae) de diferentes especies vegetales tienen actividad antimicrobiana y han despertado interés como una estrategia de control de enfermedades en el manejo poscosecha (Aguilar-Veloz, Calderón-Santoyo, Vázquez-González, & Ragazzo-Sánchez, 2020). Los Ae son productos complejos, naturales y volátiles, caracterizados por tener un olor fuerte y ser producidos por plantas aromáticas en forma de terpenos (monoterpenos, diterpenos y sesquiterpenos) y otros componentes como alcoholes, ácidos, ésteres, epóxidos, aldehídos, cetonas, aminas, fenoles aromáticos y sulfuros (Rehman, Hanif, Mushtaq, & Al-Sadi, 2016; Pandey, Kumar, Singh, Tripathi, & Bajpai, 2017).

El uso de Ae ha sido evaluado en la conservación de frutos de zarzamoras mediante su incorporación en recubrimientos biopoliméricos (Potma da Silva, de Carvalho, Ayub, & Celano-Menezes, 2020; Shi et al., 2022). Esta forma de emplear los Ae es una de las prácticas más comunes, y actualmente se busca mejorar su liberación a través de estrategias basadas en nanoemulsiones, encapsulación, sistemas multicapa y la producción de nanofibras mediante electrohilado (Zhang, Jiang, Rhim, Cao, & Jiang, 2022). Sin embargo, la liberación controlada de vapores de Ae en el espacio de cabeza de los productos puede inducir un mayor efecto inhibidor (López-Gómez et al., 2021; Peretto et al., 2014; Reyes-Jurado, Cervantes-Rincón, Bach, López-Malo, & Palou, 2019), pero esto implica retener los compuestos activos para asegurar una concentración determinada. En este sentido, el uso de vapores de Ae se puede emplear en conjunto con atmósferas modificadas (EAM) para favorecer la retención de estos compuestos en el espacio de cabeza (López-Gómez et al., 2021).

Colletotrichum spp., and *Aspergillus* spp. (Cosseboom, Schnabel, & Hu, 2020; Liu et al., 2019; Uribe-Gutiérrez, Moreno-Velandia, & Villamizar, 2022), so the antimicrobial agent must control different type of microorganisms. Shi et al. (2022) demonstrated that the use of Eo of oregano applied with polylactic acid/polycaprolactone electro spin nanofibers caused an antimicrobial effect that delayed postharvest decay, deterioration, and storage quality loss in blackberry fruits.

Oregano (*Origanum vulgare*) is a culinary herb that produces an Eo where compounds with high antimicrobial potential as *p*-cymene, terpinene-4-ol, carvacrol, and thymol have been identified (Tapiero, Salamanca, & Marín, 2019). Based on this, the objective of the work was to evaluate the use of modified atmosphere packaging incorporated with vapors of Eo of oregano to prolong shelf life of blackberry fruits.

Materials and methods

General organization

Two stages were conducted. First, fungal species that caused deterioration of blackberry fruits were identified and the minimum inhibitory concentration of oregano Eo to prevent fungi rot was determined. Second, the storage of blackberry fruits under modified atmosphere with vapors of Eo of oregano was evaluated.

Identification of essential oil components by GC-MS

Oregano (*Origanum vulgare*) Eo was provided by Química Laitz S.A. de C.V. (México). Eo was analyzed with a gas chromatograph (GC) (Agilent 7890B, Agilent Technologies, USA), coupled to a mass selective detector (MS) (Agilent 5977A, Agilent Technologies, USA), which used helium as carrier gas with flow of 1 mL·min⁻¹. The compounds were separated on a capillary column (DB-WAX Ultra Inert, Agilent Technologies, USA; 60 m × 250 µm × 0.25 µm), with oven at 40 °C during 1 min and heating up to 220 °C during 2 min at 9 °C·min⁻¹. The MS used electron ionization energy of 70 eV, scanning range of 30-550 uma, scan rate of 13.8 spectra·s⁻¹, ionization chamber temperature of 200 °C, and transfer line temperature of 250 °C. Sample handling consisted of filtering through a 45 µm PTFE microfilter, dissolving 200 µL of Eo in 800 µL of HPLC-grade hexane, and injecting 1 µL into the GC inlet at 220 °C in split mode (10:1). Data were processed with the MassHunter Workstation software (Agilent Technologies, USA). Compounds were identified based on their mass spectra fragmentation patterns with the spectral database of the National Institute of Standards and Technology (NIST) and by comparing their Kovats indexes relative to the retention times of a

El desarrollo fúngico que causa el deterioro de los frutos de zarzamora puede incluir especies como *Botrytis* spp., *Colletotrichum* spp. y *Aspergillus* spp. (Cosseboom, Schnabel, & Hu, 2020; Liu et al., 2019; Uribe-Gutiérrez, Moreno-Velandia, & Villamizar, 2022), por lo que el agente antimicrobiano debe controlar diferentes tipos de microorganismos. Shi et al. (2022) demostraron que el uso de Ae de orégano aplicado con nanofibras electrohiladas de ácido poliláctico/policaprolactona produjo un efecto antimicrobiano que retrasó la degradación poscosecha, el deterioro y la pérdida de calidad en el almacenamiento de frutos de zarzamora.

El orégano (*Origanum vulgare*) es una hierba culinaria que produce un Ae en el que se han identificado compuestos con alto potencial antimicrobiano como *p*-cimeno, terpinen-4-ol, carvacrol y timol (Tapiero, Salamanca, & Marín, 2019). Considerando lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el uso de envases de atmósfera modificada incorporados con vapores de Ae de orégano para prolongar la vida de anaquel de frutos de zarzamora.

Materiales y métodos

Organización general

Se llevaron a cabo dos etapas. En primer lugar, se identificaron las especies de hongos causantes del deterioro de los frutos de zarzamora y se determinó la concentración inhibitoria mínima del Ae de orégano para evitar la pudrición por hongos. En segundo lugar, se evaluó el almacenamiento de frutos de zarzamora en atmósfera modificada con vapores de Ae de orégano.

Identificación de componentes del aceite esencial mediante CG-EM

El Ae de orégano (*Origanum vulgare*) fue facilitado por Química Laitz S.A. de C.V. (México). El Ae se analizó en un cromatógrafo de gases (CG) (Agilent 7890B, Agilent Technologies, EUA), acoplado a un detector selectivo de masas (EM) (Agilent 5977A, Agilent Technologies, EUA), el cual empleó helio como gas transportador con flujo de 1 mL·min⁻¹. Los compuestos se separaron en columna capilar (DB-WAX Ultra Inert, Agilent Technologies, EUA; 60 m × 250 µm × 0.25 µm), con un horno a 40 °C durante 1 min y calentamiento hasta 220 °C durante 2 min a 9 °C·min⁻¹. El EM utilizó una energía de ionización de electrones de 70 eV, rango de barrido de 30 a 550 uma, tasa de barrido de 13.8 espectro·s⁻¹, temperatura de la cámara de ionización de 200 °C y temperatura de línea de transferencia de 250 °C. Para el manejo de las muestras, el Ae se pasó por un microfiltro PTFE de 45 µm, se disolvieron 200 µL del Ae filtrado en 800 µL de hexano grado HPLC y se inyectó 1 µL en la entrada del CG a 220 °C en modo

series of alkanes (C_7 – C_{40}) using the calculator described by Lucero, Estell, Tellez, and Fredrickson (2009). The relative quantities of each compound were expressed as percentage of area.

Inhibitory effect of essential oil

Blackberry fruits (*Rubus fruticosus* L.) variety Cheyenne, collected at commercial maturity in San Juan Tezontla, Texcoco de Mora, Mexico ($19^\circ 32' 04''$ N and $98^\circ 47' 17''$ W, at 2476 m a. s. l.) were used. The region experiments average maximum temperatures of $22.62 \pm 1.97^\circ\text{C}$, average minimum temperatures of $10.25 \pm 2.70^\circ\text{C}$, and average precipitation of 34.42 ± 30.74 mm. In addition, the soil presents characteristics of clayey sediments (Moreno-Sánchez, 2007).

Fruits were stored at 30°C until a fungal development was observed. Fruits were submerged in sterile distilled water for 5 min with gentle agitation to form a culture broth. Fungi were isolated in potato-dextrose-agar (PDA) culture media and observed with an optical microscope to identify the species present. The methodology described by Aguilar-González, Palou, and López-Malo (2015) was used to determine a minimum inhibitory concentration (MIC) *in vitro* and *in vivo*. PDA culture media were prepared in petri dishes and oregano Eo was incorporated in concentrations of 0.1, 0.2, 0.3, and $0.4 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$. Plates were inoculated with the culture broth, they were incubated at 35°C , and radial mycelial growth was measured with a digital vernier scale for 5 d. Thereafter, blackberry fruits were inoculated at three points on the external surface with a bacteriological loop and placed in 400 mL airtight jars. Sterile cottons containing Eo in quantity to produce concentrations in the range from 0.2 to $0.8 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ were placed inside. Units were placed at 30°C for 5 d and the percentage of damage was quantified.

Handling of fruits in modified atmosphere

Experimental units were formed with polyethylene terephthalate cylindrical recipients with volume of 400 mL and contained batches of 180 ± 2 g of fruits. Units were stored in an isolated room at $23 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and 62 % relative humidity for 7 d under two conditions. One consisted of handling in natural air (control), with containers without lids. The other was formed with closed recipients having three perforations of 100 μm in their lids and containing a cotton impregnated with Eo at $0.8 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ relative the container volume (treatment; MAP-Eo). Three units from each treatment were withdrawn daily to evaluate accumulated weight loss, color, firmness, appearance, pH, antioxidant capacity, and contents of total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), total soluble phenols (TSP), and anthocyanins.

split (10:1). Los datos se procesaron con el programa *MassHunter Workstation* (Agilent Technologies, EUA). Los compuestos se identificaron mediante sus patrones de fragmentación de masa con la base de datos del *National Institute of Standards and Technology* (NIST) y al comparar sus índices de Kovats con los tiempos de retención de una serie de alcanos (C_7 – C_{40}) usando la calculadora descrita por Lucero, Estell, Tellez, y Fredrickson (2009). Las cantidades relativas de cada compuesto se expresaron como porcentaje de área.

Efecto inhibidor del aceite esencial

Se utilizaron frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.) variedad Cheyenne, recolectados en madurez comercial en San Juan Tezontla, Texcoco de Mora, México ($19^\circ 32' 04''$ LN y $98^\circ 47' 17''$ O, a 2,476 m s. n. m.). La región presenta una temperatura máxima promedio de $22.62 \pm 1.97^\circ\text{C}$, mínima promedio de $10.25 \pm 2.70^\circ\text{C}$ y precipitación media de 34.42 ± 30.74 mm, mientras que el suelo tiene características de sedimentos arcillosos (Moreno-Sánchez, 2007).

