



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**RECUBRIMIENTO COMESTIBLE DE PECTINA DE TEJOCOTE Y
CERA DE CANDELILLA PARA LA CONSERVACIÓN
DE HONGO SETA (*Pleurotus ostreatus*)
MÍNIMAMENTE PROCESADO**

T E S I S

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**



PRESENTA:

MARÍA AZALIA LOZANO GRANDE



Enero de 2014

Chapingo, Estado de México

**RECUBRIMIENTO COMESTIBLE DE PECTINA DE TEJOCOTE Y CERA DE
CANDELILLA PARA LA CONSERVACIÓN DE HONGO SETA
(*Pleurotus ostreatus*) MÍNIMAMENTE PROCESADO**

Tesis realizada por **María Azalia Lozano Grande**, bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN
CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**

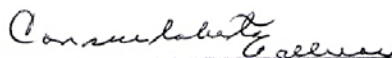
COMITÉ ASESOR



DR. SALVADOR VALLE GUADARRAMA
CO-DIRECTOR



DR. ELEAZAR AGUIRRE MANDUJANO
CO-DIRECTOR



DR. CONSUELO LOBATO CALLEROS
ASESOR



DR. MA. CARMEN YBARRA MONCADA
ASESOR

CHAPINGO, EDO. MÉXICO, ENERO DE 2014

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento para la realización de esta investigación.

A la Universidad Autónoma Chapingo, al Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria y al Departamento de Ingeniería Agroindustrial por el apoyo brindado durante estos dos años en mi formación académica.

Al Dr. Salvador Valle Guadarrama en la dirección de este proyecto, sobre todo su total respaldo y confianza en la culminación de la investigación.

A Dra. Carmen Ybarra Moncada por su valioso aporte, comprensión y confianza en el desarrollo de esta tesis.

Al Dr. Eleazar Aguirre Mandujano y Dra. Consuelo Lobato Calleros por la revisión y aporte fundamental en la mejora de esta investigación.

A la Universidad Tecnológica de Huejotzingo Puebla, en especial a la C. Fabiola Huelitl Palacios por su gran apoyo y trabajo en la fase experimental de esta investigación.

A todos mis compañeros de la 10ª generación **2011-2013**.

Dedicatoria

***A mis padres José Germán Lozano Báez y Araceli Grande,
por su infinito amor y empeño para que me supere día a día***

***A José Carlos Meneses Reyes por el amor que me has
brindado en todas las formas que pueda existir***

DATOS BIOGRÁFICOS

María Azalia Lozano Grande realizó sus estudios de licenciatura en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo, obtuvo el título en el año 2001 con la tesis denominada “Caracterización fisiológica de frutos de zapote blanco (*Casimiroa edulis* Llave & Lex.)”. En su experiencia laboral se ha desempeñado en empresas privadas del sector postcosecha y procesamiento de frutas selectas de exportación: Grupo Promotor Marketing S.A. de C.V. (2003) y COCANMEX S.A. de C.V. (2006), desarrollándose en áreas de Control de Calidad e Inocuidad Alimentaria. Posteriormente en el 2010 laboró para la empresa de Consultoría, Capacitación y Certificación en Sistemas de Inocuidad Alimentaria (PROSESICA) para empaques de mango del estado de Michoacán.

**RECUBRIMIENTO COMESTIBLE DE PECTINA DE TEJOCOTE Y CERA DE
CANDELILLA EN LA CONSERVACIÓN DE HONGO SETA (*Pleurotus ostreatus*)
MÍNIMAMENTE PROCESADO**

**EDIBLE COATING OF TEJOCOTE PECTIN AND CANDELILLA WAX IN
CONSERVATION OF MINIMALLY PROCESSED MUSHROOM (*Pleurotus ostreatus*)**

María-Azalia-Lozano-Grande, Salvador-Valle-Guadarrama, Eleazar-Aguirre-Mandujano, Ma. Carmen- Ybarra-Moncada,
Consuelo-Lobato-Calleros

RESUMEN

El hongo *Pleurotus ostreatus* es un alimento muy nutritivo con gran potencial de comercialización, sin embargo está limitado por ser altamente perecedero y la poca información de otras tecnologías que incrementen la vida útil. El objetivo de esta investigación fue desarrollar y caracterizar películas de pectina de tejocote (PT55) o pectina comercial (PC) con cera de candelilla, evaluando propiedades viscoelásticas, mecánicas, de barrera, y su uso como recubrimiento para el hongo seta. El tipo y concentración de pectina afectó significativamente ($P \leq 0.05$) las propiedades evaluadas. El recubrimiento con 2% de PT55 y 0.1 CC produjo baja pérdida de peso (1.2%), mayor firmeza de tejido (3N), mayor luminosidad (L^* 78), menor producción de metabolitos anaerobios (6 Mmol/ml), y baja concentración de CO₂ en el envase (2%). Los recubrimientos con PT55 en comparación con PC fueron efectivos, prolongando la vida útil del hongo por 20 días.

Palabras clave: polisacáridos, emulsión o/w, WVP, atmósferas modificadas, calidad postcosecha.

ABSTRACT

The fungus *Pleurotus ostreatus* is a very nutritious food with great marketing potential however it is limited by being a highly perishable product and little information of the other technologies that increase its lifetime. The objective of this research was to develop and characterize films of tejocote pectin (PT55) or commercial pectin (PC) with candelilla wax, which were evaluated by viscoelastic, mechanical and barrier properties, and their use as a coating for the mushroom. The type and concentration of pectin was significant ($P \leq 0.05$) in evaluated properties. The coating with 2 % PT55 and 0.1 CC wax was the one which produced low weight loss (1.2 %) firmer tissue (3N), more luminosity (L^* 78), decreased production of anaerobic metabolites (6 mmol/ml), and low concentration of CO₂ in the package (2%). The PT55 coatings compared with the PC control were effective to preserve fungus extending useful lifetime for 20 days.

Keywords: polysaccharides, o/w, WVP, modified atmospheres, postharvest quality.

CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	JUSTIFICACIÓN.....	4
3.	OBJETIVOS GENERALES.....	7
3.1.	Objetivos particulares	7
4.	REVISIÓN DE LITERATURA	8
4.1.	Origen y distribución de los hongos comestibles.....	8
4.2.	Importancia socioeconómica mundial y nacional	9
4.3.	Morfología y composición nutricional de <i>Pleurotus ostreatus</i>	12
4.4.	Fisiología y bioquímica postcosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	15
4.4.1.	Índices de cosecha.....	15
4.4.2.	Índices de calidad.....	16
4.4.3.	Intensidad respiratoria	19
4.4.4.	Metabolitos anaerobios	20
4.5.	Técnicas de conservación postcosecha.....	21
4.5.1.	Enfriamiento	21
4.5.2.	Atmósferas modificadas	21
4.5.3.	Recubrimientos comestibles.....	22
4.5.3.1.	Importancia y función de los recubrimientos.....	23
4.5.3.2.	Componentes de formación de los recubrimientos.....	24
4.5.4.	Emulsiones.....	33
4.5.5.	Fracción volumétrica	33
4.5.6.	Distribución del tamaño de partícula	34
4.6.	Productos mínimamente procesados.....	36
5.	ELABORACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES A BASE DE EMULSIONES PECTINA DE TEJOCOTE-CERA DE CANDELILLA Y SU CARACTERIZACIÓN	
5.1.	Introducción	38
5.2.	Materiales y Métodos.....	40

5.2.1.	Materiales	40
5.2.2.	Extracción de pectina de tejocote (<i>Crataegus spp.</i>).....	40
5.2.3.	Grado de esterificación	42
5.2.4.	Preparación de las emulsiones y formación del recubrimiento	42
5.2.5.	Caracterización de las emulsiones	45
5.2.5.1.	Determinación del tamaño de gota.....	45
5.2.5.2.	Comportamiento de flujo de las emulsiones.	45
5.2.6.	Caracterización de las películas	46
	Espesor.	46
	Transparencia.	46
5.2.6.1.	Permeabilidad al vapor de agua (PVA).....	47
5.2.6.2.	Propiedades mecánicas.	49
5.3.	Análisis estadístico	50
5.4.	Resultados y discusión	51
5.4.1.	Características de pectina de tejocote ACC55	51
5.4.1.1.	Rendimiento de extracción.	51
5.4.1.2.	Grado de esterificación de PT55 y PC.....	52
5.4.2.	Caracterización de las emulsiones	52
5.4.3.	Comportamiento de flujo de las emulsiones	53
5.4.4.	Tamaño de gota de la emulsión	58
5.4.5.	Caracterización de las películas comestibles	61
5.4.5.1.	Propiedades físicas.	61
5.4.5.2.	Propiedades de barrera.....	63
5.4.5.3.	Propiedades mecánicas.	65
5.4.6.	Análisis de correlación canónica	68
5.5.	Conclusiones	75
6.	APLICACIÓN DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE Y EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO POSTCOSECHA DE HONGO SETA MINIMAMENTE PROCESADO	
6.1.	Introducción	77

6.2.	Materiales y Métodos.....	78
6.2.1.	Material vegetal.....	78
6.2.2.	Acondicionamiento y procesado mínimo de hongo seta (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	78
6.2.3.	Evaluación de características de calidad.....	81
6.2.3.1.	Pérdida de peso.	81
6.2.3.2.	Cambio de color..	82
6.2.3.3.	Firmeza.	82
6.2.3.4.	Sólidos solubles totales.	83
6.2.4.	Evaluación de parámetros químicos.....	83
6.2.4.1.	pH..	83
6.2.4.2.	Acidez titulable.....	83
6.2.4.3.	Etanol y acetaldehído.....	84
6.2.4.4.	Evaluación de la atmósfera interna en el envase.	85
6.3.	Análisis estadístico	85
6.4.	Resultados y discusión	86
6.4.1.	Pérdida de peso	86
6.4.2.	Firmeza	88
6.4.3.	Sólidos solubles totales	90
6.4.4.	Color	93
6.4.5.	pH	96
6.4.6.	Acidez titulable	99
6.4.7.	Metabolitos totales anaerobios (etanol y acetaldehído)	100
6.4.8.	Atmósfera modificada del empaque	102
7.	Conclusiones.....	106
8.	CONCLUSIONES GENERALES.....	107
9.	LITERATURA CITADA	108

