

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 791 451**

51 Int. Cl.:

<b>A01N 25/18</b>	(2006.01)
<b>A01N 25/34</b>	(2006.01)
<b>A01N 65/00</b>	(2009.01)
<b>A01N 65/22</b>	(2009.01)
<b>A01N 65/36</b>	(2009.01)
<b>A01N 65/44</b>	(2009.01)
<b>A23B 7/16</b>	(2006.01)
<b>A23B 7/148</b>	(2006.01)
<b>B32B 27/06</b>	(2006.01)
<b>B32B 27/18</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.09.2016 PCT/IB2016/055371**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **16.03.2017 WO17042719**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2016 E 16766638 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.02.2020 EP 3346843**

54 Título: **Membrana y método para la conservación de productos agrícolas**

30 Prioridad:

**11.09.2015 GB 201516095**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**04.11.2020**

73 Titular/es:

**AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL (50.0%)  
1138 Park Street Hatfield  
0083 Pretoria, ZA y  
COUNCIL FOR SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL  
RESEARCH (50.0%)**

72 Inventor/es:

**VRIES, FILICITY ANN y  
KALOMBO, MICHEL, LONJI**

74 Agente/Representante:

**GONZÁLEZ PALMERO, Fe**

ES 2 791 451 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Membrana y método para la conservación de productos agrícolas

5 La presente invención se refiere a una membrana para la conservación de productos agrícolas y, más particularmente, pero no exclusivamente, a una membrana y método para la protección posterior a la cosecha de productos agrícolas contra la descomposición.

10 La industria de frutos de árboles caducifolios y, en particular, la industria de frutos de pepita, frutos de hueso y uva de mesa, es una industria predominantemente orientada hacia la exportación e importación con un volumen de ventas anual significativo. La cadena posterior a la cosecha de la industria de frutos de árboles caducifolios, antes de que el producto agrícola llegue al consumidor, comprende la cosecha, la manipulación, el envasado, el transporte y el almacenamiento del fruto. Se ha identificado a la descomposición durante la cadena posterior a  
15 la cosecha como un factor importante que provoca pérdidas posteriores a la cosecha que podrían convertirse en pérdidas económicas significativas durante la exportación e importación.

20 Dependiendo del tipo de enfermedades o patógenos, el control de la enfermedad posterior a la cosecha se logra normalmente con el tratamiento adecuado aplicado previo a la cosecha y/o posterior a la cosecha mediante diversos mecanismos diferentes, que incluyen el llamado tratamiento por goteo o tratamientos por rociado.

25 Sin embargo, los consumidores generalmente prefieren comprar productos agrícolas cultivados de manera orgánica que son seguros para el consumo porque están libres de tratamiento con pesticidas y fungicidas, y también están libres de defectos y enfermedad. Con este fin, se introdujeron en todo el mundo regulaciones estrictas en relación con los límites máximos de residuos (MRL, por sus siglas en inglés) en la porción comestible del producto agrícola, que tiene un efecto significativo sobre los mercados de importación y exportación. Más allá de la  
30 resistencia de los consumidores a comprar productos agrícolas tratados con pesticidas y fungicidas, la eliminación de grandes volúmenes de disoluciones de inmersión pesticidas y fungicidas también puede afectar de manera nociva al medio ambiente y, más particularmente, al suelo y los recursos hídricos, y es un motivo adicional por el cual esta opción es indeseable.

35 En virtud de las desventajas señaladas anteriormente, se indica una solución alternativa a las aplicaciones de fungicidas y pesticidas posteriores a la cosecha en la industria de productos agrícolas frescos. Entre estos métodos alternativos que se han implementado hasta la fecha, se encuentran ambientes atmosféricos modificados o controlados y agentes de control biológicos. Un método conocido para lograr algo de eliminación microbiana se describe en la solicitud de patente de los Estados Unidos número 2002/0041939 (US'939). Según US'939, un  
40 generador de dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) comprende dos láminas separadas que se pueden conectar entre sí, la disposición es tal que el recubrimiento incorpora una sustancia que, si hay humedad presente, genera dióxido de azufre. La sustancia puede ser metabisulfato de sodio, una mezcla ácida que comprende sulfito de sodio y ácido fumárico, una mezcla ácida que comprende sulfito de sodio y bitartrato de potasio o una mezcla de estas dos mezclas ácidas.  
45 La humedad penetra la lámina y hace reacción con el recubrimiento, a continuación, la presencia de humedad en los compartimientos que contienen una sustancia en polvo genera dióxido de azufre.

50 La solicitud de patente de los Estados Unidos número 2004/0034149 (US'149) describe una película plástica que tiene incorporada en la película al menos un aceite esencial. US'149 explica la utilización de las películas como bolsas previo a la cosecha, tales como bolsas para bananas para proteger el fruto en el árbol, o como películas o bolsas de cosecha para repeler

bichos e insectos que ingresan a los contenedores de recolección de cosecha. Una aplicación adicional de la película es en la fabricación de una bolsa para uso posterior a la cosecha para conservar el producto agrícola cuando se transporta hacia el mercado, como revestimientos en cajas o contenedores para enviar el producto agrícola, o como láminas que cubren el producto agrícola y, en particular, frutos, para protegerlos contra insectos.