Los frutos se almacenaron a 30°C hasta que se observó desarrollo fúngico. Los frutos se sumergieron en agua destilada estéril durante 5 min con agitación suave para formar un caldo de cultivo. Los hongos se aislaron en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) y se observaron en un microscopio óptico para identificar las especies presentes. Se utilizó la metodología descrita por Aguilar-González, Palou, y López-Malo (2015) para determinar una concentración inhibitoria mínima (CIM) *in vitro* e *in vivo*. Se prepararon medios de cultivo PDA en placas de Petri y se incorporó Ae de orégano en concentraciones de 0.1, 0.2, 0.3 y $0.4 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$. Se inocularon las placas con el caldo de cultivo, se incubaron a 35°C y se midió el crecimiento radial del micelio con un vernier digital durante 5 días. Posteriormente, se inocularon frutos de zarzamora en tres puntos de la superficie externa con un asa bacteriológica y se colocaron en frascos herméticos de 400 mL. En su interior, se colocaron algodones estériles que contenían Ae en cantidad suficiente para producir concentraciones de vapor en el intervalo de 0.2 a $0.8 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$. Los recipientes se colocaron a 30°C durante 5 días y se cuantificó el porcentaje de daño.

Manejo de los frutos en atmósfera modificada

Las unidades experimentales consistieron en recipientes cilíndricos de tereftalato de polietileno de 400 mL que contenían lotes de 180 ± 2 g de frutos. Las unidades se almacenaron en un cuarto aislado a $23 \pm 0.5^\circ\text{C}$ y 62 % de humedad relativa durante 7 días bajo dos condiciones; una de ellas implicó el manejo en aire natural (testigo), con los contenedores sin tapa. La otra consistió en recipientes cerrados con tres perforaciones de 100 μm en sus tapas y algodón impregnado con $0.8 \mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ de

Parameters evaluated

Experimental units were weighted with a digital scale (Ohaus®, USA) at the beginning and at the time of removal from storage. Based on the difference, the cumulative weight loss was calculated. Color was measured on the surface of fruits with a colorimeter (MiniScan XE® Plus, Hunter Associates Laboratory, USA) and was expressed as lightness (L^*), hue angle (H^* , degrees), and chroma (C^*) (Sant'Anna, Gurak, Ferreira, & Tessaro, 2013). Firmness was determined with a texture analyzer equipment (TA-TX2i, Stable Micro Systems, UK), using a 5 mm spherical probe that compressed fruits until a deformation of 2 mm at a speed of $2 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$. Results were expressed in Newton (N) as the average of five determinations. The fruit appearance was evaluated by three untrained judges, through a categorical scale of five points, defined as “very good” (5), “good” (4), “regular” (3), “bad” (2), and “very bad” (1). TSS content was evaluated in °Brix with a manual refractometer (Alla France®, USA) in juice obtained through the maceration of five fruits (AOAC, 1990). TA (% citric acid) and pH were evaluated through titration with NaOH 0.03 N and a potentiometer (Conductronic, USA), respectively, in juice obtained from 20 g of fruits ground with 50 mL of distilled water.

Contents of TSP and anthocyanins, and antioxidant capacity were evaluated in extracts obtained with the method described by Hernández-Rodríguez et al. (2016). Samples of 1 g of fruits were mixed with methanol 80 % (v/v) at 1:20 (w:v) ratio and the pH was adjusted to 3.0 with HCl (10 %). Agitation in Vortemp® 56 equipment (ThermoFisher Scientific, USA) was applied at 1,000 rpm for 3 min, sonication for 15 min, and agitation at 150 rpm and 30 °C during 30 min. The mixture was centrifuged in equipment Hettich Zentrifugen (Germany) at 2,200 g for 15 min. The supernatant was recovered and calibrated to a final volume of 10 mL with methanol 80 %. The extracts of each treatment were processed in triplicate.

TSP were quantified using the Folin-Ciocalteu (FC) reagent method (Singleton & Rossi, 1965) adapted to a spectrophotometer with a microplate reader (Synergy™ HTX, BioTek Instruments, USA). Twenty-five microliters of the diluted extract (1.5:1, v/v) were mixed with methanol 80 % and 125 µL of distilled water, 20 µL of FC reagent diluted with distilled water (1:10, v/v), and 30 µL of 20 % Na_2CO_3 . The mixture was shaken and left to stand for 30 min in dark. Absorbance at 760 nm was measured and TSP were quantified with the aid of a gallic acid standard curve in the range of 2.5-29.0 µg·mL⁻¹. Results were expressed as milligrams equivalent of gallic acid per 100 g of sample on a fresh basis (mg·100 g⁻¹). All samples were analyzed in triplicate.

Ae, relativo al volumen del contenedor (tratamiento; EAM-Ae). Tres unidades de cada tratamiento se retiraron diariamente para evaluar la pérdida de peso acumulada, el color, la firmeza, la apariencia, el pH, la capacidad antioxidante, y los contenidos de sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), fenoles solubles totales (FST) y antocianinas.

Parámetros evaluados

Las unidades experimentales se pesaron en una báscula digital (Ohaus®, EUA) al principio y al momento de retirarlas del almacenamiento. La diferencia se empleó para calcular la pérdida acumulada de peso. El color se midió sobre la superficie de los frutos con un colorímetro (MiniScan XE® Plus, Hunter Associates Laboratory, EUA) y se expresó como luminosidad (L^*), tonalidad o ángulo de tono (H^* , grados) y cromaticidad (C^*) (Sant'Anna, Gurak, Ferreira, & Tessaro, 2013). La firmeza se determinó con un analizador de textura (TA-TX2i, Stable Micro Systems, Reino Unido), para lo cual se empleó una sonda esférica de 5 mm que comprimió los frutos hasta una deformación de 2 mm a una velocidad de $2 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$. Los resultados se expresaron en Newtons (N) como el promedio de cinco mediciones. La apariencia de los frutos la evaluaron tres jueces no entrenados a través de una escala categórica de cinco puntos: “muy buena” (5), “buena” (4), “regular” (3), “mala” (2) y “muy mala” (1). El contenido de SST se obtuvo en °Brix con un refractómetro manual (Alla France®, EUA) con el jugo obtenido a partir de la maceración de cinco frutos (AOAC, 1990). La AT (% de ácido cítrico) y el pH se determinaron mediante titulación con NaOH 0.13 N y un potenciómetro (Conductronic, EUA), respectivamente, en el jugo obtenido de 20 g de frutos triturados con 50 mL de agua destilada.

El contenido de FST y antocianinas, así como la capacidad antioxidante, se evaluaron en extractos obtenidos por el método descrito por Hernández-Rodríguez et al. (2016). Se mezclaron muestras de 1 g de frutos con metanol al 80 % (v/v) en proporción 1:20 (p:v), y se ajustó el pH a 3 con HCl (10 %). La mezcla se agitó (Vortemp® 56, ThermoFisher Scientific, EUA) a 1,000 rpm durante 3 min, se sonicó durante 15 min, se agitó a 150 rpm durante 30 min a 30 °C y se centrifugó (Hettich Zentrifugen, Alemania) a 2,200 g durante 15 min. El sobrenadante se recuperó y se aforó a 10 mL con metanol al 80 %. Los extractos de cada tratamiento se procesaron por triplicado.

Los FST se cuantificaron por el método del reactivo de Folin-Ciocalteu (FC) (Singleton & Rossi, 1965) adaptado a un espectrofotómetro con lector de microplacas (Synergy™ HTX, BioTek Instruments, EUA). Se mezclaron 25 µL del extracto diluido (1.5:1, v/v) con metanol al 80 % más 125 µL de agua destilada, 20 µL del reactivo FC diluido con agua destilada (1:10, v/v) y 30 µL

Total anthocyanin content was evaluated with the pH differential spectrophotometric protocol described by Lee, Robert, and Wrolstad (2005). An aliquot of 100 μL of the extract was mixed with 900 μL of buffer pH 1 (0.025 M KCl). The absorbance of the mixture was measured at 510 and 700 nm in a spectrophotometer (SynergyTM HTX, USA). Another aliquot of the extract (100 μL) was mixed with 900 μL of a 4.5-pH buffer and absorbance was measured at the same wavelengths. The anthocyanin content was determined as: $Ant = (A M / 0.38 \epsilon)$, where M is molecular weight of cyanidin-3-O-glucoside (449.2 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$), ϵ is the molar extinction coefficient of this compound (26,900 $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), the constant 0.38 is the path length of the light beam, and A was obtained as: $A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4.5}$. Results were expressed as mg equivalent of cyanidin-3-O-glucoside per 100 g of fresh sample ($\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$).

The antioxidant capacity was determined with the ABTS (2,2'-azino-bis [3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid] (Re et al., 1999) assay and the FRAP (ferric reducing antioxidant power) (Benzie & Strain, 1996) assay. The ABTS⁺ free radical was generated through the reaction between solutions of ABTS (7.4 mM) and sodium persulfate (2.6 mM), which were mixed at a 1:1 (v/v) ratio and protected from light for 16 h. An aliquot of 600 μL of the mixture was made up to 10 mL with methanol. An aliquot of 20 μL of the standard or the extract under study was mixed with 180 μL of the ABTS⁺ solution. A spectrophotometer (SynergyTM HTX, USA) was used to evaluate the decrease of absorbance at 734 nm. A Trolox calibration curve was prepared in the range of 4.99 to 59.93 μM . Results were expressed as micromoles equivalent of Trolox per gram of sample on a fresh basis ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$). In the second assay, the FRAP reagent was prepared by mixing acetate buffer (300 mM, pH 3.6), 10 mM TPTZ solution in 40mM HCl, and 20mM $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ solution, at a ratio of 10:1:1, respectively. An aliquot of 20 μL of the extract was mixed with 180 μL of FRAP reagent and 60 μL of distilled water. Absorbance was measured at 595 nm. Antioxidant activity was quantified with the aid of a Trolox calibration curve in the range of 3.8 to 46 μM . Results were expressed as micromoles equivalent of Trolox per gram of fresh sample ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$). All evaluations were done in triplicate.

Experimental design and data analysis

The MIC determination was conducted as a completely randomized design, where the oil concentration was the variation factor. The fruit postharvest evaluation was conducted based on a factorial arrangement, where treatments (control and MAP-Eo) and time were considered as variation factors. Analyses of variance were performed together with treatment mean comparison routines applied with the Tukey's test ($P \leq 0.05$).

de Na_2CO_3 al 20 %. La mezcla se agitó y se dejó reposar durante 30 min en oscuridad. Se midió la absorbancia a 760 nm y se cuantificaron los FST con ayuda de una curva patrón de ácido gálico en el intervalo de 2.5 a 29.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra en base fresca ($\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$). Todas las muestras se analizaron por triplicado.

El contenido total de antocianinas se evaluó con el protocolo espectrofotométrico de pH diferencial descrito por Lee, Robert, y Wrolstad (2005). Se mezcló una alícuota de 100 μL del extracto con 900 μL de amortiguador pH 1 (0.025 M de KCl). La absorbancia de la mezcla se midió a 510 y 700 nm en un espectrofotómetro (SynergyTM HTX, EUA). Otra alícuota del extracto (100 μL) se mezcló con 900 μL de un amortiguador pH 4.5 y la absorbancia se midió en las mismas longitudes de onda. El contenido de antocianinas se determinó como: $Ant = (A M / 0.38 \epsilon)$, donde M es el peso molecular de la cianidina-3-O-glucósido (449.2 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$), ϵ es el coeficiente de extinción molecular de este compuesto (26,900 $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), 0.38 es la constante de la longitud de recorrido del haz de luz y A se obtuvo como $A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4.5}$. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de cianidina-3-O-glucósido por 100 g de muestra fresca ($\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$).