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Producción mundial de hongos y trufas comestibles 2011	10
Figura 2. Fisiología de los hongos comestibles.....	13
Figura 3. Potencial de barrera que proporcionan los recubrimientos y películas comestibles	24
Figura 4. Mecanismos de transferencia de moléculas de vapor en recubrimientos emulsificados	35
Figura 5. Estructura química del ácido poligalacturónico y grupos de repetición de la estructura base de la pectina	26
Figura 6. Proceso de extracción de pectina de tejocote	41
Figura 7. Proceso de elaboración de las emulsiones aceite en agua (O/W)....	44
Figura 8. Celdas de permeabilidad para la determinación de PVA de las películas.	49
Figura 9. Prueba de esfuerzo de tensión y punción realizadas a las películas.	50
Figura 10. Fruto y pectina de tejocote de la ACC55 del Banco de Germoplasma de la Universidad Autónoma Chapingo.....	51
Figura 11. Emulsiones preparadas para los tratamientos seleccionados.	53
Figura 12. Comportamiento de la viscosidad aparente de las emulsiones en función de la tasa de corte.	54
Figura 13. Diferentes recubrimientos comestibles a partir de emulsiones O/W	61

Figura 14. Fracción de la estructura canónica mostrando la primera variable canónica de cada grupo y la correlación simple con sus respectivas variables originales	72
Figura 15. Representación de los valores de las dos primeras variables canónicas, obtenidas de 4 variables de “Emulsión 1” y 6 de “P1”, registradas para los 4 tratamientos.	73
Figura 16. Recepción de hongo seta (<i>Pleurotus ostreatus</i> Jacq.) en cámaras frigoríficas de la unidad Plantas Piloto de la UACH.....	78
Figura 17. Procesado mínimo de hongo seta (<i>Pleurotus ostreatus</i>).....	80
Figura 18. Condiciones de higiene de la cámara frigorífica.....	81
Figura 19. Medición de color con equipo Hunter Lab.	82
Figura 20. Determinación de firmeza de hongo seta.	83
Figura 21. Toma de muestra de la atmósfera interna del envase.....	85
Figura 22. Pérdida de peso y firmeza en hongo seta.....	89
Figura 23. Cambio de sólidos solubles	91
Figura 24. Luminosidad y diagrama de cromaticidad	94
Figura 25. Evolución de la apariencia del hongo seta mínimamente procesado.....	97
Figura 26. pH y acidez titulable.....	99
Figura 27. Producción de metabolitos anaerobios	102
Figura 28. Cambios en la concentración de CO ₂ dentro del empaque	103

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Producción Nacional de Hongos y setas.	11
Cuadro 2. Composición de aminoácidos (g/16 g N) de la proteína de <i>Pleurotus ostreatus</i> en comparación con el patrón FAO, proteínas de hongos comestibles y alimentos convencionales.	14
Cuadro 3. Propiedades de la cera de candelilla.	30
Cuadro 4. Formulación de emulsiones aceite en agua con pectina (de tejocote o comercial) y cera de candelilla.	44
Cuadro 5. Parámetros del modelo de Carreau Modificado.	57
Cuadro 6. Diámetro superficial de las gotas de las emulsiones	59
Cuadro 7. Propiedades físicas, mecánicas y de barrera de los recubrimientos formulados con pectina de tejocote y comercial.	62
Cuadro 8. Propiedades mecánicas de los recubrimientos formulados con PT55 y PC.	66
Cuadro 9. Análisis de varianza de las variables respuesta de las características de las emulsiones elaboradas con pectina de tejocote, pectina comercial y cera de candelilla.	68
Cuadro 10. Análisis de varianza para las variables respuesta de las características de los recubrimientos comestibles de pectina de tejocote y pectina comercial con cera de candelilla.	69

Cuadro 11. Coeficientes de correlación entre las propiedades de la emulsión y las propiedades de las películas comestibles.	71
Cuadro 12. Manejo de los diferentes tratamientos aplicados a hongo seta.....	79
Cuadro 13. Análisis de varianza de las variables respuesta en <i>P. ostreatus</i> mínimamente procesado con recubrimiento comestible, almacenados a 4°C.....	86

1. INTRODUCCIÓN

En México, el género *Pleurotus* es conocido con el nombre comercial de “setas”, su cultivo ha adquirido gran relevancia social, económica y ecológica, a nivel nacional e internacional pues constituye un sistema de producción donde se aplican procesos biotecnológicos que pueden desarrollarse a pequeña y gran escala. Su gran riqueza nutricional por el contenido proteínico hace que sea un producto con amplio potencial alimenticio para las tendencias futuras (Sánchez *et al.*, 2007).

Su gran perecibilidad afecta la calidad en fresco (peso, apariencia y textura) por las altas tasas de respiración y procesos fisiológicos que afectan la pérdida de agua por transpiración. La carencia de una piel como barrera a la difusión hace que las setas puedan perder más del 90% del peso durante la cosecha (Mahajan *et al.*, 2008). Su vida útil es de 1-3 días a temperatura ambiente y necesitan un cuidado especial para mantener su calidad especialmente si son procesadas (Oliveira *et al.*, 2012).

Existen varias técnicas para retardar los cambios en la calidad, por ejemplo el uso de envases en atmósfera modificada (AM) acompañado de bajas temperaturas de almacenamiento pueden retardar la senescencia y extender la vida útil. En el caso de las setas, en algunos países se ha demostrado que almacenadas en AM de polipropileno pueden reducir su tasa de velocidad de respiración (Oliveira *et al.*, 2012), sin embargo el control debe ser muy

cuidadoso ya que bajo condiciones pasivas a concentraciones mayores 9% CO₂ pueden acelerar el deterioro.

El uso de recubrimientos comestibles es una alternativa novedosa que ayuda a preservar la calidad de alimentos porque regulan la pérdida de humedad, el intercambio de gases (O₂, CO₂) y aromas. Sin embargo, su funcionalidad dependerá de las necesidades específicas del producto, la composición química y estructural de los polímeros formadores del recubrimiento y las condiciones de almacenamiento (Lin y Zhao, 2007).

Existe una amplia variedad de polímeros para su formulación, como proteínas, polisacáridos y lípidos, solos, o en combinación con aditivos que permiten preservar propiedades nutritivas y enriquecer el valor del alimento (Falguera *et al.*, 2011).

La pectina es un polímero adecuado para la elaboración de recubrimientos comestibles, por sus propiedades biodegradables, biocompatibilidad, comestibilidad, químicas y físicas (como gelificación y permeabilidad a gases) (Espitia *et al.*, 2013). Existen diversas investigaciones con pectinas comerciales las cuales generalmente provienen de cítricos y manzana, sin embargo existe la posibilidad de sustituirlas por aquellas extraídas de otros frutos como el tejocote, donde se ha demostrado son de buena calidad y funcionalidad incluso mejor que las comerciales (Aguirre, 2010). En el Banco de Germoplasma de la Universidad Autónoma Chapingo, se encuentran cerca de 92 accesiones provenientes de diferentes estados de la república (Nieto, 2008), las cuales no existe información de su uso como polímeros, ni de su aplicación en la

elaboración de recubrimientos comestibles; por ello su uso es una alternativa novedosa para el aprovechamiento de este fruto mexicano.

El objetivo de esta investigación fue desarrollar un recubrimiento comestible a base de pectina de tejocote con cera de candelilla, cuyas características y propiedades permitan coadyuvar en la conservación de las setas, combinando técnicas de refrigeración y envase de poliestireno.

La investigación se dividió en dos partes, primero se extrajo la pectina de tejocote de la accesión 55 (PT55) por el método ácido-débil, realizando junto con cera de candelilla emulsiones aceite en agua (O/W); se caracterizaron las propiedades reológicas de la emulsión, mecánicas y de barrera del recubrimiento (Capítulo 1). En la segunda fase se aplicaron cuatro tratamientos sobre hongo mínimamente procesado, evaluando su efecto sobre los parámetros de calidad, atmósfera interna del envase y producción de metabolitos anaerobios.

2. JUSTIFICACIÓN

México, excepcionalmente rico en especies de hongos comestibles y silvestres, es el principal productor en América Latina. Su consumo representa una fuente alimenticia de gran tradición entre la población rural (Sánchez *et al.*, 2007).

Los hongos comestibles pueden ser una alternativa importante para contrarrestar la problemática mundial de disponibilidad de alimento para la población, sin embargo es un cultivo que se encuentra restringido por su alta perecibilidad, altas tasas respiratorias, elevada transpiración y susceptibilidad a la oxidación (Ventura *et al.*, 2011) condicionando la comercialización a mercados regionales (Sánchez *et al.*, 2007).

Algunas formas de presentación en el mercado nacional se dan como hongos secos, deshidratados, y congelados, sin embargo la principal forma es en estado fresco, a granel, en envases de polietileno o en pequeños contenedores de cartón (Sánchez *et al.*, 2007) que hacen que la calidad a temperatura ambiente disminuya rápidamente. El calor y el clima húmedo asimismo dificultan su comercialización. *P. ostreatus*, tiene un máximo de 7 días de almacenamiento a 4 °C (Villaescusa, 2003), y a temperatura ambiente 1-3 días (Sánchez *et al.*, 2007; Ventura *et al.*, 2011).

Ante esta problemática, se ha planteado el uso de una combinación de tratamientos con el objetivo de extender la vida útil: bajas temperaturas, atmósferas modificadas, inhibidores de oscurecimiento y recubrimientos comestibles. Se sabe que 2- 4°C es la temperatura adecuada de conservación

para las setas (Villaescusa, 2003); con atmósfera modificada de polietileno o polipropileno microperforado se puede lograr 7-10 días de almacenamiento (Villaescusa, 2003; Ares *et al.*, 2007; Campo y Gélvez, 2011;) y tratadas con inhibidores de oscurecimiento de eritorbato de sodio+ácido cítrico o ácido ascórbico+ácido cítrico reduce el oscurecimiento enzimático y mejora las propiedades de apariencia, color y textura (Campo y Gélvez, 2011; Ventura *et al.*, 2011).