Una desventaja experimentada con las películas, láminas y bolsas plásticas, según se explica en US'149, es que las láminas no permiten que la humedad liberada a partir de los frutos por la respiración natural se absorba o elimine, y la humedad acumulada sobre la superficie de la película o el interior de la bolsa crea un ambiente favorable para el desarrollo de patógenos, tales como hongos y microbios.

### Objeto de la invención

Por consiguiente, un objeto de la presente invención es proporcionar una membrana y método para la protección de productos agrícolas durante la cadena posterior a la cosecha con los cuales se podría al menos parcialmente superar o aliviar las desventajas señaladas anteriormente y, en particular, las desventajas asociadas al uso de pesticidas y fungicidas, además de ayudar a garantizar que la desventaja de la mayor exposición del producto agrícola a la humedad se supere o alivie.

### Compendio de la invención

Según un primer aspecto de la invención, se proporciona una membrana para la conservación de productos agrícolas según la reivindicación 1.

Además, según el primer aspecto de la invención, el compuesto volátil antimicrobiano puede ser un aceite esencial o mezcla de aceites esenciales seleccionados del grupo que consiste en aceites esenciales de citronela, menta piperita, limón, lima, citronela, clavo de olor, tomillo, naranja dulce, mandarina, lavanda, eucalipto, jengibre, romero y árbol del té.

Todavía adicionalmente según el primer aspecto de la invención, la zeolita puede comprender una formulación de  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  y  $\text{SiO}_2$  que tiene una relación molar de 1 de  $\text{Na}_2\text{O}$  : 1 de  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , y la relación molar entre  $\text{Na}_2\text{O}$  y  $\text{SiO}_2$  puede estar en el intervalo molar de 1 de  $\text{Na}_2\text{O}$  : 2,6 a 3 de  $\text{SiO}_2$ . La zeolita puede estar en forma de perla o polvo, donde las perlas son la forma preferida, y el tamaño de las perlas puede variar entre malla 4-12, con un diámetro de poro que varía entre 6-12 Å. La zeolita puede tener una capacidad equivalente a  $\text{H}_2\text{O}$  que varía entre 28 a 30% del peso total de la perla.

Todavía adicionalmente según el primer aspecto de la invención, el vehículo puede ser un polvo de sílice y el agente hidrófilo puede ser un polímero hidrófilo y, más particularmente, hidroxilpropilmetilcelulosa. El polímero puede ser polietileno de baja densidad (LDPE, por sus siglas en inglés).

Todavía adicionalmente según el primer aspecto de la invención, el producto agrícola puede ser fruto de árbol caducifolio y, más particularmente, cualquier fruto de árbol caducifolio seleccionado del grupo que consiste en fruto de pepita, fruto de hueso o uvas de mesa. Los elementos microbianos pueden ser hongos o bacterias y, más particularmente, *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* y *Neofabraea alba*.

Todavía adicionalmente según el primer aspecto de la invención, en donde la membrana se puede usar en la fabricación de cualquier elemento seleccionado del grupo que consiste en

bolsas para producto agrícola para alojar o transportar producto agrícola, o revestimientos o láminas para su colocación en contenedores para producto agrícola.

5 Según un segundo aspecto de la invención, se proporciona un método para la conservación de productos agrícolas según la reivindicación 12.

### **Descripción de una realización preferida de la invención**

10 Los protectores vegetales naturales, tales como aceites esenciales y sus principales componentes, exhiben actividades antimicrobianas y, en particular, actividades antifúngicas y baja toxicidad para mamíferos y son más respetuosos con el medio ambiente y, por lo tanto, podrían usarse como alternativas para fungicidas y pesticidas químicos. Los aceites esenciales se conocen como antioxidantes naturales con propiedades antimicrobianas, en particular, antifúngicas y biodegradables documentadas, y no dejan ningún efecto residual nocivo, tales  
15 como descoloración o regusto en el producto agrícola fresco.

Los aceites esenciales y sus componentes son alternativas populares a métodos y productos de conservación de producto agrícola debido a su naturaleza volátil, que posibilita el uso de concentraciones relativamente pequeñas. Además, los consumidores están generalmente más  
20 inclinados a aceptar aceites esenciales como conservantes porque se usan ampliamente en prácticas culinarias generales, incluso como agentes saborizantes, y su seguridad para el consumo humano ya se ha establecido en virtud de su clasificación GRAS (generalmente reconocido como seguro) otorgada por el Administración de Fármaco y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos.

25 La invención, por consiguiente, se centra en la utilización óptima de aceites esenciales como una alternativa a métodos y productos conocidos para la conservación de producto agrícola, durante la cadena posterior a la cosecha hasta que llega al consumidor como usuario final.