La capacidad antioxidante se determinó con el ensayo ABTS (ácido 2,2'-azino-bis [3-etilbenzotiazol-6-sulfónico]) (Re et al., 1999) y el ensayo FRAP (poder reductor de antioxidantes férrico) (Benzie & Strain, 1996). El radical libre ABTS⁺ se generó mediante la reacción entre soluciones de ABTS (7.4 mM) y persulfato de sodio (2.6 mM), las cuales se mezclaron en una relación 1:1 (v/v) y se protegieron de la luz durante 16 h. Una alícuota de 600 μL de la mezcla se homogeneizó hasta 10 mL con metanol. Una alícuota de 20 μL de extracto bajo estudio se mezcló con 180 μL de la solución ABTS⁺. Para evaluar la disminución de la absorbancia a 734 nm, se empleó un espectrofotómetro (SynergyTM HTX, EUA). Se preparó una curva de calibración Trolox en el rango de 4.99 a 59.93 μM . Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base fresca ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$). En el segundo ensayo, el reactivo FRAP se preparó con amortiguador de acetato (300 mM a pH 3.6), 10 mM de solución TPTZ en 40 mM de HCl y 20 mM de solución $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$, en una relación de 10:1:1, respectivamente. Una alícuota de 20 μL del extracto se mezcló con 180 μL del reactivo FRAP y 60 μL de agua destilada. La absorbancia se midió a 595 nm. La actividad antioxidante se cuantificó con la ayuda de una curva de calibración Trolox en el rango de 3.8 a 46 μM . Los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra fresca ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$). Todas las evaluaciones se hicieron por triplicado.

Results and discussion

Oregano essential oil analysis

Twenty-two compounds were identified in the Eo, mainly monoterpene hydrocarbons and oxygenated monoterpenes. The most abundant were linalool (24.27 %), *o*-cymene (14.08 %), and thymol (15.14 %) (Table 1). In this regard, Tapiero et al. (2019) found *p*-cymene and terpinene-4-ol among the main components of oregano Eo, in addition to carvacrol and thymol.

Minimum inhibitory concentration

Blackberry fruits placed at 30 °C showed growth of three species of fungi: *Alternaria alternata*, *Aspergillus carbonarius*, and *Penicillium digitatum*. This coincided in part with information published before, since it

Diseño experimental y análisis de datos

La determinación de la CIM se llevó a cabo mediante un diseño completamente aleatorizado, en el que la concentración del aceite fue el factor de variación. La evaluación poscosecha de los frutos se realizó a partir de un diseño factorial, en el que los tratamientos (testigo y EAM-Ae) y el tiempo se consideraron factores de variación. Se realizaron análisis de varianza y comparación de medias de tratamientos con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Resultados y discusión

Análisis del aceite esencial de orégano

Se identificaron 22 compuestos en el Ae, principalmente monoterpenos hidrocarbonados y monoterpenos oxigenados. Los más abundantes fueron

Table 1. Chemical composition of oregano essential oil.

Cuadro 1. Composición química del aceite esencial de orégano.

Peak/ Pico	Name /Nombre	MF /FM	MW /PM	RI _{exp}	RI _{lit}	Area (%) / Área (%)
1	α -Thujene	C ₁₀ H ₁₆	136.1	1012.3	1017	0.99
2	Camphene /Canfeno	C ₁₀ H ₁₆	136.1	1061.6	1068.5	0.70
3	β -Myrcene / β -Mirceno	C ₁₀ H ₁₆	136.1	1153.9	1160.9	1.74
4	α -Phellandrene / α -Felandreno	C ₁₀ H ₁₆	136.1	1162.5	1167.7	0.19
5	α -Terpinene / α -Terpineno	C ₁₀ H ₁₆	136.1	1178.1	1177.8	2.08
6	Limonene /Limoneno	C ₁₀ H ₁₆	136.1	1196.2	1198.2	1.25
7	Eucalyptol /Eucaliptol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.1	1214.8	1211.1	0.50
8	γ -Terpinene / γ -Terpineno	C ₁₀ H ₁₆	136.1	1247.0	1245	5.06
9	<i>o</i> -Cymene / <i>o</i> -Cimeno	C ₁₀ H ₁₄	134.1	1275.2	1268	14.08
10	Isoterpinolene /Isoterpinoleno	C ₁₀ H ₁₆	136.1	1283.6	1286	0.77
11	3-octanol	C ₈ H ₁₈ O	130.1	1381.2	1383	0.20
12	Linalool /Linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.1	1543.4	1543.3	24.27
13	<i>o</i> -Methylthymol / <i>o</i> -Metiltimol	C ₁₁ H ₁₆ O	164.1	1602.6	1597	0.12
14	Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.1	1611.8	1616	1.44
15	Caryophyllene /Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	204.2	1618.9	1617	2.77
16	α -Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.1	1709.3	1706	4.46
17	Unknown 1 /Desconocido 1		220.2	1727.2		1.51
18	Geranyl acetate /Acetato de geraldino	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196.1	1765.6	1763	0.38
19	Thymol acetate /Acetato de timol	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	192.1	1855.1	1845	4.60
20	Unknown 2 /Desconocido 2		207.1	1938.6		4.74
21	2,3,5,6-Tetramethylphenol / 2,3,5,6-Tetrametilfenol	C ₁₀ H ₁₄ O	150.2	1953.1		10.44
22	Thymol /Timol	C ₁₀ H ₁₄ O	150.1	2146.0	2151	15.14

MF = molecular formula; MW = molecular weight; RI_{exp} = Kovats index calculated from retention time data on a DB-WAX capillary column; RI_{lit} = Kovats index from literature (NIST). Minor peaks were omitted since the similarity with database was below of 70 %. (–) The Kovats index was not reported on a DB-WAX column.

FM = fórmula molecular; PM = peso molecular; RI_{exp} = índice de Kovats calculado a partir de los datos del tiempo de retención en la columna de capilaridad DB-WAX; RI_{lit} = índice de Kovats de la literatura (NIST). Los picos menores se omitieron debido a que su similitud con la base de datos fue menor a 70 %. (–) El índice de Kovats no se reportó en la columna DB-WAX.

has been reported that the postharvest damage of blackberries can occur through the development of fungi such as *Botrytis* spp., *Colletotrichum* spp., and *Aspergillus* spp. (Cosseboom et al., 2020; Junqueira-Gonçalves, Alarcón, & Niranjana, 2016; Liu et al., 2019; Uribe-Gutiérrez et al., 2022).

The incubation of PDA culture media incorporated with Eo and inoculated with the fungal species showed that the growths of *A. alternata* and *P. digitatum* were completely inhibited at Eo concentration of 0.2 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ during *in vitro* evaluations, while *A. carbonarius* required the use of 0.4 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Table 2). On the other hand, the exposure of inoculated blackberry fruits to volatilized Eo at 0.2, 0.4, 0.6, and 0.8 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ showed that the higher the concentration the higher the inhibition. However, such *in vivo* evaluations showed that a complete absence of fungal development was observed only with the highest value (Table 2), thus the concentration of 0.8 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ was considered as the MIC. These facts indicated that the use of Eo vapors constituted a feasible strategy that did not require a vehicle for the Eo, such as a biopolymeric coating.

Potma da Silva et al. (2020) used biopolymeric coatings to preserve blackberry fruits, by incorporating Eo from lemongrass in the form of nanoparticles in microfibrillated cellulose. A similar strategy was used by Shi et al. (2022), with Eo of oregano applied on blackberry fruits through polylactic acid/polycaprolactone electro spin nanofibers. However, although in these works a lengthening of the shelf life was achieved, the procedure required greater processing of Eo, which can difficult a practical

linalol (24.27 %), *o*-cimenol (14.08 %) y timol (15.14 %) (Cuadro 1). Tapiero et al. (2019) encontraron *p*-cimenol y terpinen-4-ol entre los componentes principales del Ae de orégano, además de carvacrol y timol.

Concentración inhibitoria mínima

Los frutos de zarzamora colocados a 30 °C presentaron crecimiento de tres especies de hongos: *Alternaria alternata*, *Aspergillus carbonarius* y *Penicillium digitatum*. Esto coincidió, parcialmente, con información publicada anteriormente, ya que se ha reportado que el daño poscosecha en zarzamoras puede ocurrir por el desarrollo de hongos como *Botrytis* spp., *Colletotrichum* spp. y *Aspergillus* spp. (Cosseboom et al., 2020; Junqueira-Gonçalves, Alarcón, & Niranjana, 2016; Liu et al., 2019; Uribe-Gutiérrez et al., 2022).

La incubación de medios de cultivo PDA incorporados con Ae e inoculados con las especies fúngicas mostró que los crecimientos de *A. alternata* y *P. digitatum* fueron inhibidos completamente a una concentración de Ae de 0.2 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ durante las evaluaciones *in vitro*, mientras que *A. carbonarius* requirió 0.4 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Cuadro 2). Por otra parte, la exposición de frutos de zarzamora inoculados a Ae volatilizado a 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ mostró que a mayor concentración se tuvo mayor inhibición. Sin embargo, en dichas evaluaciones *in vivo* sólo se observó una ausencia completa de desarrollo fúngico con el valor más alto (Cuadro 2), por lo que 0.8 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ se consideró la CIM. Estos hechos indican que el uso de vapores de Ae constituye una estrategia factible que no requiere un vehículo para el Ae, como un recubrimiento biopolimérico.

Table 2. *In vitro* and *in vivo* inhibitory effect of essential oil of oregano after five days of inoculation. Cuadro 2. Efecto inhibitorio *in vitro* e *in vivo* del aceite esencial de orégano después de cinco días de inoculación.

Treatments ($\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$)/ Tratamientos ($\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$)	<i>P. digitatum</i>	<i>A. alternata</i>	<i>A. carbonarius</i>
<i>In vitro</i> evaluation (fungal development in Petri dish, cm)/ Evaluación <i>in vitro</i> (desarrollo fúngico en cajas de Petri, cm)			
Control (0)/Testigo (0)	1.17 ± 0.04 Ca	2.10 ± 0.15 Ba	8.50 ± 0.28 Aa
0.1	0.20 ± 0.07 Cb	0.98 ± 0.06 Bb	4.07 ± 0.40 Ab
0.2	0.0 Bc	0.0 Bc	3.00 ± 0.63 Ab
0.3	0.0 Bc	0.0 Bc	0.56 ± 0.03 Ac
0.4	0.0 Ac	0.0 Ac	0.0 Ac
<i>In vivo</i> evaluations (percentage of fruits damaged)/ Evaluaciones <i>in vivo</i> (porcentaje de frutos dañados)			
0.4	16.67 ± 8.33 Cbc	33.33 ± 8.33 Bc	66.67 ± 8.33 Aab
0.6	8.33 ± 8.33 Bc	8.33 ± 8.33 Bc	41.67 ± 8.33 Abc
0.8	0.00 Ac	0.00 Ad	16.67 ± 8.33 Ac

^aEqual capital letters indicate non-significant difference within a row. Equal lowercase letters indicate non-significant difference within a column (Tukey, *P* ≤ 0.05). Values in parentheses correspond to standard deviation.