Se propone una técnica adicional, el uso de recubrimientos comestibles (RC) para crear una atmósfera modificada que influya como barrera a la pérdida de agua y selectividad al intercambio de gases (CO_2 y O_2). Sin embargo las características de los RC se ven influidas por parámetros tales como el tipo de material aplicado como matriz estructural (composición y distribución de peso molecular), condiciones bajo las cuales se forman (tipo de disolvente, pH, concentración y temperatura de los componentes) y el tipo y concentración de aditivos (plastificantes, agentes de reticulación, agentes antimicrobianos, antioxidantes o emulsionantes) (Falguera *et al.*, 2011).

Existen diversas investigaciones de RC a base de polisacáridos pues han resultado eficientes en productos frescos y mínimamente procesados. Dentro de los polisacáridos, las pectinas es un grupo que recientemente se ha estudiado por sus propiedades gelificantes, estabilizantes y como componentes para la formación de películas y recubrimientos comestibles (Mohnen, 2008). Sin embargo no existen estudios donde se utilice pectinas del fruto de tejocote, las cuales se ha encontrado contienen mejores propiedades en comparación con las comerciales de cítricos y manzanas (Aguirre, 2010). La cera de

candelilla, es otro producto natural mexicano que por su naturaleza lipofílica puede proporcionar barrera contra la transmisión de agua, ya que de acuerdo a Falguera *et al.* (2011) los compuestos hidrófilos (como la pectina) se deben mezclar con materiales lipófilos para evitar la disolución del recubrimiento y mejorar las propiedades de barrera.

En tal contexto, se tiene la certeza que esta investigación al combinar las técnicas mencionadas plantea una alternativa viable para la industria alimentaria que contribuirá a la búsqueda de posibilidades que prolonguen la vida de anaquel de *Pleurotus ostreatus*.

3. OBJETIVOS GENERALES

1. Elaborar un recubrimiento comestible a base de pectina de tejocote (PT55) o pectina comercial (PC) y cera de candelilla (CC) cuyas propiedades permitan coadyuvar en la conservación del hongo seta (*Pleurotus ostreatus*).
2. Evaluar el efecto del recubrimiento formulado sobre la calidad y parámetros de conservación del hongo mínimamente procesado, envasado con empaque de poliestireno (clamshell).

3.1. Objetivos particulares

- 1) Extracción y determinación del rendimiento de PT55 del Banco de Germoplasma de la Universidad Autónoma Chapingo.
- 2) Desarrollar y determinar el proceso de elaboración de las emulsiones O/W cuya matriz estructural está formada con PT55 (en la fase continua), cera de candelilla (CC) (en la fase dispersa), glicerol (como plastificante) y monoestearato de sorbitan (spam60®) como agente emulsificante.
- 3) Determinar el efecto de la viscosidad y tamaño de partícula de las emulsiones simples O/W sobre las propiedades físicas (espesor y transparencia), de barrera (PVA) y mecánicas (tensión, elasticidad y punción) de las películas comestibles formadas.
- 4) Evaluar los parámetros de calidad, químicos y fisiológicos del efecto del recubrimiento sobre el hongo *P. ostreatus* mínimamente procesado.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

Los hongos son organismos muy comunes en la naturaleza, viven prácticamente en todos los medios y poseen una amplia gama de propiedades, tanto medicinales como comestibles (Pacheco *et al.*, 2005).

Su cultivo ha ido pasando desde improvisaciones y técnicas caseras a ser la base de una industria altamente tecnificada y fructífera. En México, el cultivo del género *Pleurotus* se conoce con el nombre comercial de “setas” (Sánchez *et al.*, 2007). Son potentes agentes biológicos que convierten los subproductos orgánicos no comestibles en alimento humano de buena palatabilidad. Su eficiencia de conversión de proteína por unidad de área y por unidad de tiempo, es muy superior a las fuentes de proteína animal (Bermúdez *et al.*, 2003).

4.1. Origen y distribución de los hongos comestibles

Los cultivos de las primeras especies datan de los siglos VII al XI en China y Japón, esta tecnología llegó al nuevo mundo hacia finales del siglo XIX y XX de una manera muy discreta; no fue sino hacia el siglo XX, que esta industria se hizo presente de una manera importante en varios países de América (Ancona *et al.*, 2005).

Otros autores consideran que el cultivo de los hongos comestibles, en específico el género *Pleurotus*, tuvo sus inicios en Alemania, alrededor de 1917, empleando micelio silvestre para la inoculación de troncos. Sin embargo, el primer cultivo a gran escala solo fue posible hasta 1969 en Hungría. A partir de

entonces el cultivo de varias especies de *Pleurotus* a pequeña y gran escala se ha desarrollado rápidamente en diversas partes del mundo, utilizando subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales.

Sánchez *et al.* (2007) reporta tan sólo 21 especies diferentes de setas del género *Pleurotus* cultivadas en México, dentro de las más citadas se pueden mencionar: *P. citrinopileatus* Singer, *P. columbinus* Quél., *P. djamor* var. *djamor* (Rumph. Fr.) Boedijn, *P. ostreatoroseous* Singer, *P. ostreatus* (Jacq.), *P. Kumm.*, *P. ostreatus* f. sp. Florida y *Pleurotus spp.*

FAO (2005) por su parte reporta a nivel mundial 40 especies comestibles, de las cuales *P. ostreatus* es la más consumida y 19 están escasamente reportadas.

4.2. Importancia socioeconómica mundial y nacional

El cultivo de hongos comestibles constituye un verdadero sistema de producción-consumo, el cual ha adquirido gran relevancia social, económica y ecológica a nivel mundial.

Se trata de un proceso biotecnológico que puede desarrollarse a pequeña y gran escala para producir alimento humano de buena calidad nutricional, con propiedades medicinales (anticancerígenas, antibióticas, reducen el nivel de colesterol e hipertensión, antitrombóticas y antidiabéticas); como suplementos dietéticos y como enzimas y productos metabólicos con amplio potencial de utilización en la industria (Martínez-Carrera *et al.*, 2000).

Otra ventaja que ofrecen las setas, es la posibilidad de cultivarse en climas tropicales con simplicidad en tecnología de producción y posibilidad de utilizar

una amplia gama de sustratos como subproductos agrícolas e industriales (paja de arroz, bagazo de caña, pulpa de café, residuales de cacao y pasto seco, entre otros) (Bermúdez *et al.*, 2003).

Estudios demuestran el crecimiento que ha tenido la producción de hongos comestibles, en el mundo ha incrementado su producción más de 14 veces en 30 años, desde 350,000 t en 1965 hasta 4,909,000 t en 1994 (Sánchez *et al.*, 2007).

En 1979, la producción del champiñón común *Agaricus bisporus* representaba más del 70% de la oferta mundial. En 1994, solo el 38% de dicha producción correspondía a esta especie. Actualmente, aunque *Agaricus* ocupa el primer lugar, las setas *Pleurotus spp.* y el shiitake (hongo japonés *Lentinula edodes*) compiten por el segundo y tercer lugar en producción mundial del comercio de hongos comestibles (Sánchez *et al.*, 2007).

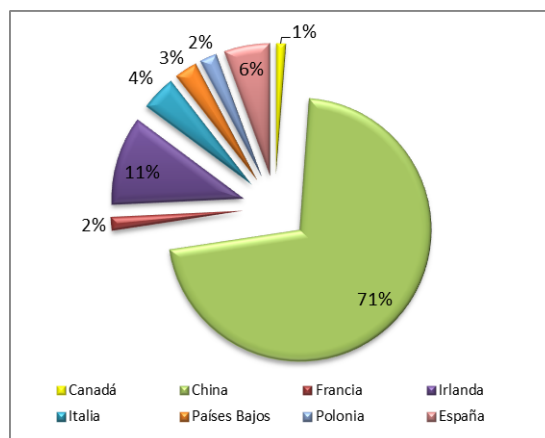


Figura 1. Producción mundial de hongos y trufas comestibles 2011 (FAO, 2013).

De acuerdo con la FAO (2013) (Figura 1), la producción total mundial de hongos y trufas para el 2011 fue de 7719,364 t cuyo principal productor fue

China con 5,008,850 t de hongos comestibles, lo que representa el 71% de la producción total mundial.

El cultivo de setas ha tenido un desarrollo muy rápido, en la actualidad se cultiva en casi todas las latitudes del mundo. Comercialmente en México, desde hace menos de 30 años se practica esta actividad y ha destacado por su rápida aceptación en el mercado, con un rápido crecimiento de la agroindustria relacionada. El cultivo de esta especie representa el 7% de la producción (Ancona *et al.*, 2005).

México es el principal productor de setas en toda América, incluidos Canadá y Estados Unidos, cuya producción rural y comercial se encuentra localizada en la región central del país (Ancona *et al.* 2005; Sánchez *et al.*, 2007).

Este material se cultiva en 21 estados y se observa que el interés por esta práctica incrementa aquí y en la mayoría de los países latinoamericanos. Actualmente, la producción comercial en México ofrece notables ventajas sociales, económicas y ecológicas (Martínez-Carrera *et al.*, 2000). Se estima que el manejo en fresco fue aproximadamente 4,105 t para el 2012 (Cuadro 1).

Cuadro 1. Producción Nacional de Hongos y setas.

Ubicación	Superficie sembrada (Ha) 2010	Producción (t) 2010	Superficie sembrada (Ha) 2012	Producción (t) 2012
Distrito Federal	0.81	52.40	1.00	64.50
Jalisco	0.02	12.00	4.00	2,159.00
México	4.00	2,350.00	22.10	1,882.20
Guanajuato	5.00	509.30	—	—
Total	9.83	2,923.70	27.10	4,105.70

Fuente: SAGARPA (2013).

Es importante señalar que las setas sólo representan cerca de 4.62% de la producción comercial de hongos comestibles en México. Su cultivo es reciente, ya que empezó en 1974 en el D. F., para 1990 la producción anual fue de 356 t alcanzando hasta 1,825 en 1997, lo que representó un incremento de 413% durante ese período y, para 2005 la tendencia se mantuvo alcanzando una producción nacional de 2,190 t (Sánchez, 2010).

La importancia ecológica de esta actividad económica radica en la utilización y reciclaje de más de 474,000 t anuales de subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales.

El cultivo ha evolucionado en México a diferencia de otros países como un negocio netamente privado, bajo dos vertientes: como desarrollo industrial privado y como producción rural por el sector social (Sánchez, 2007).