30 La invención tiene como objetivo lograr este resultado mediante la incorporación de aceites esenciales en una membrana que se puede utilizar en la fabricación de bolsas para producto agrícola o, alternativamente, como revestimientos o láminas que se pueden colocar en contenedores para producto agrícola, tales como cajas o cajones. La membrana, por consiguiente, comprende primera y segunda capas externas que consisten en un polímero, con  
35 al menos una de las capas que se impregna con un agente hidrófilo, tal como hidroxilpropilmetilcelulosa, para la formación de compartimientos hidrófilos en la primera y segunda capas para aumentar la permeabilidad de la primera y segunda capas a la humedad. La membrana comprende, además, una capa interna dispersada entremedio de las capas externas, la capa interna consiste en un polietileno de baja densidad (LDPE) que se impregna  
40 con sílice e incorpora un aceite esencial dentro de la capa interna, la capa interna incluye, además, zeolita.

Durante el uso, la membrana se coloca próxima al fruto u otro producto agrícola para conservarlo, la disposición es tal que después de la liberación de humedad a partir del fruto  
45 debido a la respiración natural, la humedad pasa a través de los compartimientos hidrófilos en al menos una de la primera y segunda capas externas hacia la capa interna, a continuación, la zeolita absorbe la humedad, que provoca que se produzca una reacción por la cual aumenta la temperatura de la zeolita. El aumento en la temperatura, a su vez, activa la liberación del aceite esencial volátil, que actúa como biofumigante y, en última instancia, facilita la conservación del  
50 producto agrícola mediante la eliminación de elementos microbianos circundantes.

La forma preferida de la zeolita es la forma de esta comercialmente conocida como zeolita de tamiz molecular 13X, que se puede obtener de Sigma Aldrich, como proveedor con el código de producto 283592 y número de CAS 63231-69-6. La zeolita 13X es una formulación de  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  y  $\text{SiO}_2$  que tiene una relación molar de 1 de  $\text{Na}_2\text{O}$  : 1 de  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , y la relación molar entre  $\text{Na}_2\text{O}$  y  $\text{SiO}_2$  puede estar en el intervalo molar de 1 de  $\text{Na}_2\text{O}$  : 2,6 a 3 de  $\text{SiO}_2$ . Se prefiere la forma de perla de la 13X zeolita y el tamaño de las perlas varía entre malla 4-12, con un diámetro de poro que varía entre 6-12 Å. La zeolita 13X tiene una capacidad equivalente a  $\text{H}_2\text{O}$  que varía entre 28 a 30% del peso total de la perla.

10 A la membrana multicapa de polietileno de baja densidad (LDPE) se incorpora una mezcla preferida de aceites esenciales tomados a una relación másica y concentraciones diferentes (es decir, sistemas de aceites de citronela y menta piperita o aceites de citronela más limón) por medio de un proceso de coextrusión. La mezcla de aceites primero se adsorbe en un polvo de sílice antes de combinarse con LDPE pulverizado y zeolita 13X. A continuación, la mezcla  
15 se alimenta en la tolva de una línea de extrusión central de un soplador de película Scientific, mientras que gránulos de LDPE combinados con un polímero hidrófilo (hidroxilpropilmetilcelulosa) se alimentan en las líneas externas. La temperatura de las diferentes líneas de extrusión se mantiene a 140°C, y la membrana se jala a una velocidad de 5 m/min mientras se mantiene la presión de soplado a 215 kPa. El ancho de la película producida  
20 es de 20 cm en promedio con un espesor promedio de 75 µm cuando se mide por medio de un micrómetro.

Las capas externas en la membrana proporcionan la liberación multidireccional de los aceites esenciales volátiles antimicrobianos. Por consiguiente, se puede incluir una membrana según  
25 la invención entremedio de frutos durante el almacenamiento y la fase de transporte, con el efecto de que el fruto en ambos lados de la membrana estará expuesto a los aceites esenciales volátiles después de la liberación. Una membrana adicional descrita puede incluir una capa no permeable sin compartimientos hidrófilos, cuya capa se puede colocar en cualquier lado de la capa interna para facilitar la liberación unidireccional de aceites esenciales volátiles, si es necesario.  
30

El componente de aceite esencial es cualquier aceite esencial o una mezcla de aceites esenciales seleccionados del grupo que consiste en citronela, menta piperita, limón, lima, citronela, clavo de olor, tomillo, naranja dulce, mandarina, lavanda, eucalipto, jengibre, romero,  
35 árbol del té y similares. El solicitante prevé que la membrana se puede usar en forma de bolsa, revestimiento o lámina en la conservación de la mayoría, si no todos los tipos de productos agrícolas frescos, pero se centra específicamente en el fruto de árbol caducifolio y, más particularmente, cualquier fruto de árbol caducifolio seleccionado del grupo que consiste en fruto de pepita, fruto de hueso o uvas de mesa para mercados locales, de importación y  
40 exportación.

Debido al hecho de que la absorción de humedad facilita la liberación del aceite esencial volátil, el efecto antimicrobiano del conservante de aceite esencial se prolonga, en vista de que su liberación se controla. En la ausencia de humedad, la liberación de aceites esenciales  
45 disminuirá y cuando la humedad, que es un catalizador para la descomposición, sea prevalente, la humedad se absorbe y los aceites esenciales se liberan, lo cual limita la descomposición como se estableció en la presente memoria.