^aMedias con letras mayúsculas iguales en la misma fila no difieren estadísticamente, y medias con letras minúsculas iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, *P* ≤ 0.05). Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar.

implementation. On the other hand, Reyes-Jurado et al. (2019) demonstrated the antifungal capacity of oregano Eo applied in volatilized form in the headspace of culture media and determined MIC values between 0.25 and 1.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. In this sense, the presence of terpenes in the Eo can affect the membrane permeability and functionality, in addition to their lipophilic property, that gives them the ability to penetrate cell walls and affect enzymes involved in cell-wall synthesis, thus altering the morphological characteristics of fungi (Pandey et al., 2017).

Handling in modified atmosphere

Weight loss

The cumulative weight loss increased in fruits during the storage, at a rate of 3.34 and 0.31 $\%\cdot\text{d}^{-1}$ in control (handling in air) and treatment (handling in MAP-Eo), respectively, with significant contrast between them (Figure 1A). At the end of the storage, the cumulative weight loss was $24.85 \pm 2.07 \%$ in the control and $2.15 \pm 0.47 \%$ in MAP-Eo. The handling in MAP-Eo was efficient to reduce weight loss, because the relative humidity increased in the semi-closed space, which caused the vapor pressure deficit to be reduced, thus reducing the transpiration of the fruits (Hübert & Lang, 2012). A similar phenomenon was reported by Pérez, Gómez, and Castellanos (2021) when a modified atmosphere with micro-perforation was used for the preservation of blackberry fruits.

Firmness

Fruits presented initial firmness of $1.49 \pm 0.08 \text{ N}$ and a loss of consistency was recorded in the control during storage (Figure 1B). However, firmness was maintained without significant difference relative to the initial value for 5 d with MAP-Eo, which indicated a positive effect of such strategy. The loss of firmness involves modifications at cell wall level caused by several enzymes such as polygalacturonase, pectinesterase, pectate lyase, among others (Tucker et al., 2017).

In the case of blackberry fruits, Zhang, Xiong, Yang, and Wu (2019) studied the softening phenomenon of two varieties and found noticeable increments in polygalacturonase and cellulase activities in the late softening stages, coinciding with a disassembling of the cell wall, but authors found that other enzymes can be present as a function of the variety. Authors also found that cellulose and hemicellulose declined during ripening of fruits. On the other hand, Horvitz, Chanaguano, and Arozarena (2017) indicated that the microbial growth significantly limited the shelf life of Andean blackberry fruits handled in polyethylene

Potma da Silva et al. (2020) utilizaron recubrimientos biopoliméricos para conservar frutos de zarzamora, incorporando Ae de hierba de limón en forma de nanopartículas en celulosa microfibrilada. Una estrategia similar fue utilizada por Shi et al. (2022), con Ae de orégano aplicado sobre frutos de zarzamora a través de nanofibras electrohiladas de ácido poliláctico/policaprolactona. No obstante, aunque en estos trabajos se consiguió prolongar la vida de anaquel, el proceso requirió un mayor procesamiento del Ae, lo cual puede dificultar una aplicación práctica. Por otro lado, Reyes-Jurado et al. (2019) demostraron la capacidad antifúngica del Ae de orégano aplicado en forma volatilizada en el espacio de cabeza de medios de cultivo y determinaron valores de CIM entre 0.25 y 1.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. En este sentido, la presencia de terpenos en los Ae puede afectar la permeabilidad y funcionalidad de la membrana, además de su propiedad lipofílica, que le confiere la capacidad de penetrar en las paredes celulares y afectar a las enzimas implicadas en la síntesis de la pared celular, lo cual altera las características morfológicas de los hongos (Pandey et al., 2017).

Manejo en atmósfera modificada

Pérdida de peso

La pérdida de peso acumulada aumentó en los frutos durante el almacenamiento a una tasa de 3.34 y 0.31 $\%$ por día en el testigo (manipulación en aire) y en el tratamiento (manipulación en EAM-Ae), respectivamente, con un contraste significativo entre ellos (Figura 1A). Al final del almacenamiento, la pérdida de peso acumulada fue de $24.85 \pm 2.07 \%$ en el testigo y de $2.15 \pm 0.47 \%$ en EAM-Ae. El manejo en EAM-Ae fue eficiente para reducir la pérdida de peso debido a que la humedad relativa aumentó en el espacio semicerrado, lo cual hizo que redujera el déficit de presión de vapor, disminuyendo así la transpiración de los frutos (Hübert & Lang, 2012). Un fenómeno similar fue reportado por Pérez, Gómez, y Castellanos (2021) cuando se utilizó atmósfera modificada con microperforación para la conservación de frutos de zarzamora.

Firmeza

Los frutos presentaron una firmeza inicial de $1.49 \pm 0.08 \text{ N}$ y se registró una pérdida de consistencia en el testigo durante el almacenamiento (Figura 1B). Sin embargo, la firmeza se mantuvo sin diferencias significativas respecto al valor inicial durante 5 días con el EAM-Ae, lo cual indica un efecto positivo de dicha estrategia. La pérdida de firmeza implica modificaciones a nivel de la pared celular causadas por varias enzimas, como la poligalacturonasa, la pectinesterasa, la pectato liasa, entre otras (Tucker et al., 2017).

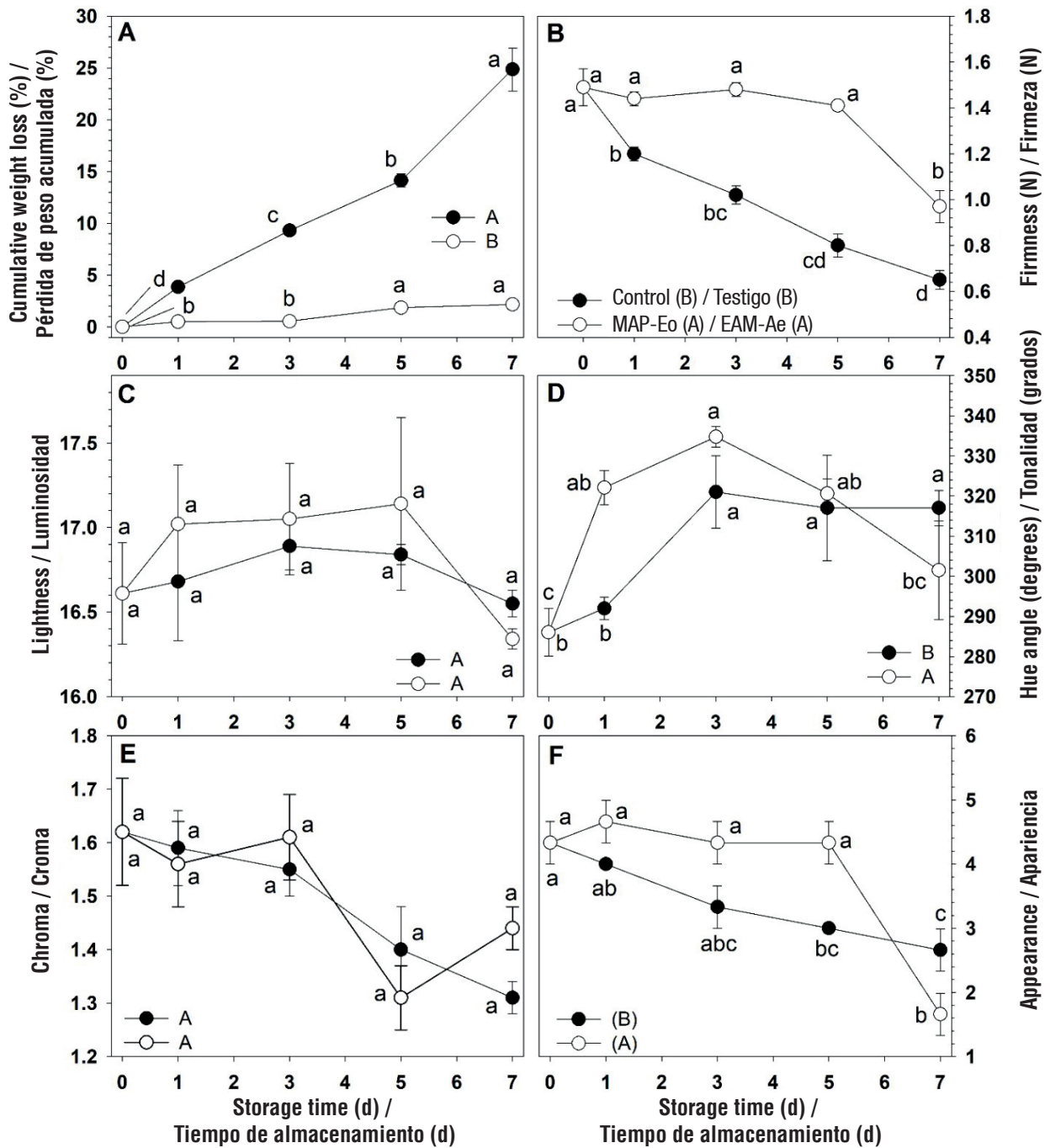


Figure 1. Variation of weight loss (A), firmness (B), color attributes expressed as lightness (C), hue angle (D) and chroma (E), and fruit appearance (F) of blackberry fruits handled in natural air (control) and modified atmosphere (MAP-Eo). Equal capital letters in legends indicate non-significant difference between treatments. Equal lowercase letters indicate non-significant difference within treatments (Tukey, $P \leq 0.05$). Error bars correspond to standard deviation.

Figura 1. Variación de pérdida de peso (A), firmeza (B), atributos de color expresados como luminosidad (C), tonalidad (D) y cromaticidad (E), y apariencia de frutos (F) de zarzamora manejados en aire natural (testigo) y atmósfera modificada (EAM-Ae). Letras mayúsculas iguales en cada recuadro indican diferencias no significativas entre los tratamientos, y letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas al interior de los tratamientos (Tukey, $P \leq 0.05$). Las barras de error corresponden a la desviación estándar.

terephthalate containers at 18 °C and observed a reduction in firmness from 4.0 to 2.5 N in 3 d. In the present work, handling was also carried out in modified atmospheres, but with higher temperature (23 °C) and with exposure to volatilized Eo, which indicated that this allowed reducing the loss of consistency of fruits through inhibition of the fungal development.

Color

Fruits presented lightness, hue angle, and chroma of 16.61 ± 0.30 , $286.09 \pm 5.93^\circ$, and 1.62 ± 0.10 , respectively. These values were similar to those reported by Mikulic-Petkovsek, Koron, Zorenc, and Veberic (2017), who evaluated different blackberry varieties and determined, on average, lightness of 14.08, hue angle of 266.37° , and chroma of 2.09, for fruits harvested at consumption maturity. The hue angle suggests that blackberry fruits exhibit hue close to blue (Sant'Anna et al., 2013); however, the low lightness and chroma values cause the dark-purple appearance of fruits at edible maturity.