4.3. Morfología y composición nutricional de *Pleurotus ostreatus*

Los hongos tienen diversas formas, tamaños y colores. Se trata de un grupo diferenciado de organismos que incluye especies con carpóforos o cuerpos fructíferos visibles, es decir los macromicetos (macrohongos u hongos superiores). Presentan un tejido de filamentos que en su conjunto forman el micelio. El sombrero consiste de filamentos agrupados densamente para formar el carpóforo. Las especies comestibles pueden tener formas de anillos (láminas o brácteas bajo el sombrero), poros o tallos (Boa, 2005).

El término “setas” es utilizado para el cuerpo fructífero (carpóforo) el cual está formado por el proceso de fructificación de micelios subterráneos (hifas). El tiempo de vida de los cuerpos de fructificación es de 10 a 14 días. En la Figura 2 se da la terminología básica del cuerpo de fructificación.

Los hongos dependen de materiales vivos y muertos para su crecimiento, obteniendo de tres formas básicas los nutrientes: saprófito (crecimiento en materia orgánica muerta), simbiótico (en asociación con otros organismos) y patógeno o parasítico (con daño a otros organismos) (Boa, 2005).

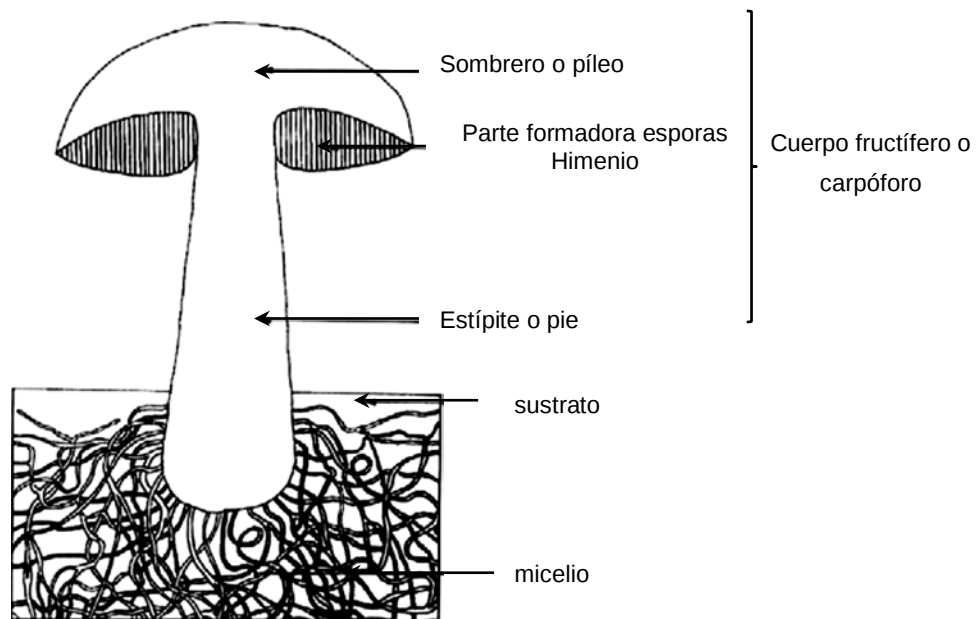


Figura 2. Fisiología de los hongos comestibles (Kalac, 2009).

P. ostreatus crece en forma escalonada, en racimos, y su sombrero tiene forma de ostra, cuyo color varía de marrón claro a marrón oscuro y mide entre 6 y 20 cm. Las láminas son de color crema apretadas y lisas. El pie es muy pequeño o está ausente y se inserta en el borde del sombrero. Su carne es blanca con

sabor agradable y su textura es firme, las cultivadas en paja son más claras, pequeñas y parecen más frágiles (Ciappini *et al.*, 2004). los usos más explotados es como alimento humano ya que por sus características organolépticas destaca su valor nutricional, en particular su calidad proteica comparado con otros alimentos y hongos comestibles (Cuadro 2) (Bermúdez *et al.*, 2003).

Cuadro 2. Composición de aminoácidos (g/16 g N) de la proteína de *Pleurotus ostreatus* en comparación con el patrón FAO, proteínas de hongos comestibles y alimentos convencionales.

Aminoácidos	<i>P. ostreatus</i>	Patrón FAO	<i>A. bisporus</i>	Trigo
Isoleucina	2.69	4.00	4.29	3.80
Leucina	4.70	7.00	7.18	6.40
Lisina	4.01	6.50	Trazas	2.70
Metionina	1.10	3.5 (Metioina+Cistina)	Trazas	1.6
Fenilalanina	10.30	6.00 (Fenilalanina+Tirosina)	4.41	4.6
Triptofano	3.28	4.00	4.9	2.9
Valina	3.46	5.00	5.28	4.30
Tirosina	2.21		2.2	3.20
Alanina	5.84		9.58	3.40
Arginina	5.26		5.47	4.30
Aspartico Ac.	7.09		10.68	5.00
Glutámico Ac.	15.12		17.18	27.70
Glicina	3.84		5.09	3.80
Histidina	2.90		2.2	2.10
Prolina	2.66		6.08	10.10
Serina	3.56		5.21	4.80
AA totales	59.55			59.84

Fuente: Bermúdez, 2003.

Los hongos pueden ser comparados en términos de su contenido de proteínas (28% expresado en base seca) con la mayoría de los vegetales frescos, donde estos niveles resultan superiores o equivalentes a alimentos convencionales como el trigo, particularmente en el contenido de lisina, aminoácido que aparece como limitante en muchos cereales (Bermúdez *et al.*, 2003).

Las setas contienen 90% de agua y 10% de materia seca, de los cuales los polisacáridos (37-48%) y proteínas estructurales comprenden los principales componentes de ésta, mientras que el contenido de lípidos es bajo (4-5%), la quitina, el glucógeno, manitol y tretralosa son constituyentes de los hidratos de carbono típicos (Kalac, 2009; Nuhum *et al.*, 2008).

Un bajo consumo de energía y alta proporción de fibra no digerible (β -glucanos) (13-24%) y antioxidantes hacen que su composición química sea atractiva desde el punto de vista nutricional, en comparación con los huevos, leche y carne. También contienen vitaminas y la energía total que pueden aportar es entre 250 y 350 cal/kg de producto fresco (Sánchez, 2010). Nuhum *et al.* (2008) reporta un contenido de minerales en *P. ostreatus* de 137.2 mg/100 g peso seco en los que se menciona Ca, Fe, Zn, Mg, Mn y Se.

4.4. Fisiología y bioquímica postcosecha de *Pleurotus ostreatus*

4.4.1. Índices de cosecha

Pathmashini (2008) menciona que los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* a 25 °C tienen una formación adecuada a los 20 días después de la aparición de primordios. Los hongos se cosechan por su madurez y no por el tamaño, por lo que se han desarrollado índices en base a los cambios fisiológicos comunes, clasificándolos en una escala de 7 puntos de acuerdo al desarrollo de abertura del sombrero (Ares *et al.*, 2007).

Escala: 1= velo o cubierta apretada, 2= velo o cubierta intacta, 3= velo o cubierta parcialmente rota, 4= velo o cubierta rota, 5= velo completamente roto, 6= sombrero abierto y branquias desarrolladas, 7=sombrero y branquias completamente abiertas (Ares *et al.*, 2007).

4.4.2. Índices de calidad

La calidad de los hongos está determinada por los parámetros de apariencia, color, textura y pérdida de humedad (Villaescusa, 2003). Estos parámetros dependen de factores como el estado de desarrollo, las condiciones pre y postcosecha y el tipo de sustrato en el que son cultivados.

En etapa postcosecha *P. ostreatus* por su estructura epidérmica delgada y porosa, es altamente susceptible al ataque microbiológico, a reacciones de pardeamiento u oscurecimiento enzimático y al daño mecánico que afectan considerablemente su calidad (Cortés *et al.*, 2011). Los cambios en la textura se presentan después de 3 días a temperatura ambiente, y de 4-7 días a 4°C (Ares *et al.*, 2007).

La pérdida de peso fresco 3-6% es generalmente suficiente para causar un marcado deterioro de la calidad de la mayoría de los productos, para setas envasadas la pérdida de peso aceptable es aproximadamente de 2% (Villaescusa, 2003).

Color. El cambio de color es uno de los principales factores de deterioro en los alimentos. El pelado y cortado daña las células haciendo que los sustratos y

enzimas se pongan en contacto, reaccionado en presencia de O₂ e iniciando el oscurecimiento de los tejidos (González *et al.*, 2009).

La blancura es uno de los atributos más importantes en la calidad de los hongos. En pocos días, incluso si se refrigera, las setas presentan reacciones de pardeamiento que afectan su tiempo de conservación. La polifenol oxidasa (PPO) es la enzima implicada en el pardeamiento de éstas (Vullioud *et al.*, 2011). En hongos rebanados la luminosidad disminuye y aumenta el oscurecimiento con el tiempo y la temperatura, esta decoloración es inducida por contusión, el corte en rodajas, el almacenamiento y trastornos fisiológicos provocados por un alto contenido de enzimas y compuestos fenólicos involucrados en el pardeamiento enzimático (Oliveira *et al.*, 2012).

La PPO, la POD (peroxidasa) y PAL (fenilalanina aminoliasa) oxidan los compuestos fenólicos solubles para producir ortoquinonas, las cuales condensan y reaccionan no enzimáticamente con constituyentes celulares como aminoácidos y compuestos fenólicos produciendo compuestos como la melanina (González *et al.*, 2009).

Pérdida de humedad. Después de la cosecha las hortalizas utilizan la humedad interna por lo que no se puede evitar la pérdida de agua a través de la transpiración. Pequeños cambios que puedan suceder en su contenido suele tener un gran impacto en la calidad debido a que los tejidos se componen principalmente de agua (González *et al.*, 2009). En vegetales frescos cortados, la pérdida de humedad es crítica, ya que se vuelven vulnerables a la

deshidratación después del corte, donde el daño mecánico expone directamente los tejidos a la atmósfera (Lamikanra, 2002).

Los hongos son muy perecederos por su alto contenido de humedad, su corta vida útil a temperatura ambiente hace que requieran un cuidado especial para mantener su frescura y calidad (Oliveira *et al.*, 2012).