Con este fin, se evaluó el efecto de aceites esenciales de citronela, lima y limón a través de  
50 tratamientos de termonebulización y de inmersión o rociado contra *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* y *Neofabraea alba* en las variedades de manzana "Granny Smith", "Golden Delicious" y "Pink Lady". Los frutos tratados se almacenaron en una atmósfera controlada

5 durante 28 días y posteriormente 7 días a 20°C. Las mezclas de aceites esenciales exhibieron la inhibición más alta de *B. cinerea*, *P. expansum* y *N. alba* en los tres cultivares en el tratamiento de termonebulización. En el caso del tratamiento por inmersión de los frutos, los fungicidas y aceites esenciales proporcionaron la mejor inhibición de *B. cinerea*, *P. expansum* y *N. alba* en los tres cultivares en comparación con los tratamientos testigo (agua). Los resultados confirman la posibilidad de usar aceites esenciales en combinación con atmósfera controlada como fumigantes naturales para controlar las enfermedades posteriores a la cosecha de las manzanas. Estudios con microscopía óptica mostraron que el aceite esencial de citronela daña la membrana citoplasmática microbiana y provoca una clara separación entre el citoplasma y la pared celular. La composición química de los aceites esenciales de limón, lima y citronela se analizaron mediante el uso de cromatografía de gases (GC, por sus siglas en inglés)-espectrometría de masas (MS, por sus siglas en inglés). El análisis de espectrometría GC-MS exhibió 45 componentes en el aceite esencial de limón, donde limoneno (58,52%) y gama-terpineno (19,80%) son los principales compuestos. La lima exhibió 20 componentes de los cuales el limoneno (79,00%) y el gama-terpineno (11,22%) constituyeron los compuestos abundantes. El pastó limón reveló 27 componentes, de los cuales el geranial 48,14% y el neral 38,32% constituyeron los compuestos principales.

20 Los resultados obtenidos durante los ensayos de inmersión posteriores a la cosecha de manzanas tratadas con aceites esenciales simples y mezclas de aceites esenciales, que indican la eficacia de los aceites esenciales como biofumigante y agente antimicrobiano aparecen en las Tablas 1 a 3 a continuación.

<b>Microbio: <i>Botrytis cinerea</i></b>			
		<b>Variedad de manzana</b>	
		<b>"Golden Delicious"</b>	<b>"Pink Lady"</b>
			<b>"Granny Smith"</b>

25

<b>Microbio: <i>Botrytis cinerea</i></b>				
		<b>Variedad de manzana</b>		
<b>Tratamiento</b>	Testigo (agua)	0	0	0
	Etanol	13,98	2,88	16,53
	Limón	62,42	63,22	65,45
	Lima	82,79	82,44	65,93
	Citronela	87,08	81,16	68,93
	Limón + Citronela	88,26	82,78	84,01
	Lima + Citronela	88,54	83,17	87,17

Tabla 1: Tratamiento de las variedades de manzana "Golden Delicious", "Pink Lady" y "Granny Smith" contra *Botrytis cinerea*, con eficacia antimicrobiana indicada como valor porcentual.

<b>Microbio: <i>Penicillium expansum</i></b>				
		<b>Variedad de manzana</b>		
<b>Tratamiento</b>		<b>"Golden Delicious"</b>	<b>"Pink Lady"</b>	<b>"Granny Smith"</b>
	Testigo (agua)	0	0	0
	Etanol	18,07	0,16	18,75
	Limón	42,25	53,18	59,68
	Lima	47,59	63,55	61,51
	Citronela	60,11	69,91	70,71
	Limón + Citronela	64,07	74,74	70,95
	Lima + Citronela	65,02	71,72	76,93

Tabla 2: Tratamiento de las variedades de manzana "Golden Delicious", "Pink Lady" y "Granny Smith" contra *Penicillium expansum*, con eficacia antimicrobiana indicada como valor porcentual.

<b>Microbio: <i>Neofabraea alba</i></b>				
		<b>Variedad de manzana</b>		
<b>Tratamiento</b>		<b>"Golden Delicious"</b>	<b>"Pink Lady"</b>	<b>"Granny Smith"</b>
	Testigo (agua)	0	0	0
	Etanol	10,41	19,25	21,87
	Limón	71,93	74,43	51,16
	Lima	79,51	75,77	56,37
	Citronela	80,13	75,98	56,37
	Limón + Citronela	84,92	84,25	58,94
	Lima + Citronela	82,69	79,88	64,77

Tabla 3: Tratamiento de las variedades de manzana "Golden Delicious", "Pink Lady" y "Granny Smith" contra *Neofabraea alba*, con eficacia antimicrobiana indicada como valor porcentual.