During the storage, lightness presented non-significant variations in both handlings, with no significant difference between them (Figure 1C). In the case of chroma, a downward trend was identified, to an average value of 1.37 ± 0.04 (Figure 1E), which was equivalent to a change of 15.4 % and occurred without contrast between treatments. According to Mikulic-Petkovsek et al. (2017), blackberry fruits show descending changes in lightness and chroma of about 2.20 and 21.05 %, respectively, during the transition from optimal consumption maturity to over-ripeness, so the behavior that was found was considered normal.

On the other hand, the fruits of the control showed an increase in hue angle up to $318.33 \pm 8.85^\circ$ on the third day and remained in that condition until day seven (Figure 1D). However, the MAP-Eo fruits showed an increase in hue angle up to $334.71 \pm 2.56^\circ$ on the third day of storage and a subsequent decrease to $301.47 \pm 12.30^\circ$, although MAP-Eo values were higher than those of the control. However, this behavior was not appreciated visually, due to the low values of lightness and chroma. Color reversion is a factor that deteriorate the quality of blackberries in postharvest and consists of the occurrence of drupelets in a fruit where hue turns from dark purple or black to red, which generates an appearance of irregular coloration (Armour, Worthington, Clark, Threlfall, & Howard, 2021).

Lawrence and Melgar (2018) defined that a blackberry fruit presented color reversion when five or more drupelets showed a clearly red hue. This situation was not observed in the present work, so the increment

En el caso de frutos de zarzamora, Zhang, Xiong, Yang, y Wu (2019) estudiaron el fenómeno de ablandamiento de dos variedades y encontraron incrementos perceptibles en las actividades poligalacturonasa y celulasa en las etapas tardías de ablandamiento, lo cual coincidió con la desintegración de la pared celular, aunque los autores encontraron que otras enzimas pueden estar presentes en función de la variedad. Estos autores también descubrieron que la celulosa y la hemicelulosa disminuyen durante la maduración de los frutos. Por otro lado, Horvitz, Chanaguano, y Arozarena (2017) señalan que el crecimiento microbiano limita significativamente la vida de anaquel de frutos de zarzamora andina manejados en envases de tereftalato de polietileno a 18 °C, y observaron una reducción de la firmeza de 4.0 a 2.5 N en 3 días. En el presente trabajo, el manejo también se realizó en atmósferas modificadas, pero con temperatura más alta (23 °C) y con exposición a Ae volatilizado, lo cual permitió reducir la pérdida de consistencia de los frutos a través de la inhibición del desarrollo fúngico.

Color

Los frutos presentaron luminosidad, tonalidad y cromaticidad de 16.61 ± 0.30 , $286.09 \pm 5.93^\circ$ y 1.62 ± 0.10 , respectivamente. Estos valores fueron similares a los reportados por Mikulic-Petkovsek, Koron, Zorenc, y Veberic (2017), quienes evaluaron diversas variedades de zarzamora y determinaron, en promedio, una luminosidad de 14.08, tonalidad de 266.37° y cromaticidad de 2.09, para frutos cosechados en madurez de consumo. La tonalidad sugiere que los frutos de zarzamora presentan un tono cercano al azul (Sant'Anna et al., 2013); sin embargo, bajos valores de luminosidad y cromaticidad generan la apariencia morado-oscuro de los frutos en la madurez para consumo.

Durante el almacenamiento, la luminosidad presentó variaciones no significativas en ambos manejos, sin diferencias significativas entre ellos (Figura 1C). En cuanto a la cromaticidad, se identificó una tendencia a la baja, hasta un valor medio de 1.37 ± 0.04 (Figura 1E), que equivalió a un cambio de 15.4 %, sin contraste entre tratamientos. De acuerdo con Mikulic-Petkovsek et al. (2017), los frutos de zarzamora presentan cambios descendentes en luminosidad y cromaticidad de alrededor de 2.20 y 21.05 %, respectivamente, durante la transición de la madurez óptima de consumo a la sobre-madurez, por lo que el comportamiento encontrado se consideró normal.

Por otra parte, los frutos testigo mostraron un aumento de la tonalidad hasta $318.33 \pm 8.85^\circ$ al tercer día, y permanecieron en esa condición hasta el séptimo día (Figura 1D). Sin embargo, los frutos en EAM-Ae mostraron un aumento en la tonalidad hasta $334.71 \pm 2.56^\circ$ al tercer día de almacenamiento, y una

in the hue angle in the control was attributed to an increase in concentration of anthocyanins (Figure 2D), due to the weight loss of fruits (Figure 1A), but a continuous increase in pH (Figure 2B) prevented a continuous elevation in hue after day three. However, in the case of MAP-Eo, where weight loss did not significantly vary and neither did the concentration of anthocyanins (Figures 1A and 2D), it is believed that the fruits tended to show a phenomenon of color reversion, but the increase of pH prevented a clear manifestation of this disorder and induced the reduction of hue from day three.

Appearance

Fruits of the control showed continuous deterioration of the appearance from the first day of storage and such attribute was classified as regular on day three, due to wilting and the beginning of fungal development, which increased in the following days (Figure 1F). Toscano-Ávila et al. (2020) indicated that the shelf life of blackberry fruits is limited by dehydration and an appearance of wilting and aging, which they qualified as a physiological disorder and typified it as the cause of a shelf life of only 3 d at 25 °C. On the other hand, fruits stored in MAP-Eo maintained their appearance without significant changes until day five of storage. Therefore, the use of MAP-Eo caused a beneficial effect on fruits, since they had a shelf life between 6 and 7 d at 23 °C.

The results obtained are similar to the shelf life of 6 d at 22 °C obtained for blackberry fruits by Heras-Mozos, Gavara, and Hernández-Muñoz (2021), through the antifungal capacity of biopolymeric coatings based on the covalent union of trans-2-hexenal, and aldehyde with antifungal properties, with primary amino groups of chitosan with a Schiff base or imine formation. In that work, the mechanism of action was based on the hydrolysis of imine bond and the release of the active agent. On the other hand, different works have suggested the use of refrigeration at 4 °C to achieve shelf life of 7-8 d (Bersaneti et al., 2021; Vilaplana et al., 2020) and, with the use of biopolymeric coatings at the same thermal condition, shelf life between 9 and 12 d has been achieved (Heras-Mozos et al., 2021; Toscano-Ávila et al., 2020). However, refrigeration infrastructure is lacking in many production areas, which justifies the use of a simpler strategy, such as the one shown in this work, through the release of Eo vapors in the head space of fruits.

Total soluble solids, titratable acidity and pH

Fruits presented average content of TSS of 8.66 ± 0.33 °Brix at the beginning and, throughout the storage, values remained in the range of 8.76 to 10.66 °Brix,

disminución posterior hasta $301.47 \pm 12.30^\circ$, aunque los valores de EAM-Ae fueron superiores a los del testigo. No obstante, este comportamiento no se apreció visualmente debido a los bajos valores de luminosidad y cromaticidad. La reversión de color es un factor que deteriora la calidad de las zarzamoras en poscosecha, y consiste en la aparición de drupeólas en los frutos cuya tonalidad pasa de púrpura oscuro o negro a rojo, lo cual genera una apariencia de coloración irregular (Armour, Worthington, Clark, Threlfall, & Howard, 2021).

Lawrence y Melgar (2018) definieron que un fruto de zarzamora presentaba reversión de color cuando cinco o más drupeólas mostraban una tonalidad claramente roja. Esta situación no se observó en el presente trabajo, por lo que el incremento de la tonalidad en el testigo se atribuyó a un aumento en la concentración de antocianinas (Figura 2D), debido a la pérdida de peso de los frutos (Figura 1A), pero un aumento continuo del pH (Figura 2B) impidió una elevación sostenida de la tonalidad a partir del tercer día. Sin embargo, en el caso del EAM-Ae, donde la pérdida de peso no varió significativamente, y tampoco lo hizo la concentración de antocianinas (Figuras 1A y 2D), se cree que los frutos tendieron a mostrar un fenómeno de reversión del color, pero el aumento del pH impidió una manifestación clara de este trastorno e indujo la reducción de la tonalidad a partir del tercer día.

Apariencia

Los frutos del testigo mostraron un deterioro continuo en su aspecto desde el primer día de almacenamiento, lo cual fue calificado como regular al tercer día debido al marchitamiento y al inicio del desarrollo de hongos, que incrementaron en los días siguientes (Figura 1F). Toscano-Ávila et al. (2020) indican que la vida de anaquel de los frutos de zarzamora está limitada por la deshidratación, y la aparición de marchitez y envejecimiento, lo que calificaron como un desorden fisiológico y lo tipificaron como la causa de una vida de anaquel de sólo 3 días a 25 °C. Por el contrario, los frutos almacenados en EAM-Ae mantuvieron su aspecto sin cambios significativos hasta el quinto día de almacenamiento. Por lo tanto, el uso de EAM-Ae produjo un efecto benéfico en los frutos, ya que éstos tuvieron una vida útil de entre 6 y 7 días a 23 °C.

Los resultados obtenidos son similares a la vida de anaquel de 6 días a 22 °C obtenida para frutos de zarzamora por Heras-Mozos, Gavara, y Hernández-Muñoz (2021), mediante la capacidad antifúngica de recubrimientos biopoliméricos basados en la unión covalente de trans-2-hexeno y aldehído con propiedades antifúngicas, con grupos amino primarios de quitosano con una base de Schiff o formación de imina. En ese trabajo, el mecanismo de acción se basaba