Las altas tasas de transpiración se originan porque los hongos contienen más del 90% de su peso en agua y carecen de una piel que funcione como barrera a la difusión. Cuando los hongos se envasan en atmósfera modificada (AM) la baja tasa de transmisión de vapor de agua de las películas (WVTR) combinada con la alta tasa de transpiración, provoca la rápida saturación de la atmósfera dentro del envase, estas condiciones de humedad pueden causar la condensación del agua en la superficie interior de la película y del producto, favoreciendo el crecimiento microbiano y la decoloración (Oliveira *et al.*, 2012).

Firmeza. La pérdida de firmeza es un cambio importante que se presenta en frutas y hortalizas debido a la acción de enzimas proteolíticas y pectolíticas sobre los componentes de la pared celular. Durante las operaciones de procesado, especialmente después del cortado los tejidos vegetales, sufren una pérdida de firmeza por hidrólisis de las sustancias pécticas de la pared celular. Las enzimas como pectin-metil-esterasa (PME) y poligalacturonasa (PG), desempeñan un papel importante en el ablandamiento de los tejidos (González *et al.*, 2009).

En los productos cortados, la pérdida de textura es atribuida también a la deshidratación sufrida por la pérdida de líquido vacuolar de las células dañadas,

y a la deshidratación por la diferencia de presión de vapor entre los tejidos y el ambiente que los rodea (González *et al.*, 2009).

4.4.3. Intensidad respiratoria

La respiración es el proceso por el cual los materiales orgánicos almacenados (carbohidratos, proteínas, grasas) son desdoblados en productos terminales simples con liberación de energía. En este proceso, se utiliza oxígeno (O_2) y se produce dióxido de carbono (CO_2). La pérdida de reservas alimenticias almacenadas en el producto durante la respiración significa el aceleramiento de la senescencia, estas se agotan al proporcionar energía para mantener el estatus viviente del producto (Kader, 2007).

El aumento de la tasa de respiración resulta en la pérdida de agua, en la reducción de los niveles de hidratos de carbono, vitaminas y ácidos orgánicos, con un impacto neto negativo en el sabor y el aroma. La pérdida de esta se da por la degradación de la membrana y la pared celular, resultando en la pérdida de turgencia. Al mismo tiempo, el crecimiento microbiano en la superficie de corte aumenta a medida que se disponga de azúcares, acelerando así la oportunidad para el deterioro microbiano (Kader, 2007).

Los productos frescos cortados generalmente tienen mayores tasas de respiración que los productos intactos, ya que tienen un metabolismo más activo y una tasa de deterioro más acelerada que puede resultar en una pérdida más rápida de ácidos y azúcares. Por otra parte, los productos frescos cortados, demandan mayores tasas de oxígeno lo que determina que requieran

películas de empaque con suficiente permeabilidad a O₂ para prevenir la fermentación y malos olores (Kader, 2007).

Las tasas de respiración que se reportan para setas en atmósfera modificada son 0.50, 0.99 y 1.23 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ kg}^{-1}\text{s}^{-1}$ a 0, 4 y 7°C (Villaescusa, 2003), mientras que Ventura *et al.* (2011) indica 97.07 y 101.22 $\text{mLCO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en producto mínimamente procesado y envasado en bolsas de polietileno.

4.4.4. Metabolitos anaerobios

Durante la maduración de los productos hortofrutícolas ocurren procesos que implican la producción de metabolitos anaerobios (acetaldehído y etanol), éstos incluyen la producción de sustancias volátiles responsables de aromas que se acumula en condiciones anaeróbicas, e incluso bajo condiciones aeróbicas. Su acumulación generalmente se da en almacenamiento a través de recubrimientos con ceras, películas, o en atmósferas modificadas y controladas (Pesis, 2005). En productos frescos cortados, cuando son almacenados en empaques plásticos cuya permeabilidad a los gases es baja, ocurre una disminución considerable de la concentración de O₂ y un incremento del CO₂, estos niveles generalmente inducen que el tejido entre en estado de anoxia (respiración anaeróbica) produciendo rompimiento de tejidos. Con la acumulación progresiva del etanol y acetaldehído se desarrollan sabores indeseables ya que en la respiración anaeróbica la glucosa es convertida en piruvato, el cual es metabolizado a acetaldehído y etanol. Por consecuencia en productos mínimamente procesados es importante considerar el uso de películas poliméricas con mayor permeabilidad al O₂ que al CO₂ (Wiley, 1994).

4.5. Técnicas de conservación postcosecha

4.5.1. Enfriamiento

El control de la temperatura es el factor ambiental más importante en la vida postcosecha de productos frescos, cuando se reduce a niveles bajos causa una reducción en las tasas de reacciones bioquímicas y, en consecuencia aumenta su vida útil (Oliveira *et al.*, 2012).

En general, todos los productos precortados se deben almacenar a 0-5 °C (32-41°F) para mantener su calidad, inocuidad y vida de anaquel. Esta recomendación tan cerca como sea posible a 0°C (32°F) se debe en parte por cuestiones de seguridad microbiana (Kader, 2007). Villaescusa (2003) y Brennan (2006) recomiendan una temperatura óptima de almacenamiento para setas 0 – 4°C con una humedad relativa de 90-95%.

4.5.2. Atmósferas modificadas

El envasado en atmósfera modificada (AM) se da cuando un producto se envasa en un recipiente sellado o bolsa con una atmósfera requerida a temperaturas óptimas, con el fin de controlar la respiración (transferencia de varios gases dentro y fuera del producto). La combinación de gases puede ralentizar el metabolismo respiratorio, y retrasar los cambios de composición, color, sabor y textura. También puede inhibir o retrasar el crecimiento microbiano. La temperatura es un factor crítico que debe ser controlado para evitar la condensación dentro del envase que lleve a su deterioro (Oliveira *et al.*, 2012).

Las setas suelen comercializarse en bandejas de policloruro de vinilo perforado (PVC) o película estirable con poca o ninguna modificación de la atmósfera. El uso de envasado en atmósfera modificada (AM) acompañado de baja temperatura de almacenamiento (4°C) puede retardar con eficacia los cambios en la calidad y extender la vida útil de las setas frescas cortadas (Oliveira *et al.*, 2012; Villaescusa 2003).

La AM se crea en el interior del envase dependiendo de la tasa de respiración, la permeabilidad a gases, la cantidad de producto, el área del recubrimiento transpirable y la temperatura de almacenamiento. El diseño de una AM debe estar relacionado con bajas concentraciones de O₂ y altas de CO₂ para que exista una disminución de la tasa de respiración del producto y la inhibición de crecimiento microbiano. Por lo general, las concentraciones de O₂ se mantienen bajas, 1-5%, pero no menos del 1% para evitar que la respiración sea anaeróbica. Las concentraciones de CO₂ deben ser altas, pero no superiores a 12% porque pueden causar lesiones fisiológicas, como oscurecimiento en el caso de hongos. Para lograr una AM en setas recién cortadas, se requiere que el embalaje sea microperforado para lograr una adecuada composición gaseosa. En champiñones 2 perforaciones de 0.33 mm de diámetro fueron óptimas para 110 g de producto rebanado a 10 °C, obteniéndose 3,6 % de O₂ y 11,5 % de CO₂ en equilibrio (Oliveira *et al.*, 2012).

4.5.3. Recubrimientos comestibles

Una película o recubrimiento comestible es cualquier material utilizado para cubrir distintos alimentos con el objetivo de extender la vida útil del producto, su

espesor generalmente es menor 0.3 mm (Falguera *et al.*, 2011; Embuscado *et al.*, 2009).

Aunque los términos películas comestibles y recubrimientos comestibles son sinónimos, hay una diferencia, las películas están preformadas por separado y después se aplican a la superficie de los alimentos, mientras que los recubrimientos se forman directamente sobre la superficie (De Azeredo, 2012). En este sentido, la investigación referirá ambos términos donde se hablará de “película” en la sección de caracterización, mientras que “recubrimiento comestible” se utilizará en la parte de aplicación sobre el hongo seta.

Aunque ambos términos tienen funciones similares a los envases convencionales actuando como barreras frente al vapor de agua, gases, como mejora en la integridad y manejo mecánico, las películas y recubrimientos comestibles no están destinados a sustituir por completo los envases convencionales, la eficiencia a la protección se mejora mediante la combinación de envases comestibles y no comestibles (De Azeredo, 2012).

4.5.3.1. Importancia y función de los recubrimientos. El propósito de los recubrimientos en frutas y hortalizas es retardar la transferencia de gas, vapor, compuestos volátiles formando una atmósfera modificada que disminuye la respiración, la senescencia, la pérdida de aromas, conserva humedad y retrasa los cambios de color a lo largo del almacenamiento (Figura 3) (Embuscado *et al.*, 2009).

Otras de sus funciones es proteger el producto de daños mecánicos, físicos, químicos y actividad microbiológica (Falguera *et al.*, 2011), ya que pueden

proporcionar esterilidad en la superficie del alimento y/o evitar la pérdida de otros compuestos importantes como volátiles (Embuscado *et al.*, 2009).

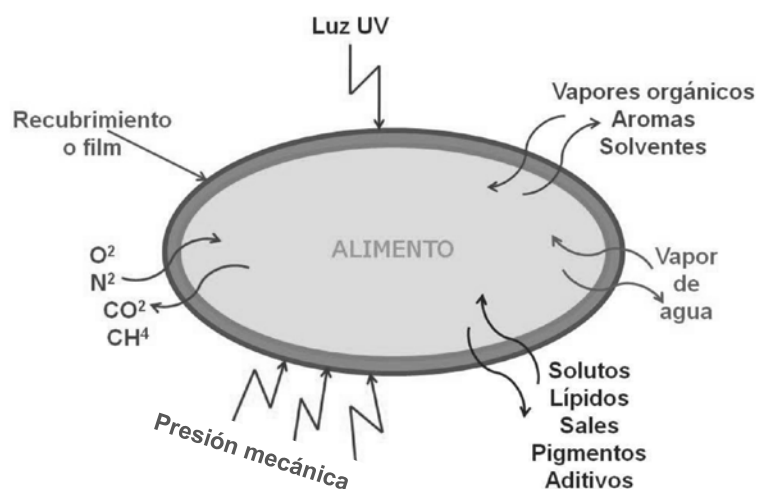


Figura 3. Potencial de barrera que proporcionan los recubrimientos comestibles (Embuscado *et al.*, 2009).