Las mezclas de aceites esenciales de citronela, menta piperita y limón también se evaluaron para determinar la actividad contra *Botrytis cinerea* en condiciones *in vivo* en los cultivares de uva de mesa "Victoria" y "Red Globe" para el desarrollo de un sistema de control biológico para el control de la putrefacción por Botrytis de las uvas de mesa, al impregnar una membrana con estas mezclas de aceites esenciales. Se llevaron a cabo ensayos no inoculados e inoculados. Se usaron para los ensayos dos combinaciones de aceites esenciales, a saber, citronela al 1,25% + menta piperita al 1,25% y citronela al 1,25% + limón al 18,75% cargados al 2 y 5% en peso por lámina. Las láminas de liberación controlada se usaron en combinación de envasado de atmósfera modificada (MAP, por sus siglas en inglés), atmósfera normal (RA, por sus siglas en inglés) y atmósfera controlada (CA, por sus siglas en inglés - O<sub>2</sub> al 5% + CO<sub>2</sub> al 10%).

Para los ensayos no inoculados, las uvas se envasaron en una caja de 4,5 kg con 5-7 racimos por caja. Se evaluaron dieciséis combinaciones de tratamiento, como se muestra en la Tabla 4 más adelante. Se colocaron dos láminas impregnadas encima y por debajo de las uvas en las cajas y se almacenaron en RA, CA o en MAP de Life Span. El material del envase interno incluye una lámina de absorción de humedad y bolsas de alojamiento de racimo. Las cajas solo con láminas de SO<sub>2</sub> y sin láminas con aceite impregnado representan las cajas de cartón testigo. Las cajas de cartón para frutos se almacenaron a RA, CA y en revestimientos de MAP de Life Span durante 4 semanas a -0,5°C y tiempo de conservación de 5 días a 15°C. Después de retirar del almacenamiento frío, las cajas de cartón de uvas se pasaron a 15°C y se almacenaron con o sin láminas para determinar la eficacia sobre el desarrollo de descomposición y la calidad (gusto extraño). Cada racimo se examinó para determinar la descomposición y los posibles gustos extraños.

<b>Leyenda</b>	<b>Combinaciones de aceites esenciales</b>	<b>Concentraciones (%) cargadas</b>
P1C1RA	citronela al 1,25% + menta piperita al 1,25%	2
P1C2RA	citronela al 1,25% + menta piperita al 1,25%	5
P1C1CA	citronela al 1,25% + menta piperita al 1,25%	2
P1C2CA	citronela al 1,25% + menta piperita al 1,25%	5
P1C1MAP	citronela al 1,25% + menta piperita al 1,25%	2
P1C2MAP	citronela al 1,25% + menta piperita al 1,25%	5
P2C1RA	Citronela al 1,25% + limón al 18,75%	2
P2C2RA	Citronela al 1,25% + limón al 18,75%	5

P2C1CA	Citronela al 1,25% + limón al 18,75%	2
P2C2CA	Citronela al 1,25% + limón al 18,75%	5
P2C1MAP	Citronela al 1,25% + limón al 18,75%	2
P2C2MAP	Citronela al 1,25% + limón al 18,75%	5
Testigo de RA		0
Testigo de CA		0
Testigo de MAP		0
SO <sub>2</sub> + RA		0

Tabla 4: Diferentes mezclas de aceites esenciales utilizadas y concentraciones aplicadas durante el estudio.

5 Para el ensayo con "Victoria" no inoculada, una combinación de combinaciones de aceites esenciales con MAP exhibió la incidencia de descomposición más baja, en comparación con el tratamiento con SO<sub>2</sub> estándar. Una combinación de RA con combinaciones de aceites

10 esenciales no controló la descomposición ni suprimió el desarrollo de descomposición. Aunque se logró un control de la descomposición significativo, los resultados mostraron que la adición de láminas de liberación controladas de combinaciones de aceites esenciales a MAP condujo a gusto extraños moderados-graves. Una combinación de citronela y limón a RA (P2RAC1) redujo significativamente la incidencia de la descomposición durante el período de tiempo de conservación sin ningún gusto extraño. Aunque los tratamientos estándares con SO<sub>2</sub> y CA exhibieron un control de la descomposición más bajo, los tratamientos no difirieron significativamente con respecto al tratamiento con combinación de aceites esenciales.

Tratamiento	Descomposición (%)	Gusto extraño
P1C1RA	6,85	Ligero a moderado
P1C2RA	13,71	Ligero
P1C1CA	5,31	Ligero a moderado

Tratamiento	Descomposición (%)	Gusto extraño
P1C2CA	6,13	Ligero
P1C1MAP	0,41	Moderado a grave
P1C2MAP	1,23	Moderado a grave
P2C1RA	11,50	No afectado
P2C2RA	13,62	Ligero
P2C1CA	3,96	Ligero
P2C2CA	4,68	Ligero a moderado
P2C1MAP	0,29	Moderado
P2C2MAP	0,22	Moderado a grave
Testigo de RA	24,20	No afectado
Testigo de CA	4,50	No afectado
Testigo de MAP	0,38	No afectado
SO <sub>2</sub> + RA	7,77	No afectado

Tabla 5: Efecto de dos bio productos en dos concentraciones sobre el control de la descomposición y la calidad comestible de las uvas de mesa "Victoria" no inoculadas después de un período de almacenamiento de 4 semanas a -0,5°C y sometidas a un tiempo de conservación de 5 días a 15°C.