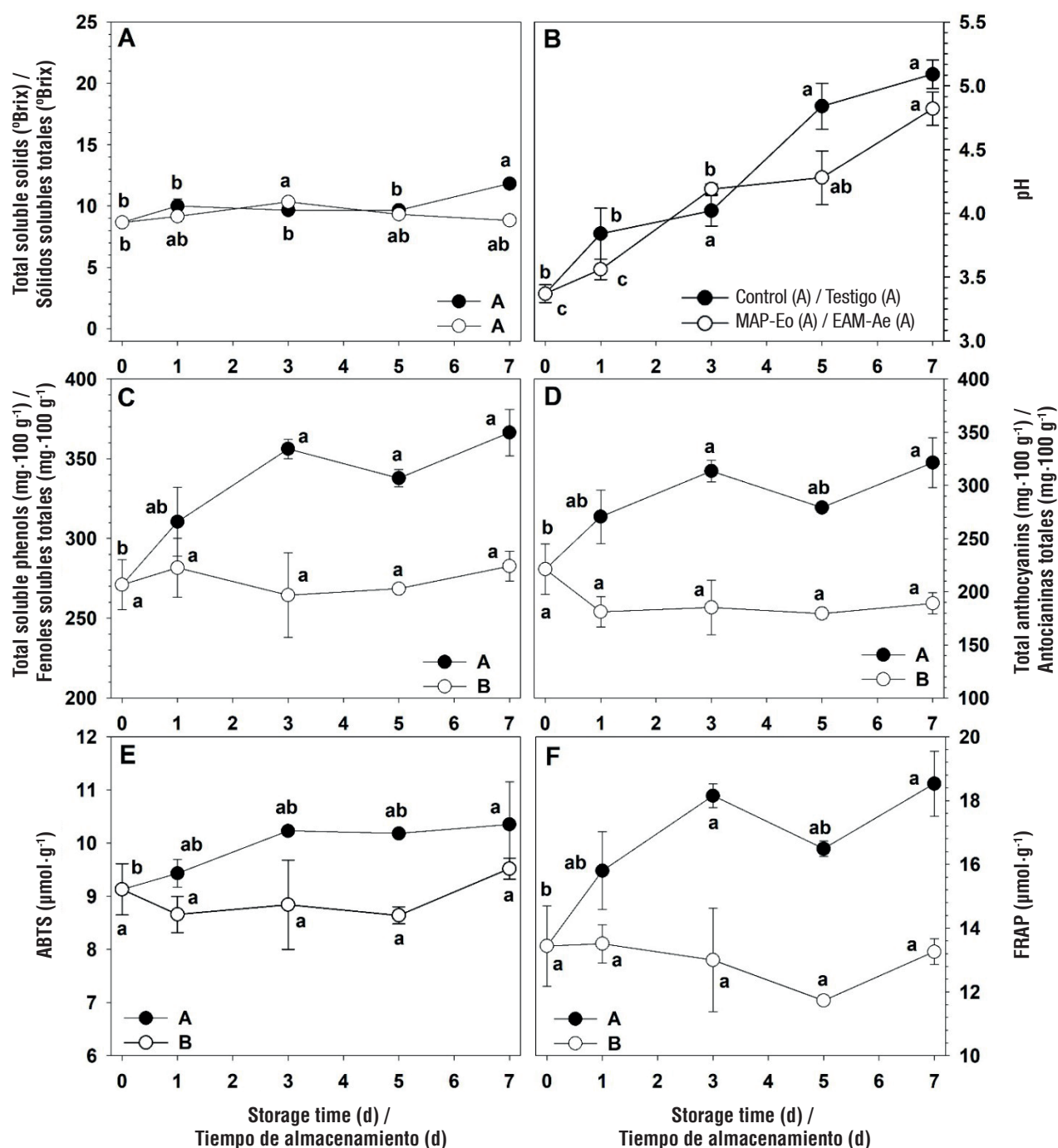


Figure 2. Variation of total soluble solids (A), acidity (B), content of total soluble phenols (C), content of total anthocyanins (D), and antioxidant capacity evaluated with the ABTS (E) and FRAP tests (F) in blackberry fruits. Equal capital letters in legends indicate non-significant difference between treatments. Equal lowercase letters indicate non-significant difference within treatments (Tukey, $P \leq 0.05$). Error bars correspond to standard deviation.

Figura 2. Variación de sólidos solubles totales (A), acidez (B), contenido de fenoles solubles totales (C), contenido de antocianinas totales (D) y capacidad antioxidante evaluada con las pruebas ABTS (E) y FRAP (F) en frutos de zarzamora. Letras mayúsculas iguales en cada gráfico indican diferencias no significativas entre los tratamientos, y letras minúsculas iguales indican diferencias no significativas al interior de los tratamientos (Tukey, $P \leq 0.05$). Las barras de error corresponden a la desviación estándar.

without significant difference between control and MAP-Eo, except on day seven, when an increase in SST was observed in the control and a reduction in MAP-Eo (Figure 2A). Cortés-Rodríguez, Villegas-Yépez, Gil-González, and Ortega-Toro (2020) reported TSS content of 8.17 °Brix in Andean blackberry fruits and the reduction of this value in fruits handled without any treatment, which was attributed to the consumption of sugars and organic acids in the respiratory process. In the same work, an increase in TSS was observed in fruits handled at 4 °C with a biopolymeric coating, which was attributed to a concentration process derived from the weight loss of fruits during storage.

The TA decreased throughout the storage, from 0.76 ± 0.01 to 0.16 ± 0.01 %, which occurred similarly in both treatments (data not shown). The initial values were similar to those reported by Kim, Perkins-Veazie, Ma, and Fernandez (2015), between 0.92 and 0.94 %. The reduction of TA has been reported in other works and may be due to the consumption of organic acids in the respiration process (Cortés-Rodríguez et al., 2020; Kim et al., 2015), to obtain energy (Martínez-Damián, Cruz-Arvizu, & Cruz-Álvarez, 2020). Consistent with the behavior of acidity, a significant increase in the pH of fruits was observed, from an initial value of 3.37 ± 0.07 to 5.09 ± 0.11 (control) and 4.82 ± 0.13 (MAP-Eo) (Figure 2B), with no general contrast between both conditions. The initial pH value was similar to that reported in other works. In this regard, Schulz et al. (2019) reported a value of 3.48, Cortés-Rodríguez et al. (2020) found values between 2.97 and 3.00, while Kim et al. (2015) reported a value of 3.73. Likewise, the increase in pH during the postharvest period has been coherent with the decrease of acidity (Cortés-Rodríguez et al., 2020).

Total soluble phenols and total anthocyanins

The content of TSP was 270.97 ± 15.56 mg·100 g⁻¹ at the storage beginning. Schulz et al. (2019) identified 26 phenolic compounds in blackberry (*R. ulmifolius*) fruits, highlighting the presence of quercetin, isoquercetin, kaempferol, (+)-epicatechin, (+)-catechin, gallic acid, sinapic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid, caffeic acid, and *p*-coumaric acid. During the storage, the concentration increased in fruits of the control, up to 366.39 ± 14.54 mg·100 g⁻¹ on the day seven, but remained without significant changes, in the range of 268 to 282 mg·100 g⁻¹, in fruits of MAP-Eo, which caused that the TSP average content was significantly higher in control than in MAP-Eo (Figure 2C). Similarly to the control, Cortés-Rodríguez et al. (2020) found that the total phenolic content presented an increasing trend to a maximum value on day six in blackberry fruits harvested at full maturity and stored in natural air at 4 °C. Also, Horvitz et al. (2017) reported the increment of the total phenolic content in fruits of blackberry harvested

en la hidrólisis del enlace imina y la liberación del agente activo. Por otra parte, diferentes trabajos han sugerido el uso de refrigeración a 4 °C para conseguir una vida de anaquel de 7 a 8 días (Bersaneti et al., 2021; Vilaplana et al., 2020) y, con el uso de recubrimientos biopoliméricos en la misma condición térmica, se ha conseguido una vida de anaquel de entre 9 y 12 días (Heras-Mozos et al., 2021; Toscano-Ávila et al., 2020). Sin embargo, muchas zonas de producción carecen de infraestructuras de refrigeración, lo cual justifica el uso de una estrategia más sencilla, como la mostrada en este trabajo, mediante la liberación de vapores de Ae en el espacio de cabeza de los frutos.

Sólidos solubles totales, acidez titulable y pH

Los frutos presentaron un contenido promedio de SST de 8.66 ± 0.33 °Brix al inicio y, durante todo el almacenamiento, los valores se mantuvieron en el rango de 8.76 a 10.66 °Brix, sin diferencias significativas entre testigo y EAM-Ae, excepto en el séptimo día, cuando se observó un aumento en el testigo y una reducción en EAM-Ae (Figura 2A). Cortés-Rodríguez, Villegas-Yépez, Gil-González, y Ortega-Toro (2020) reportaron un contenido de SST de 8.17 °Brix en frutos de zarzamora andina y la reducción de este valor en frutos manejados sin ningún tratamiento, lo cual se atribuyó al consumo de azúcares y ácidos orgánicos en el proceso respiratorio. En el mismo trabajo, se observó un aumento de SST en frutos manejados a 4 °C con recubrimiento biopolimérico, lo cual se atribuyó a un proceso de concentración derivado de la pérdida de peso de los frutos durante el almacenamiento.

La AT disminuyó a lo largo del almacenamiento, de 0.76 ± 0.01 a 0.16 ± 0.01 %, lo cual ocurrió de manera similar en ambos tratamientos (datos no mostrados). Los valores iniciales fueron cercanos a los reportados por Kim, Perkins-Veazie, Ma, y Fernández (2015), entre 0.92 y 0.94 %. La reducción de la AT ha sido reportada en otros trabajos, y se puede deber al consumo de ácidos orgánicos en el proceso de respiración (Cortés-Rodríguez et al., 2020; Kim et al., 2015), para la obtención de energía (Martínez-Damián, Cruz-Arvizu, & Cruz-Álvarez, 2020). En concordancia con el comportamiento de la acidez, se observó un aumento significativo del pH de los frutos, al pasar de 3.37 ± 0.07 a 5.09 ± 0.11 en el testigo y 4.82 ± 0.13 en el EAM-Ae (Figura 2B), sin contraste general entre ambas condiciones. El valor inicial de pH fue similar al reportado en otros trabajos. Schulz et al. (2019) reportaron un valor de 3.48, Cortés-Rodríguez et al. (2020) encontraron valores entre 2.97 y 3.00, mientras que Kim et al. (2015) obtuvieron un valor de 3.73. Asimismo, el aumento del pH durante la poscosecha es congruente con la disminución de la acidez (Cortés-Rodríguez et al., 2020).

at full maturity and stored at 18 °C in natural air. Mikulic-Petkovsek et al. (2017) evaluated separately the variation of anthocyanins, flavanols ellagitannins, and flavonol derivatives in five cultivars of blackberry fruits, and found an increment in all the compounds between optimal ripe and over-ripe maturity states.

The behavior observed in the control may be indicative of senescence, since the reactive oxygen species (ROS) may increase with such condition, causing an increase in phenolic compounds in defense of oxidative stress (Neves, Tosin, Benedette, & Cisneros-Zevallos, 2015). In this sense, the absence of an increment of TSP in the treatment MAP-Eo (Figure 2C) may indicate that fruits did not activate a defense mechanism against ROS, which constituted a positive effect on delaying senescence.

Total anthocyanin content was $221.18 \pm 23.61 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ at the storage beginning, which was higher than values of 112.81 and $153.40 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ reported by Mikulic-Petkovsek et al. (2017) for fruits at optimum consumption and over-ripe maturities, respectively. These authors indicated that cyanidin-3-O-glucoside was the principal anthocyanin found in blackberry fruits. During the storage, the content increased in the control up to $321.45 \pm 23.50 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, parallel to the TSP behavior (Figure 2D), which represented a change of 45.3 % and was consistent with the 40 % of variation found by Mikulic-Petkovsek et al. (2017) between optimal maturity and over-ripeness. However, the anthocyanin content remained between 179 and $221 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ in MAP-Eo fruits, without significant changes throughout the storage. The color of blackberry fruits is directly associated with the content of anthocyanins and with the maturity stage (Li et al., 2022), which suggested that the handling in MAP-Eo caused a delay in the metabolic activity that leads to senescence.

Antioxidant capacity

The ABTS and FRAP assays indicated antioxidant capacity of 9.13 ± 0.48 and $13.44 \pm 1.126 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ at the storage beginning. The ABTS assay is based on an electron transfer principle, while the FRAP assay is based on a hydrogen atom transfer phenomenon (Apak, Özyürek, Güçlü, & Çapanoğlu, 2016), so it is common that results are different. The antioxidant capacity increased throughout storage in the control, up to $10.35 \pm 3.80 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$, according to the ABTS test and up to $18.53 \pm 1.02 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ according to the FRAP one, while remained between 8.6-9.5 and 11.7-13.7 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively, without significant changes, in MAP-Eo fruits (Figures 2E and 2F).