4.5.3.2. Componentes de formación de los recubrimientos. Para la formación de un recubrimiento, se requiere al menos un componente capaz de producir una matriz estructural de suficiente cohesión, sin embargo, su eficiencia funcional dependerá fuertemente de la naturaleza de los componentes adicionales (Galus y Lenart, 2013).

El enfoque reciente en esta tecnología implica la combinación de diferentes polisacáridos, proteínas y/o lípidos con el fin de mejorar la funcionalidad y lograr un efecto sinérgico de las características combinadas de los componentes puros. Sin embargo, las propiedades mecánicas y de barrera dependen en gran medida de las propiedades de constitución y compatibilidad de los polímeros (Galus y Lenart, 2013).

Los componentes utilizados para la preparación de recubrimientos son clasificados en tres categorías: *hidrocoloides*, proteínas y polisacáridos, *lípidos*, como ácidos grasos, acilglicerol, ceras, y, *multicomponentes*, mezcla de los anteriores (Bourtoom, 2008).

Polisacáridos. Los polisacáridos son biopolímeros de cadena larga formados a partir de unidades de repetición mono o disacáridos unidos por enlaces glicosídicos. Son ampliamente disponibles y por lo general tienen un bajo costo. La mayoría de los polisacáridos son neutrales, aunque algunos están cargados negativa como consecuencia del gran número de grupos hidroxilo y otros grupos polares en su estructura (De Azeredo, 2012).

Los polisacáridos más usados en la elaboración de películas y recubrimientos son celulosas, almidones (y sus derivados), quitosano, extractos de algas marinas (carragenanos y alginatos), gomas (guar), gomas derivadas de la fermentación microbiana (xantano y goma de gelano) y pectinas (Galus y Lenart, 2013).

Las principales ventajas de los polisacáridos son su estabilidad estructural y capacidad de ralentizar la transmisión al oxígeno por lo que retardan la respiración y maduración de los frutos (Embuscado *et al.*, 2009; De Azeredo, 2012). Las deficiencias de estos, es la permeabilidad con respecto al agua, sin embargo se pueden utilizar para proteger los alimentos de la oxidación, o pueden actuar como "agentes sacrificantes" en lugar de barrera, es decir, por ser materiales hidrofílicos pueden ser aplicados como recubrimientos gruesos en la superficie del alimento para absorber intencionalmente agua y

proporcionar protección temporal contra la pérdida de humedad (Bourtoom, 2008).

Pectina. Las pectinas son componentes principales de la pared celular vegetal, químicamente son heteropolisacáridos aniónicos lineales, solubles en agua, compuestos principalmente de unidades de ácido $\alpha 1 \rightarrow 4$ D-galacturónico, en el que algunos grupos carboxilo están esterificados con metanol (Figura 4) (De Azeredo, 2012). De acuerdo a su grado de esterificación, la pectina puede ser clasificada como alto o bajo metoxilo.

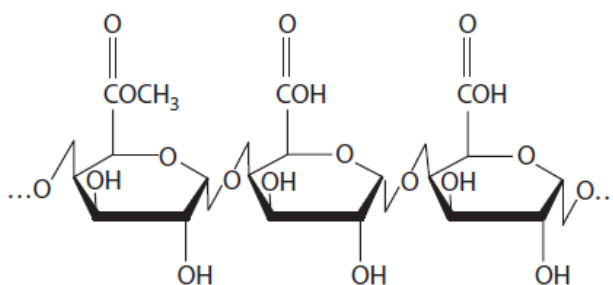


Figura 4. Fragmento de pectina que contiene grupos carboxilo esterificados y no esterificados de ácido galacturónico. (De Azeredo, 2012).

Debido a sus propiedades de biodegradabilidad, biocompatibilidad, comestibilidad, químicas y físicas (gelificación y selectividad a gases) la pectina es un polímero adecuado para la elaboración de películas comestibles. En envases activos es un sistema que posee atributos más allá de las propiedades básicas de barrera, ya que se logran polímeros funcionalmente activos mediante la adición de ingredientes activos (Espitia *et al.*, 2013).

La relación del grado de esterificación y no esterificación del ácido galacturónico determina el comportamiento de la pectina en aplicaciones de alimentos, ya que

afecta la solubilidad y propiedades de gelificación de la pectina. Las pectinas de alto metoxilo forman geles con azúcar y ácido, mientras que las de bajo forman geles en presencia de cationes divalentes, como Ca^{2+} , que une las cadenas adyacentes a través de interacciones iónicas formando una red tridimensional (De Azeredo, 2012). Las propiedades de gelificación se traducen en mejores asociaciones interpolímero y de cadena de formación de la película, por lo tanto, las pectinas generalmente forman películas o recubrimientos más fuertes cuando las condiciones de gelificación (pH y Ca^{2+}) se cumplen. La pectina gelifica a una temperatura mayor cuando el DE es mayor a 69% (pectina rápida) y, dependiendo de la velocidad de enfriamiento, establecerá que el producto frague más rápido. En otras palabras, la gelificación depende no sólo de la pectina, también del tiempo y temperatura (Embuscado *et al.*, 2009).

Este polímero tiene muchas aplicaciones en la industria farmacéutica y de alimentos, se utiliza como un agente gelificante, espesante, texturizador, emulsionante y estabilizador. Se utiliza en bebidas, salsas y jarabes para hacer una textura deseada (Mesbahi *et al.*, 2005; Espitia *et al.*, 2013). También se utiliza en la producción de productos biodegradables como películas, adhesivos, sustitutos de papel, espumas, modificadores de superficies para dispositivos e implantaciones médicas (Mohnen, 2008).

Las diferencias entre las propiedades de pectinas extraídas de diferentes materias primas, se atribuye no solo por el DE también por la composición como el peso molecular, el contenido de proteínas, cenizas y el grado de acetilación, pues afectan las condiciones de gelificación y viscosidad (Mesbahi *et al.*, 2005).

Pectinas de tejocote. A nivel comercial, las pectinas son extraídas principalmente de cítricos, manzana, caña de azúcar, remolacha entre otros (Williats *et al.*, 2006; Yapo *et al.* 2007), sin embargo estudios recientes sobre la pectina del fruto de tejocote indican que contiene una gran cantidad con mejores propiedades físicoquímicas y viscosas que las comerciales (Li *et al.*, 2008), por lo que se puede considerar a este fruto una fuente importante de sustancias pécticas (Aguirre, 2010).

El Tejocote (*Crataegus spp.*) es un género de árboles frutales distribuidos ampliamente en todo México, se han reportado 13 especies en el norte y zonas centrales y dos o más en el sur (Núñez-Colín, 2008). En algunos estados de la república el tejocote es de importancia en la alimentación, a pesar de ser un frutal de recolección tiene varios usos como cultivar, ornamental, forrajero, medicinal, como fruta fresca o transformada en mermeladas, confituras, jaleas y jarabes (Nieto *et al.*, 2009). El tejocote puede contener 10.3-27% de rendimiento en pectina, confirmando ser una buena alternativa para producirla a partir de este fruto (Li *et al.*, 2008; Aguirre, 2010).

Carboximetilcelulosa (CMC). Es un polisacárido lineal aniónico derivado de la celulosa. Se considera un polímero industrial con una amplia gama de aplicaciones como aditivo en productos alimenticios, cosméticos, farmacéuticos, en la industria del papel y textil. Por su carácter hidrofílico y alta viscosidad en soluciones diluidas proporciona buenas propiedades formadoras de recubrimientos, actúa como ligante, coloide protector y estabilizante. Tiene una amplia compatibilidad con polisacáridos para la formación de películas y

productos biodegradables en materiales de embalaje. Se ha estudiado que la adición de CMC refuerza las propiedades mecánicas, da resistencia a la tensión, alargamiento a la ruptura, transparencia y brillantez a las películas (Girard *et al.*, 2002; Olivas y Barbosa, 2009; Arik Kibar y Ferhunde, 2013).

Lípidos. Los lípidos utilizados como recubrimiento protector consisten en monoglicéridos acetilados, ceras naturales y agentes tensoactivos. Las ceras pueden ser clasificadas como naturales o sintéticas. Las naturales son aprobadas por la FDA como alimento o ingrediente aditivo seguro (Rocha *et al.*, 2013).

Las sustancias más comunes son las ceras de parafina, de abeja (cera blanca), de carnauba (exudado de hojas de *Copoernica cerifera*), de candelilla (de la planta de candelilla) y aceite mineral (mezcla de parafina líquida e hidrocarburos) (Bourtoom, 2008).

La función de los lípidos en los recubrimientos es mejorar las propiedades de barrera de humedad ya que bloquea el transporte debido a su baja polaridad relativa, sin embargo por su característica hidrofóbica forman recubrimientos gruesos y frágiles, en consecuencia, deben estar asociados con agentes formadores de película como proteínas o derivados de celulosa. En general, la permeabilidad al vapor de agua disminuye cuando aumenta la concentración de la fase hidrofóbica (Bourtoom, 2008).

Para proporcionar mayor resistencia a los recubrimientos comestibles, generalmente los lípidos son soportados sobre una matriz estructural de polisacárido. Las ceras se usan desde hace años en verduras y frutas para

mejorar el aspecto de superficie (como el brillo), sin embargo su uso puede afectar la transparencia (Bourtoom, 2008).

Cera de candelilla (CC). Es un material derivado de *Euphorbia antisyphilitica* Zucc., que crece normalmente en ambiente desértico, principalmente en las zonas áridas de México y el suroeste de Estados Unidos (Ochoa *et al.*, 2011).

Se utiliza en la industria cosmética y en pinturas para la fabricación de barnices, se puede usar como sustituto de la cera de carnauba y de abeja en diferentes sistemas alimentarios (Rocha *et al.*, 2013).

La CC es un compuesto vegetal, insoluble en agua, pero altamente soluble en acetona, cloroformo, benceno y otros disolventes orgánicos, se caracteriza por un alto contenido de cadenas hidrocarbonadas (aproximadamente 50%) y una cantidad baja de ésteres volátiles (Saucedo-Pompa *et al.*, 2009). En el Cuadro 3 se muestran algunas propiedades de la cera de candelilla.