- 5 Para los ensayos con "Red Globe" no inoculada, una combinación de citronela y menta piperita con MAP o CA y citronela y limón en ambas concentraciones (2 o 5%) con MAP o CA redujo significativamente el desarrollo fúngico en comparación con el tratamiento con SO<sub>2</sub>. Sin embargo, después de probar las uvas, se detectó la persistencia de su aroma característico. Se observó que más combinaciones de aceites esenciales ya sea a 2 o 5% en combinación con CA o RA resultaron en una reducción significativa del desarrollo de descomposición en comparación con el tratamiento con SO<sub>2</sub> estándar sin provocar ningún gusto extraño.

Tratamiento	Descomposición (%)	Gusto extraño
P1C1RA	4,43	Ligero a moderado
P1C2RA	3,47	Ligero
P1C1CA	1,87	Moderado
P1C2CA	1,50	No afectado
P1C1MAP	0,85	Moderado a grave
P1C2MAP	1,53	Ligero
P2C1RA	3,09	No afectado
P2C2RA	1,01	No afectado
P2C1CA	4,02	No afectado
P2C2CA	2,60	No afectado
P2C1MAP	0,90	Moderado
P2C2MAP	3,96	Moderado
Testigo de RA	3,80	No afectado
Testigo de CA	1,05	No afectado
Testigo de MAP	1,19	No afectado
SO <sub>2</sub> + RA	8,22	No afectado

Tabla 6: Efecto de dos bio productos en dos concentraciones sobre el control de la descomposición y la calidad comestible de las uvas de mesa "Red Globe" no inoculadas después de un período de almacenamiento de 4 semanas a -0,5°C y sometidas a un tiempo de conservación de 5 días a 15°C.

- 10 Para los ensayos con uvas inoculadas, los frutos se desinfectaron con etanol (70%) e hipoclorito de sodio (0,2%) durante 2 min, se secaron con aire y a continuación se lesionaron (3 x 1 mm) con una aguja estéril. Los frutos lesionados se rociaron con una suspensión de esporas de patógeno (10<sup>4</sup> ufc mL<sup>-1</sup>) y se dejaron secar para iniciar la infección. Los patógenos se rociaron sobre la superficie de los racimos a través de un compresor durante 10-15 min.
- 15 Los racimos se envasaron en una caja de 4,5 kg con 5-7 racimos. Se evaluaron dieciséis combinaciones de tratamiento. Se colocaron láminas impregnadas encima y por debajo de las uvas en las cajas y se almacenaron en RA, CA o en MAP de Life Span. El material del envase interno incluye una lámina de absorción de humedad y bolsas de alojamiento de racimo. Las cajas solo con láminas de SO<sub>2</sub> y sin láminas con aceite impregnado representan las cajas de cartón testigo. Las cajas de cartón para frutos se almacenaron a RA, CA y en revestimientos de MAP de Life Span durante 4 semanas a -0,5°C y tiempo de conservación de 5 días a 15°C.
- 20 Después de retirar del almacenamiento frío, las cajas de cartón de uvas se pasaron a 15°C y se almacenaron con o sin láminas para determinar la eficacia sobre el desarrollo de descomposición y el gusto extraño. Cada racimo de las uvas inoculadas se examinó para determinar la descomposición y los posibles gustos extraños.
- 25 Para el ensayo con "Victoria" inoculada, una combinación de combinaciones de aceites esenciales con MAP inhibió significativamente el desarrollo fúngico en comparación con los otros tratamientos. La adición de combinaciones de aceites esenciales al envasado (MAP) condujo a gustos extraños. Las combinaciones de aceites esenciales (citronela y limón a 2/5%)

evaluadas en combinación con RA resultaron en una reducción significativa del desarrollo de descomposición fúngica en comparación con el tratamiento con SO<sub>2</sub> estándar sin provocar ningún gusto extraño.

Tratamiento	Descomposición (%)	Gusto extraño
P1C1RA	15,35	Moderado
P1C2RA	17,65	Moderado a grave
P1C1CA	7,69	Ligero a moderado
P1C2CA	8,80	Ligero a moderado
P1C1MAP	7,59	Moderado a grave
P1C2MAP	5,54	Moderado a grave
P2C1RA	23,51	No afectado
P2C2RA	22,85	No afectado
P2C1CA	10,57	Ligero a moderado
P2C2CA	15,41	Moderado a grave
P2C1MAP	3,48	Moderado a grave
P2C2MAP	1,30	Moderado a grave
Testigo de RA	35,36	No afectado
Testigo de CA	6,97	No afectado
Testigo de MAP	0,96	No afectado
SO <sub>2</sub> + RA	10,75	No afectado

Tabla 7: Efecto de dos bio productos en dos concentraciones sobre el control de la descomposición y la calidad comestible de las uvas de mesa "Victoria" inoculadas después de un período de almacenamiento de 4 semanas a -0,5°C y sometidas a un tiempo de conservación de 5 días a 15°C.