The antioxidant potential of blackberry fruits is commonly associated with the presence of bioactive

Fenoles solubles totales y antocianinas totales

El contenido de FST fue de $270.97 \pm 15.56 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ al inicio del almacenamiento. Schulz et al. (2019) identificaron 26 compuestos fenólicos en frutos de zarzamora (*R. ulmifolius*), destacando la presencia de quercetina, isoquercetina, kaempferol, (+)-epicatequina, (+)-catequina, ácido gálico, ácido sinápico, ácido 3,4-dihidroxibenzoico, ácido cafeico y ácido *p*-cumárico. Durante el almacenamiento, la concentración de FST aumentó en los frutos testigo, hasta $366.39 \pm 14.54 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ al séptimo día, pero se mantuvo sin cambios significativos en los frutos de EAM-Ae (en el rango de 268 a $282 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), lo cual ocasionó que el contenido medio de FST fuera significativamente mayor en el testigo que en EAM-Ae (Figura 2C). Similar al testigo, Cortés-Rodríguez et al. (2020) encontraron que el contenido fenólico total presentó una tendencia creciente hasta un valor máximo en el sexto día en frutos de zarzamora recolectados en madurez y almacenados en aire natural a 4 °C. Asimismo, Horvitz et al. (2017) obtuvieron un incremento en el contenido fenólico total en frutos de zarzamora en madurez de consumo y almacenados a 18 °C en aire natural. Mikulic-Petkovsek et al. (2017) evaluaron, por separado, la variación de antocianinas, flavonoles elagitaninos y derivados de flavonoles en cinco cultivares de frutos de zarzamora, y encontraron un incremento en todos los compuestos entre los estados óptimos de madurez y sobre-madurez.

El comportamiento observado en el testigo puede ser indicativo de senescencia, ya que las especies reactivas de oxígeno (ERO) pueden aumentar con dicha condición, lo cual provoca un incremento de los compuestos fenólicos en defensa del estrés oxidativo (Neves, Tosin, Benedette, & Cisneros-Zevallos, 2015). En este sentido, la ausencia del incremento de FST en el tratamiento EAM-Ae (Figura 2C) puede indicar que los frutos no activaron un mecanismo de defensa contra las ERO, lo que generó un efecto positivo en el retraso de la senescencia.

El contenido total de antocianinas fue de $221.18 \pm 23.61 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ al inicio del almacenamiento, que fue más alto que los valores 112.81 y $153.40 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ reportados por Mikulic-Petkovsek et al. (2017) para frutos en madurez óptima de consumo y sobre-maduración, respectivamente. Estos autores señalaron que la cianidina-3-O-glucósido fue la principal antocianina encontrada en frutos de zarzamora. Durante el almacenamiento, dicho contenido incrementó en el testigo hasta $321.45 \pm 23.50 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, semejando el comportamiento de los FST (Figura 2D), lo cual representó un cambio de 45.3 %, similar al 40 % de variación encontrado por Mikulic-Petkovsek et al. (2017) entre la madurez óptima y la sobre-maduración.

substances such as phenolic compounds. In this regard, Mikulic-Petkovsek et al. (2017) reported that phenolic compounds increased in blackberry fruits of different varieties, which caused that in over-ripe fruits the antioxidant capacity (FRAP values) was in the range of 25.9-43.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$. Likewise, Li et al. (2022) determined in fruits of two blackberry varieties that the non-anthocyanin flavonoid fraction diminished from early to late maturity stages and also its antioxidant activity, while the anthocyanin fraction increased, along with its antioxidant potential. These facts pointed out that the advance of an over-ripe state is accompanied by an increment of the antioxidant capacity and suggested that the less value that was found in fruits of MAP-Eo corresponded to a delaying the senescence of them. Besides, although the increase in antioxidant capacity during storage may be a beneficial factor, it may actually be indicative of the increase in oxidative stress in fruits, derived from a process of over-ripening or senescence and therefore the reduction in the marketing potential of fruits.

Conclusions

The use of oregano essential oil in the head space of blackberry fruits reduced significantly the fungal development, principally for *Aspergillus* spp., followed by *Alternaria* spp., and *Penicillium* spp. The shelf life of blackberry fruits was extended up to 6-7 d at 23 °C relative to fruits of the control that exhibited postharvest life of 3 d.

The use of modified atmosphere systems with microperforation and with vapors of essential oil (MAP-Eo) in the head space allowed reducing the rate of weight loss, the loss of consistency, and that of alteration of color attributes in fruits, allowing a better appearance along the storage at room temperature conditions. Likewise, the use of MAP-Eo allowed maintaining the content of phenolic compounds and anthocyanins, as well as the antioxidant capacity, without significant changes. The use of MAP-Eo systems is a useful alternative for postharvest handling of blackberry fruits at room conditions.

End of English version

References / Referencias

- Aguilar-González, A. E., Palou, E., & López-Malo, A. (2015). Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 32, 181-185. doi: 10.1016/j.ifset.2015.09.003
- Aguilar-Veloz, L. M., Calderón-Santoyo, M., Vázquez-González, Y., & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2020). Application of essential

Sin embargo, el contenido de antocianinas permaneció entre 179 y 211 $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ en los frutos bajo EAM-Ae, sin cambios significativos a lo largo del almacenamiento. El color de los frutos de zarzamora está relacionado directamente con el contenido de antocianinas y con la etapa de maduración (Li et al., 2022), lo cual sugirió que el manejo en EAM-Ae produjo un retraso en la actividad metabólica que conduce a la senescencia.

Capacidad antioxidante

Los ensayos ABTS y FRAP indicaron una capacidad antioxidante de 9.13 ± 0.48 y $13.44\pm 1.126\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ al inicio del almacenamiento. El método ABTS se basa en un principio de transferencia de electrones, mientras que el ensayo FRAP se basa en un fenómeno de transferencia de átomos de hidrógeno (Apak, Özyürek, Güçlü, & Çapanoğlu, 2016), por lo que es común que los resultados sean distintos. La capacidad antioxidante incrementó en el testigo a lo largo del almacenamiento, hasta $10.35\pm 3.80\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ de acuerdo con el método ABTS y hasta $18.53\pm 1.02\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ de acuerdo con FRAP, pero en los frutos bajo EAM-Ae permanecieron entre 8.6 a 9.5 y 11.7 a 13.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente, sin cambios significativos (Figuras 2E y 2F).

El potencial antioxidante de los frutos de zarzamora es asociado, normalmente, a la presencia de sustancias bioactivas, como los compuestos fenólicos. A este respecto, Mikulic-Petkovsek et al. (2017) señalan que los compuestos fenólicos incrementaron en los frutos de zarzamora de diversas variedades, lo cual provocó que en frutos en sobre-maduración la capacidad antioxidante (valores de FRAP) se encontrara en el rango de 25.9 a 43.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$. De igual manera, Li et al. (2022) determinaron, en frutos de dos variedades de zarzamora, que la fracción flavonoide no-antocianina disminuyó de las etapas tempranas a las tardías, así como su actividad antioxidante, mientras que la fracción antocianina aumentó, junto con el potencial antioxidante. Lo anterior indica que el avance del estado de sobre-maduración está acompañado de un incremento de la capacidad antioxidante, y sugiere que el menor valor encontrado en los frutos bajo EAM-Ae correspondió al retraso en su senescencia. Además, aunque el aumento de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento puede ser un factor beneficioso, en realidad puede ser indicativo del incremento del estrés oxidativo en los frutos, esto derivado de un proceso de sobre-maduración o senescencia, y por tanto de la reducción del potencial comercial de los frutos.

Conclusiones

El uso de aceite esencial de orégano en el espacio de cabeza de frutos de zarzamora redujo significativamente el desarrollo de hongos, principalmente *Aspergillus*

- oils and polyphenols as natural antimicrobial agents in postharvest treatments: Advances and challenges. *Food Science & Nutrition*, 8(6), 2555-2568. doi: 10.1002/fsn3.1437
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997-1027. doi: 10.1021/acs.jafc.5b04739
- Armour, M. E., Worthington, M., Clark, J. R., Threlfall, R. T., & Howard, L. (2021). Effect of harvest time and fruit firmness on red drupelet reversion in blackberry. *HortScience*, 56(8), 889-896. doi: 10.21273/HORTSCI15853-21
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76. doi: 10.1006/abio.1996.0292
- Bersaneti, G. T., Prudencio, S. H., Mali, S., & Pedrine-Colabone, M. A. (2021). Assessment of a new edible film biodegradable based on starch-nystose to increase quality and the shelf life of blackberries. *Food Bioscience*, 42, 101173. doi: 10.1016/j.fbio.2021.101173
- Cortés-Rodríguez, M., Villegas-Yépez, C., Gil-González, J. H., & Ortega-Toro, R. (2020). Effect of a multifunctional edible coating based on cassava starch on the shelf life of Andean blackberry. *Heliyon*, 6(5), e03974. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03974
- Cosseboom, S. D., Schnabel, G., & Hu, M. (2020). Competitive ability of multi-fungicide resistant *Botrytis cinerea* in a blackberry planting over three years. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 163, 1-7. doi: 10.1016/j.pestbp.2019.11.008
- Frias-Moreno, M. N., Olivas-Orozco, G. I., González-Aguilar, G. A., Benítez-Enriquez, Y. E., Paredes-Alonso, A., Jacobo-Cuellar, J. L., ... Parra-Quezada, R. A. (2019). Yield, quality and phytochemicals of organic and conventional raspberry cultivated in Chihuahua, Mexico. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47(2), 522-530. doi: 10.15835/nbha47211385
- Heras-Mozos, R., Gavara, R., & Hernández-Muñoz, P. (2021). Development of antifungal biopolymers based on dynamic imines as responsive release systems for the postharvest preservation of blackberry fruit. *Food Chemistry*, 357, 129838. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129838
- Hernández-Rodríguez, G., Espinosa-Solares, T., Hernández-Eugenio, G., Villa-García, M., Reyes-Trejo, B., & Guerra-Ramírez, D. (2016). Influence of polar solutions on the extraction of phenolic compounds from capulín fruits (*Prunus serotina*). *Journal of the Mexican Chemical Society*, 60, 73-78. doi: 10.29356/jmcs.v60i2.76
- Horvitz, S., Chanaguano, D., & Arozarena, I. (2017). Andean blackberries (*Rubus glaucus* Benth) quality as affected by harvest maturity and storage conditions. *Scientia Horticulturae*, 226, 293-301. doi: 10.1016/j.scienta.2017.09.002
- Hübert, T., & Lang, C. (2012). Artificial fruit: Postharvest online monitoring of agricultural food by measuring humidity and temperature. *International Journal of Thermophysics*, 33(8-9), 1606-1615. doi: 10.1007/s10765-011-1101-0
- spp., *Alternaria* spp. y *Penicillium* spp. y prolongó la vida de anaquel de los frutos hasta en 6 a 7 días a 23 °C, en comparación con los frutos testigo que presentaron una vida poscosecha de 3 días.
- El uso de sistemas de atmósfera modificada con microperforación y vapores de aceite esencial (EAM-Ae) en el espacio de cabeza permitió reducir la tasa de pérdida de peso, la pérdida de consistencia y la alteración de los atributos de color en los frutos, lo cual resultó en una mejor apariencia a lo largo del almacenamiento en condiciones de temperatura ambiente. De igual manera, el uso de EAM-Ae permitió mantener el contenido de compuestos fenólicos y antocianinas, así como la capacidad antioxidante, sin cambios significativos. Por lo tanto, el uso de EAM-Ae es una alternativa útil para el manejo poscosecha de frutos de zarzamora en condiciones ambiente.