Cuadro 3. Propiedades de la cera de candelilla.

Propiedad	Valor
Punto de fusión (°C)	66-71
Peso específico (g/mL)	0.982-0.9856
Índice de refracción	1.456
Índice de yodo	19-44
<i>En películas (a 25°C):</i>	
Espesor (mm)	0.14
Permeabilidad al vapor de agua (g mm/(m ² día KPa)	0.0120
Humedad relativa (diferencia)	0-100%

Fuente: Gunstone, 1997.

Investigaciones recientes indican que el hentriacontano (C31) es el principal compuesto de la cera de candelilla, responsable del proceso de cristalización en formación de geles termorreversibles (Toro *et al.*, 2010). El fenómeno de cristalización es un parámetro importante en el análisis de ceras, ya que está relacionado con el cambio de fase del sistema como resultado de la temperatura (Kraft y de transición de fase) y de la concentración (de la fase dispersa, continua y tensoactivo) provocando que exista una orientación o aglomeración de las estructuras que las forman en empaquetamientos, lamelas, micelas inversas, cristales hexagonales o cilíndricas (López, 2011). La cristalización de CC se presenta en un rango de 0-2.5 °C a una concentración mayor 1-2% de CC (Toro *et al.*, 2010).

Multicomponentes o compuestas. Los recubrimientos comestibles pueden ser de naturaleza heterogénea, que consiste en una mezcla de polisacáridos, proteínas, y/o lípidos. Este enfoque permite utilizar las características funcionales distintas de cada componente para producir películas de material con mejoras en la permeabilidad o propiedades mecánicas según lo dictado por la necesidad de una aplicación específica. Estas películas heterogéneas se aplican ya sea en forma de una emulsión, suspensión o dispersión de los componentes no miscibles, en capas sucesivas de revestimiento (capas múltiples), o, en forma de una solución en un disolvente común (Bourtoom, 2008).

En sistemas mixtos se incorporan agentes emulsionantes y polímeros anfifílicos de superficie activa, por lo que su estructura y estabilidad dependerán de la

composición, de la naturaleza y fuerza de las interacciones entre las capas adsorbidas sobre las gotitas dispersas (Dickinson, 1992). Se ha estudiado que las interacciones de las macromoléculas de biopolímeros en sistemas mixtos, influyen en los parámetros de diseño de un recubrimiento o película con propiedades funcionales deseadas (Giancone *et al.*, 2008).

El tipo de interacciones que pueden suceder en las fases de una emulsión son diversas como interacciones de *van der Waals* (atractivas y de largo alcance), *electrostáticas* (que son repulsivas o atractivas debido a las cargas que se encuentran en los compuestos), *hidrofóbicas* (debidas a la interacción entre los grupos apolares de las cadenas de hidrocarburos), *puentes de hidrógeno* y *fuerzas estéricas* (Aranberri *et al.*, 2006). El juego de todas éstas interacciones dan como resultado una atracción o repulsión entre las partículas que está asociado al comportamiento de formación irreversible de agregados (coalescencia) o a la formación de flóculos que pueden ser separados química o mecánicamente (Pichot, 2010).

Nordby *et al.* (2003) menciona que la pectina es un polisacárido aniónico cuyos grupos negativos forman interacciones electrostáticas con otros polímeros (compuestos catiónicos) en un rango de pH 3-6. Por otra parte, Arik-Kibar (2013) indica que la carboximetilcelulosa es también un polisacárido aniónico por lo que la carga negativa de ambos aumenta la solubilidad (alta polaridad), y la carga de ellos debilita las asociaciones intermoleculares entre las cadenas de los polímeros debido a la repulsión. Sin embargo, Embuscado *et al.* (2009) menciona que cuando se juntan este tipo de polisacáridos se forman películas

que conservan una alta estructura después de secado, y que la carga negativa previene una estructuración excesivamente apretada en estado seco.

4.5.4. Emulsiones

Una emulsión es una dispersión termodinámicamente inestable de dos o más líquidos inmiscibles o parcialmente miscibles (Aranberri *et al.*, 2006). Generalmente en la industria de alimentos abundan las emulsiones O/W, es decir, la fase continua es agua y la fase dispersa aceite. Las emulsiones o/w preparadas por agitación están controladas por la coalescencia de las gotas del aceite, por ello para estabilizarlas se agregan surfactantes o emulsificantes (lípidos polares) que se adsorben a la superficie de las gotas para disminuir la tensión superficial entre éstas y el agua (Gunstone, 1997).

La selección del agente surfactante es de gran importancia en la formulación exitosa de una emulsión, ya que de él dependerá la estabilidad y las interacciones interfaciales entre los componentes (polisacáridos, proteínas, lípidos, etc.), la habilidad para formar películas interfaciales viscoelásticas, y la eficiencia de estabilidad a la temperatura de la emulsión (Gunstone, 1997; Embuscado *et al.*, 2009).

4.5.5. Fracción volumétrica

La fracción volumétrica (Φ) está dada por la concentración de las gotas o partículas dispersas en una emulsión. Es importante definir la Φ , ya que la concentración de las gotas tiene influencia en la apariencia, textura, estabilidad de la emulsión y en el caso de formulaciones para recubrimientos comestibles

influirá en la homogeneidad, distribución y tamaño de las partículas hidrofóbicas reflejándose finalmente en las propiedades de barrera (permeabilidad al vapor de agua y gases). Las propiedades de las emulsiones están dominadas por la fracción volumétrica ya que a mayor o menor concentración, la viscosidad de la fase dispersa cambia resultando en las propiedades reológicas de la emulsión (cremosidad, fluidez, agregación de las gotas suspendidas) (Chanamai, 2000; Bosquez, 2003).

4.5.6. Distribución del tamaño de partícula

El tamaño de las partículas o gotas que contiene una emulsión determina muchas de sus propiedades (de flujo, viscosidad, estabilidad y distribución de gota), por lo cual es importante medir y predecir el comportamiento de las partículas ya que la mayoría de los tipos de inestabilidad (sedimentación, floculación y coalescencia) usualmente se manifiestan en el comportamiento de gotas grandes. El tamaño de las gotas en la emulsión se encuentra en el rango coloidal 1 nm a 10 μm , clasificando como microemulsiones aquellas con tamaños de gota menores a 100 nm (Gunstone, 1997; Bosquez, 2003; López, 2011; Pal, 2011).

En las películas y recubrimientos comestibles obtenidos por emulsificación, la transferencia de masa ocurre a través de la matriz estructural, la cual constituye la fase continua en la emulsión, así que el material permeante (gases o vapor de agua) seguirá una trayectoria que estará determinada por el tamaño y la forma en que se encuentren dispersadas las partículas hidrofóbicas en el sistema (Bosquez, 2003).

La Figura 5 ilustra los posibles mecanismos de permeación a través de un recubrimiento emulsificado, cuando el tamaño de las partículas hidrofóbicas es pequeño y su distribución es homogénea la tortuosidad del recubrimiento es mayor ofreciendo una mayor resistencia a la permeación, dado que las moléculas tendrán que recorrer un camino más complejo.

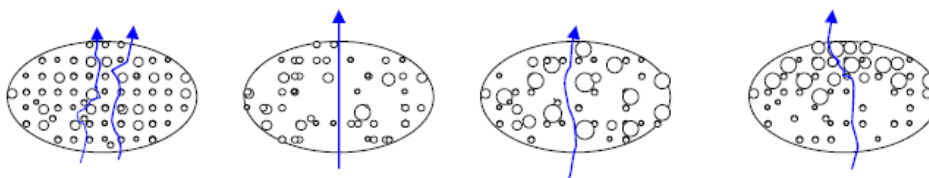


Figura 5. Mecanismos de transferencia de moléculas de vapor en recubrimientos emulsificados (Debeaufort y Voilley, 1995).

Las interacciones entre los biopolímeros, los surfactantes, las vitaminas y/o antioxidantes tienen implicaciones en la calidad de un producto emulsificado. Las propiedades mecánicas y de barrera (a gases o vapor de agua) en una película o recubrimiento estarán influidas por la calidad de la emulsión, la cual estará determinada por el tamaño y forma en que se encuentren dispersas las partículas hidrofóbicas en el sistema (Fairley *et al.*, 1997; Han y Gennadios, 2005). Es importante la caracterización de las emulsiones para comprender las propiedades químicas y estructurales de los materiales de formación, pues la composición en interfase afecta de manera significativa la formación, la estabilidad y reología de la emulsión. La distribución de los polímeros y surfactantes entre la superficie de la gota y las dos fases de la emulsión, dependen del tamaño molecular, la concentración y naturaleza químicas de las moléculas estabilizantes adsorbidas, así como del tipo de interacciones tanto en la superficie de las gotas como en la fase acuosa (interacciones determinadas

por la composición y estructura de la capa estabilizante) (Fisher y Parker, 1988; Fairley *et al.*, 1997).

4.6. Productos mínimamente procesados

El procesado mínimo incluye una serie de tratamientos para preparar un producto original de consumo básico sin afectar su calidad de frescura (Embuscado *et al.*, 2009). Incluye limpieza, lavado, pelado, cortado y envasado. Aunque estos pasos son relativamente discretos, la naturaleza y frecuencia de los cambios de respiración inmediatamente después de su transformación hace que el producto sea más perecedero. En la mayoría de los casos estos procesos causan alteraciones de los tejidos celulares y descomposición de las membranas.

Dado que las frutas y hortalizas se componen de tejidos vivos que sufren cambios importantes por los procesos de degradación bioquímica, estos pueden afectar la calidad de los productos en su contenido nutricional, sabor, textura y pigmentación (Embuscado *et al.*, 2009). Mantener la calidad de frutas y hortalizas se vuelve difícil aún en productos mínimamente procesados, ya que se someten a un rápido deterioro con el aumento de la tasa de respiración, producción de etileno, y consumo de azúcares, lípidos y ácidos orgánicos que aceleran el proceso de maduración, por lo tanto se hacen evidentes la pérdida de textura, el agua, así como cambios indeseables en sabor y color (Embuscado *et al.*, 2009)

**5. ELABORACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES A BASE DE
EMULSIONES PECTINA DE TEJOCOTE-CERA DE CANDELILLA Y
SU CARACTERIZACIÓN**

5.1. Introducción

Las películas y recubrimientos comestibles se han investigado intensamente durante los últimos 20 años con la finalidad de mejorar las propiedades organolépticas de los alimentos, incrementar la vida de anaquel y reducir el uso de materiales de embalaje desechables y no degradables (Galiotta *et al.*, 2005). Una de las tendencias para desarrollar películas consiste en el uso de polímeros naturales de origen vegetal ya que han demostrado tener un gran potencial para la protección y conservación. Su utilidad reside en la capacidad de barrera (frente a vapor de agua y gases) y mejoran la calidad, sabor e integridad mecánica en los alimentos (González *et al.*, 2009; De Azeredo, 2012; Condés *et al.*, 2013).