5 Para los ensayos con "Red Globe" inoculada, una combinación de citronela y menta piperita al 2% y citronela y limón al 2 o 5% combinación con CA o MAP inhibió significativamente el desarrollo de descomposición en comparación con el tratamiento con SO<sub>2</sub>. Aunque los tratamientos exhibieron la incidencia más baja de descomposición, causaron gusto extraño moderado. Además, una combinación de citronela y menta piperita al 5% con CA, citronela y limón a 2% con CA, citronela y limón a 5% con MAP y citronela y limón al 5% con CA resultó en una reducción significativa de la descomposición sin causar ningún gusto extraño en las uvas.

Tratamiento	Descomposición (%)	Gusto extraño
P1C1RA	2,37	Ligero a moderado
P1C2RA	10,28	No afectado
P1C1CA	4,59	Ligero
P1C2CA	1,63	No afectado
P1C1MAP	4,86	Moderado
P1C2MAP	4,33	No afectado
P2C1RA	11,46	No afectado
P2C2RA	12,50	No afectado
P2C1CA	3,60	No afectado
P2C2CA	5,32	No afectado
P2C1MAP	2,81	Moderado
P2C2MAP	3,96	Ligero a moderado
Testigo de RA	17,78	No afectado
Testigo de CA	6,08	No afectado

Testigo de MAP	4,08	No afectado
SO <sub>2</sub> + RA	6,65	No afectado

Tabla 8: Efecto de dos bio productos en dos concentraciones sobre el control de la descomposición y la calidad comestible de las uvas de mesa "Red Globe" inoculadas después de un período de almacenamiento de 4 semanas a -0,5°C y sometidas a un tiempo de conservación de 5 días a 15°C.

5 Los mejores tratamientos para "Victoria" y "Red Globe" también se compararon y una combinación de citronela y limón al 2% con RA en los ensayos no inoculados para ambos cultivares tuvo el mejor desempeño en relación con la reducción del desarrollo fúngico sin causar ningún gusto extraño. Una combinación de citronela y limón al 2 o 5% con RA en el ensayo inoculado resultó en una reducción significativa de la descomposición para ambos cultivares sin causar ningún gusto extraño. Los resultados del estudio mostraron que más combinaciones de aceites esenciales fueron eficaces con el cultivar "Red Globe" en comparación con el cultivar "Victoria". El(los) mecanismo(s) de acción antifúngico(s) exacto(s) de los aceites esenciales contra hongos todavía no se ha dilucidado, podría deberse a sus componentes más abundantes, especialmente compuestos fenólicos. Los componentes fenólicos disponibles en aceites esenciales que tienen un carácter lipófilo actúan en la pared celular e interfieren en la acción de enzimas catalizadas en la membrana y enzimas responsables de la producción de energía y proteínas y, en consecuencia, provocan la destrucción celular.

20 La invención también proporciona un método para la conservación de productos agrícolas, que comienza con la impregnación de un lote de polietileno de baja densidad (LDPE) con un agente hidrófilo, tal como hidroxilpropilmetilcelulosa, para formar una primera mezcla, y la impregnación de un segundo lote de LDPE con un vehículo en forma de sílice, un compuesto volátil antimicrobiano en forma de un aceite esencial y un agente de absorción, tal como zeolita y, preferiblemente, zeolita 13X disponible comercialmente, para formar una segunda mezcla. La primera y segunda mezclas se introducen en un soplador de película y se extruye una membrana de tres capas a partir del soplado de película por medio de un proceso de coextrusión, de manera que la primera mezcla se extruye en dos capas externas con compartimientos hidrófilos en ellas, y la segunda mezcla se extruye para formar una capa interna dispuesta entremedio de las capas externas. Los productos agrícolas se conservan según este método al colocar la membrana de tres capas próxima al producto agrícola que se va a conservar, y dejar que la humedad liberada a partir del producto agrícola pase a través de los compartimientos hidrófilos en la membrana de tres capas y se absorba mediante la zeolita ubicada en la capa interna. La zeolita se activa mediante la absorción de la humedad, lo que provoca un aumento en la temperatura en la zeolita que, a su vez, facilita la liberación de aceites esenciales antimicrobianos en la atmósfera que rodea al producto agrícola, los cuales eliminar los elementos microbianos circundantes.

35 La actividad antifúngica de los aceites esenciales durante la fase de vapor admite la aplicación de aceites esenciales como biofumigantes para controlar las enfermedades posteriores a la cosecha en frutos que no se pueden someter a una limpieza acuosa en la línea de envasado o en cualquier otra parte en la cadena posterior a la cosecha.

40 Por consiguiente, se afirma que las desventajas presentadas por los tratamientos y métodos conocidos para la conservación de productos agrícolas se pueden superar al menos parcialmente mediante la membrana y método según la invención.

En particular, la desventaja de tener que usar y desechar pesticidas, fungicidas u otras sustancias químicas posiblemente peligrosos para la conservación de los productos agrícolas se supera al proporcionar una alternativa orgánica viable y rentable.

- 5 La desventaja de la formación de humedad próxima al producto agrícola que se va a conservar, que de hecho facilita la descomposición acelerada del producto agrícola, como se presenta en US'149, se supera mediante la membrana y método según la invención que proporcionan una vía para la absorción de humedad adicional.