Fin de la versión en español

- Junqueira-Gonçalves, M. P., Alarcón, E., & Niranjana, K. (2016). The efficacy of potassium sorbate-coated packaging to control postharvest gray mold in raspberries, blackberries and blueberries. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 205-208. doi: 10.1016/j.postharvbio.2015.09.014
- Kharchoufi, S., Parafati, L., Licciardello, F., Muratore, G., Hamdi, M., Cirvilleri, G., & Restuccia, C. (2018). Edible coatings incorporating pomegranate peel extract and biocontrol yeast to reduce *Penicillium digitatum* postharvest decay of oranges. *Food Microbiology*, 74, 107-112. doi: 10.1016/j.fm.2018.03.011
- Kim, M. J., Perkins-Veazie, P., Ma, G., & Fernandez, G. (2015). Shelf life and changes in phenolic compounds of organically grown blackberries during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 257-263. doi: 10.1016/j.postharvbio.2015.08.020
- Kong, J., Zhang, Y., Ju, J., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., ... Yao, W. (2019). Antifungal effects of thymol and salicylic acid on cell membrane and mitochondria of *Rhizopus stolonifer* and their application in postharvest preservation of tomatoes. *Food Chemistry*, 285, 380-388. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.099
- Lawrence, B., & Melgar, J. C. (2018). Harvest, handling, and storage recommendations for improving postharvest quality of blackberry cultivars. *HortTechnology*, 28(5), 578-583. doi: 10.21273/horttech04062-18
- Lee, J., Robert, W. D., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269-1278. doi: 10.1093/jaoac/88.5.1269
- Legrand, N., Qian, X., Yang, Q., Solairaj, D., Ianiri, G., Ballester, A.-R., ... Zhang, H. (2021). Securing fruit production: Opportunities from the elucidation of the molecular mechanisms of postharvest fungal infections.

- Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20. doi: 10.1111/1541-4337.12729
- Li, J., Shi, C., Shen, D., Han, T., Wu, W., Lyu, L., & Li, W. (2022). Composition and antioxidant activity of anthocyanins and non-anthocyanin flavonoids in blackberry from different growth stages. *Foods*, 11(18), 1-11. doi: 10.3390/foods11182902
- Li, S., Shen, Q., Wang, H., He, F., Xiao, Z., Peng, X., ... Tang, X. (2021). First report of *Alternaria alternata* causing leaf spot of tartary buckwheat in China. *Plant Disease*, 105(11), 3751. doi: 10.1094/PDIS-01-21-0191-PDN
- Liu, H., Zhao, H., Lyu, L., Huang, Z., Fan, S., Wu, W., & Li, W. (2019). Synergistic effect of natural antifungal agents for postharvest diseases of blackberry fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(7), 3343-3349. doi: 10.1002/jsfa.9551
- López-Gómez, A., Ros-Chumillas, M., Navarro-Martínez, A., Barón, M., Navarro-Segura, L., Taboada-Rodríguez, A., ... Martínez-Hernández, G. B. (2021). Packaging of fresh sliced mushrooms with essential oils vapours: A new technology for maintaining quality and extending shelf life. *Foods*, 10(1196), 2-16. doi: 10.3390/foods10061196
- Lucero, M., Estell, R., Tellez, M., & Fredrickson, E. (2009). A retention index calculator simplifies identification of plant volatile organic compounds. *Phytochemical Analysis*, 20(5), 378-384. doi: 10.1002/pca.1137
- Martínez-Damián, M. T., Cruz-Arvizu, O., & Cruz-Álvarez, O. (2020). Effect of modified atmosphere packaging on nutraceutical quality and overall appearance of figs stored at 1 °C. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48(4), 2292-2305. doi: 10.15835/nbha48412076
- Medina-Romero, Y. M., Roque-Flores, G., & Macías-Rubalcava, M. L. (2017). Volatile organic compounds from endophytic fungi as innovative postharvest control of *Fusarium oxysporum* in cherry tomato fruits. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(22), 8209-8222. doi: 10.1007/s00253-017-8542-8
- Mikulic-Petkovsek, M., Koron, D., Zorenc, Z., & Veberic, R. (2017). Do optimally ripe blackberries contain the highest levels of metabolites? *Food Chemistry*, 215, 41-49. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.07.144
- Moncayo-Pérez, C. D., Magaña-Lira, N., Peña-Lomelí, A., Leyva-Mir, S. G., Sahagún-Castellanos, J., & Pérez-Grajales, M. (2020). White smut (*Entyloma australe* Speg.) resistance in tomatillo (*Physalis* spp.) germplasm. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 26(1). doi: 10.5154/r.chsh.2019.09.016
- Moreno-Sánchez, E. (2007). Características territoriales, ambientales y sociopolíticas del municipio de Texcoco, Estado de México. *Quivera Revista de Estudios Territoriales*, 9(1), 177-206.
- Neves, L. C., Tosin, J. M., Benedette, R. M., & Cisneros-Zevallos, L. (2015). Post-harvest nutraceutical behaviour during ripening and senescence of 8 highly perishable fruit species from the Northern Brazilian Amazon region. *Food Chemistry*, 174, 188-196. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.10.111
- Pandey, A. K., Kumar, P., Singh, P., Tripathi, N. N., & Bajpai, V. K. (2017). Essential oils: sources of antimicrobials and food preservatives. *Frontiers in Microbiology*, 7, 2161. doi: 10.3389/fmicb.2016.02161
- Peretto, G., Du, W. X., Avena-Bustillos, R. J., Sarreal, S. B., Hua, S. S., Sambo, P., & Mchugh, T. H. (2014). Increasing strawberry shelf-life with carvacrol and methyl cinnamate antimicrobial vapors released from edible films. *Postharvest Biology and Technology*, 89, 11-18. doi: 10.1016/j.postharvbio.2013.11.003
- Pérez, D., Gómez, J., & Castellanos, D. (2021). Combined modified atmosphere packaging and guar gum edible coatings to preserve blackberry (*Rubus glaucus* Benth). *Food Science and Technology International*, 27(4), 353-365. doi: 10.1177/1082013220959511
- Potma da Silva, E. L., de Carvalho, T. C., Ayub, R. A., & Celano-Menezes, M. (2020). Blackberry extend shelf life by nanocellulose and vegetable oil coating. *Horticulture International Journal*, 4(2), 54-60. doi: 10.15406/hij.2020.04.00158
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. doi: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- Rehman, R., Hanif, M. A., Mushtaq, Z., & Al-Sadi, A. M. (2016). Biosynthesis of essential oils in aromatic plants: A review. *Food Reviews International*, 32(2), 117-160. doi: 10.1080/87559129.2015.1057841
- Reyes-Jurado, F., Cervantes-Rincón, T., Bach, H., López-Malo, A., & Palou, E. (2019). Antimicrobial activity of Mexican oregano (*Lippia berlandieri*), thyme (*Thymus vulgaris*), and mustard (*Brassica nigra*) essential oils in gaseous phase. *Industrial Crops & Products*, 131, 90-95. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.01.036
- Sant'Anna, V., Gurak, P. D., Ferreira, M. L., & Tessaro, I. C. (2013). Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. *Dyes and Pigments*, 98(3), 601-608. doi: 10.1016/j.dyepig.2013.04.011
- Schulz, M., Seraglio, S. K., Della Betta, F., Nehring, P., Valesse, A. C., Daguer, H., ... Fett, R. (2019). Blackberry (*Rubus ulmifolius* Schott): Chemical composition, phenolic compounds and antioxidant capacity in two edible stages. *Food Research International*, 122, 627-634. doi: 10.1016/j.foodres.2019.01.034
- Shi, C., Zhou, A., Fang, D., Lu, T., Wang, J., Song, Y., ... Li, W. (2022). Oregano essential oil/ β -cyclodextrin inclusion compound polylactic acid/polycaprolactone electrospun nanofibers for active food packaging. *Chemical Engineering Journal*, 445, 136746. doi: 10.1016/j.cej.2022.136746
- Shi, X. C., Wang, S. Y., Duan, X. C., Wang, Y. Z., Liu, F. Q., & Laborda, P. (2021). Biocontrol strategies for the management of *Colletotrichum* species in postharvest fruits. *Crop Protection*, 141, 105454. doi: 10.1016/j.cropro.2020.105454
- Singleton, V. L., & Rossi, J. J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Tapiero, J., Salamanca, G., & Marín, C. (2019). Analysis of volatile compounds and antioxidant activity of the essential oil of oregano (*Origanum vulgare* L.). *Advancement in Medicinal*

- Plant Research*, 7(2), 54-60. doi: 10.30918/AMPR.72.19.022
- Toscano-Ávila, J. A., Terán, D. A., Debut, A., Vizuete, K., Martínez, J., & Cerda-Mejía, L. A. (2020). Shelf life estimation of blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) with bacterial cellulose film coating from *Komagataeibacter xylinus*. *Food Science & Nutrition*, 8(4), 2173-2179. doi: 10.1002/fsn3.1525
- Tucker, G., Yin, X., Zhang, A., Wang, M., Zhu, Q., Liu, X., ... Grierson, D. (2017). Ethylene and fruit softening. *Food Quality and Safety*, 1(4), 253-267. doi: 10.1093/fqsafe/fyx024
- Uribe-Gutiérrez, L., Moreno-Velandia, C. A., & Villamizar, L. F. (2022). Compatibility of a biopesticide based on the yeast *Rhodotorula mucilaginosa* (Lv316) with chemical fungicides used in blackberry crops. *BioControl*, 67(1), 89-100. doi: 10.1007/s10526-021-10119-1
- Vilaplana, R., Guerrero, K., Guevara, J., & Valencia-Chamorro, S. (2020). Chitosan coatings to control soft mold on fresh blackberries (*Rubus glaucus* Benth.) during postharvest period. *Scientia Horticulturae*, 262, 109049. doi: 10.1016/j.scienta.2019.109049
- Zhang, C., Xiong, Z., Yang, H., & Wu, W. (2019). Changes in pericarp morphology, physiology and cell wall composition account for flesh firmness during the ripening of blackberry (*Rubus* spp.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 250, 59-68. doi: 10.1016/j.scienta.2019.02.015
- Zhang, W., Jiang, H., Rhim, J. W., Cao, J., & Jiang, W. (2022). Effective strategies of sustained release and retention enhancement of essential oils in active food packaging films/coatings. *Food Chemistry*, 367, 130671. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130671