10

## REIVINDICACIONES

1. Una membrana para la conservación de productos agrícolas que comprende:  
 - primera y segunda capas poliméricas externas; y  
 5 - una capa interna dispersada entremedio de las capas externas, la capa interna que comprende un polímero y un vehículo para la incorporación de un compuesto volátil antimicrobiano en la capa interna; caracterizada porque  
 - las capas poliméricas externas se impregnan con un agente hidrófilo para la formación de compartimientos hidrófilos en las capas poliméricas externas para aumentar la permeabilidad  
 10 de las capas poliméricas externas impregnadas con el agente hidrófilo a la humedad; y  
 - la capa interna consiste en un polímero impregnado con un vehículo que incorpora un compuesto volátil antimicrobiano en forma de un aceite esencial dentro de la capa interna, la capa interna incluye, además, zeolita como un agente de absorción,  
 15 la disposición es tal que después de la liberación de humedad a partir del producto agrícola próximo a la membrana debido a la respiración natural, la humedad pasa a través de los compartimientos hidrófilos en la primera y segunda capas externas hacia la capa interna, a continuación, el agente de absorción absorbe la humedad, que provoca que aumente la temperatura del agente de absorción y, a su vez, se active la liberación del compuesto volátil antimicrobiano para facilitar así la conservación del producto agrícola mediante la eliminación  
 20 de los elementos microbianos circundantes.
2. Una membrana para la conservación según la reivindicación 1, en donde el aceite esencial es un aceite esencial o una mezcla de aceites esenciales seleccionados del grupo que consiste  
 25 en citronela, menta piperita, limón, lima, citronela, clavo de olor, tomillo, naranja dulce, mandarina, lavanda, eucalipto, jengibre, romero y árbol del té.
3. Una membrana para la conservación de productos agrícolas según la reivindicación 1 o 2, en donde la zeolita comprende una formulación de  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  y  $\text{SiO}_2$  que tiene una relación molar de 1 de  $\text{Na}_2\text{O}$  : 1 de  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , y una relación molar entre  $\text{Na}_2\text{O}$  y  $\text{SiO}_2$  que está en el  
 30 intervalo molar de 1 de  $\text{Na}_2\text{O}$  : 2,6 a 3 de  $\text{SiO}_2$ .
4. Una membrana para la conservación de productos agrícolas según cualquier reivindicación anterior, en donde la zeolita está en la forma seleccionada de forma de perla o forma de polvo.
- 35 5. Una membrana para la conservación de productos agrícolas según la reivindicación 4, en donde el tamaño de las perlas individuales varía entre malla 4-12, con un diámetro de poro que varía entre 6-12 Å.
6. Una membrana para la conservación de productos agrícolas según una cualquiera de las  
 40 reivindicaciones 4 o 5, en donde la zeolita tiene una capacidad equivalente a  $\text{H}_2\text{O}$  que varía entre 28 a 30% del peso total de la perla.
7. Una membrana para la conservación de productos agrícolas de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el vehículo es sílice en polvo.  
 45
8. Una membrana para la conservación de productos agrícolas según la reivindicación 7, en donde el agente hidrófilo es hidroxilpropilmetilcelulosa.
9. Uso de una membrana según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para la  
 50 conservación de productos agrícolas, en donde el producto agrícola es cualquier fruto de árbol

caducifolio seleccionada del grupo que consiste en fruto de pepita, fruto de hueso o uvas de mesa.

- 5 10. Uso de una membrana según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores para la conservación de productos agrícolas, en donde los elementos microbianos pueden ser hongos o bacterias y, más particularmente, *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* y *Neofabraea alba*.
- 10 11. Uso de membrana para la conservación de productos agrícolas según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la fabricación de cualquier elemento seleccionado del grupo que consiste en bolsas para producto agrícola para alojar o transportar producto agrícola, o revestimientos o láminas para su colocación en contenedores para producto agrícola.
- 15 12. Un método para conservar productos agrícolas, el método incluye las etapas de:
- impregnar un primer material polimérico con un agente hidrófilo para formar una primera mezcla;
  - impregnar un segundo material polimérico con un vehículo, un agente de absorción en forma de una zeolita y un compuesto volátil antimicrobiano en forma de un aceite esencial para formar una segunda mezcla;
  - introducir la primera y segunda mezclas en un soplador de película;
  - 20 - extruir una membrana de tres capas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 a partir del soplado de película por medio de un proceso de coextrusión, de manera que la primera mezcla se extruye en dos capas externas con compartimentos hidrófilos en ellas, y la segunda mezcla se extruye para formar una capa interna dispuesta entremedio de las capas externas;
  - colocar la membrana de tres capas próxima a producto agrícola que se va a conservar;
  - 25 - dejar que la humedad liberada a partir del producto agrícola pase a través de los compartimentos hidrófilos en la membrana de tres capas y se absorba mediante el agente de absorción de la capa interna;
  - activación del agente de absorción por la absorción de la humedad, lo que provoca un aumento en la temperatura;
  - 30 - liberación del compuesto volátil antimicrobiano en la atmósfera que rodea al producto agrícola; y conservación del producto agrícola mediante la eliminación de elementos microbianos circundantes.