La pectina del fruto de tejocote (*Crataegus mexicana*) es un polímero de reciente investigación ya que tiene un amplio potencial como aditivo para la industria de alimentos (Li *et al.*, 2008). La cera candelilla por su parte, es un material lipídico extraído de la candelilla en las zonas áridas de México cuyas propiedades se ha de mostrado pueden sustituir ceras comerciales industriales como carnauba y abeja (Rocha *et al.*, 2013). Ambos materiales ofrecen propiedades individuales (de permeabilidad al O₂, CO₂, barrera al vapor agua, entre otros) que pueden optimizar las propiedades de las películas, sin embargo, para lograr la formación es necesaria la adición de aditivos como plastificantes y surfactantes que permitan la interacción entre los componentes

de la emulsión. Su estabilización estará definida por el tipo de interacciones que se den entre las moléculas de los componentes, las cargas eléctricas interfaciales o por las interacciones que se puedan adaptar de acuerdo a la naturaleza de los polímero (Sothornvit y Krochta, 2005).

Por ello, la comprensión de las interacciones entre los componentes, los factores que afectan la estabilidad de las emulsiones (distribución y tamaño de gota, propiedades reológicas) y, los factores involucrados en su elaboración (temperatura, pH, tiempo de homogeneización) conducen al conocimiento de su comportamiento y su utilidad de adaptación a diferentes estructuras o superficies alimentarias (Stone *et al.*, 2013).

En este sentido, no existen reportes sobre la utilización de pectinas de tejocote para la elaboración de películas comestibles ni mucho menos su aplicación en la conservación de un producto hortofrutícola. Por tal motivo, la primera fase de investigación se enfocó en evaluar las propiedades reológicas, el tamaño de partícula de las emulsiones O/W (cera/pectina) y caracterizar las propiedades físicas, mecánicas y de barrera de las películas formadas.

5.2. Materiales y Métodos

5.2.1. Materiales

Se realizaron emulsiones aceite en agua (O/W) cuya matriz estructural se formó con PT55 del Banco de germoplasma de la Universidad de Chapingo, pectina comercial (PC) de alto metoxilo (Laitz[®] S.A de C.V, México D.F.) con grado de esterificación alto (72.9), carboximetil celulosa (CMC, con peso molecular de 700,000 g mol⁻¹, Meyer[®], S.A de C.V México, D.F), cera de candelilla (Cedrosa S.A de C. V. Naucalpan, Méx. México), emulsificante monoestearato de sorbitan o span[®] 60 (Laitz[®] S.A de C.V, México D.F.) y glicerol (Meyer[®], S. A. de C.V. México, D.F).

5.2.2. Extracción de pectina de tejocote (*Crataegus spp.*)

Para la extracción de pectina se utilizaron frutos de tejocote colectados en etapa de madurez fisiológica (*Crataegus mexicana*) genotipos de la accesión 55 ubicados en el campo experimental “San Juan” del Banco de Germoplasma de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado a 19° 29´ Latitud Norte, 98° 53´ longitud Oeste, a 2,240 msnm.

La extracción de pectina se realizó mediante el método reportado por Yapo *et al.* (2007) con algunas modificaciones (Figura 6). Se utilizaron 10 kg de pulpa de tejocote, la cual fue triturada con una despulpadora horizontal (Revees Intertecnia[®], México D.F.) a baja velocidad, mezclando HCL 0.1 N en una

relación 1000 mL de HCl por cada 100 g de pulpa. La mezcla obtenida se calentó en baño María a 85 °C durante 45 min. Posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtraron las suspensiones con ayuda de una manta. Al filtrado obtenido se le adicionó una mezcla etanol/agua al 96% v/v en una relación 1:1 (v/v), dejándose reposar durante 24 h en refrigeración a 4 °C.

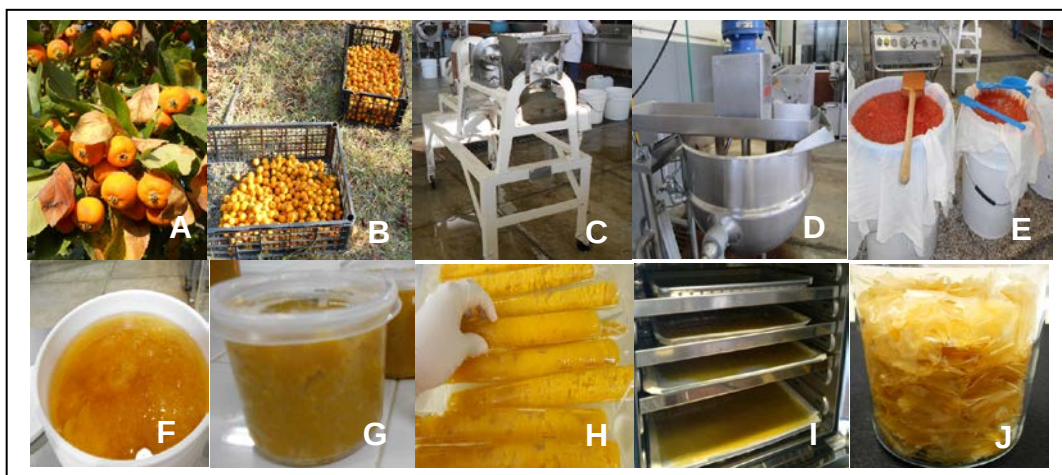


Figura 6. Proceso de extracción de pectina de tejocote: A) genotipo de tejocote, B) cosecha, C) molienda de pulpa, D) calentamiento de pulpa, E) filtración, F) precipitación con alcohol, G) centrifugado, H) diálisis, I) secado J) pectina de tejocote.

Las pectinas precipitadas se separaron por filtración con tela de manta, el gel que se obtuvo se lavó tres veces con una mezcla de etanol/agua al 70/30 (v/v) en una relación 1:1. Los geles obtenidos se centrifugaron a 11,800 x g (8,000 rpm) durante 20 min a 20 °C en una centrífuga (Sorvall RC-5B, Du Pont Instruments, MN, EUA).

La pectina fue purificada con membrana de diálisis (Spectra/Por 6 Dialysis Membrane, Spectrum Laboratories Inc., CA, EUA) cambiando el agua destilada cada 3 h durante 3 días. Finalmente los geles fueron secados en estufa

(Memmert, Wisconsin Oven Distributions, LLC, WI, EUA) durante 24 h a 30 ± 2 °C. El rendimiento de la pectina fue calculado como porcentaje con la Ecuación (1):

$$\text{Rendimiento} = \frac{M_{\text{pec}}}{M_{\text{pulpa}}} \times 100 \quad (1)$$

donde M_{pec} : peso de la pectina obtenida en la extracción (g) y M_{pulpa} : peso de la pulpa de tejocote utilizada (g).

5.2.3. Grado de esterificación

El grado de esterificación de la PT55 y PC se determinaron con el método reportado por Singthong *et al.* (2004), 500 mg de pectina purificada se colocaron en un matraz erlenmeyer y se agregaron 2 mL de etanol (96% v/v) con 100 mL de agua libre de CO₂ para disolver. Se agregaron 5 gotas de fenolftaleína y se tituló con NaOH 0.5 N (volumen A). Posteriormente, a la solución anterior (A) se le agregaron 10 mL de NaOH 0.5 N agitando vigorosamente y dejando reposar por 15 min; se adicionaron 10 mL de HCl 0.5 N y se tituló la solución con NaOH 0.5 N (volumen B). El grado de esterificación (DE) se calculó con la Ecuación (2), donde A: volumen gastado en la primera titulación y B: volumen gastado en la segunda titulación, ambos en mL.

$$\text{DE} = \frac{B}{(A+B)} \times 100 \quad (2)$$

5.2.4. Preparación de las emulsiones y formación del recubrimiento

Preparación de emulsiones. Se prepararon cuatro emulsiones aceite en agua (O/W), cuya fase oleosa estuvo constituida por CC con una fracción volumétrica

(Φ) de 0.05 y 0.1, variando la concentración de pectina en la fase acuosa (dispersiones de PT55 y PC a 1% y 2% p/p).

La composición de 100 g de emulsión O/W para los tratamientos 1 y 3 fue: 1.0 g de pectina, 0.5 g de carboximetilcelulosa (CMC) y 0.25 g de monoestearato de sorbitan (span[®] 60) en la fase acuosa; 0.5 g de cera de candelilla y 1.26 g glicerol en la fase oleosa. Para los tratamientos 2 y 4: 2.0 g de pectina, 0.5 g de carboximetilcelulosa (CMC), 0.5 g de span[®] 60, 1 g de cera de candelilla y 1.26 g glicerol en la fase oleosa. Cabe mencionar que tanto el glicerol como la CMC se mantuvieron constantes.

En la Figura 7 se muestra la secuencia de elaboración de las emulsiones O/W, la fase oleosa se preparó por separado a una temperatura de 70 ± 2 °C diluyendo la cera de candelilla en glicerol e incorporándola gota a gota a la fase dispersante. La fase acuosa se preparó previamente con dispersiones de pectina y CMC en agua destilada (ambas por separado) con ayuda de un agitador magnético a temperatura ambiente durante 24 h, una vez dispersos los polímeros se mezclaron con span[®] 60 y se calentaron en baño maría a 70 °C. Cuando la mezcla alcanzó la temperatura de la fase oleosa se agregó gota a gota como ya se mencionó previamente. Una vez adicionada la fase oleosa se homogeneizó la mezcla con un equipo Ultra-turrax (modelo T50basic, IKA Labortechnik, Staufen, Alemania) a una velocidad de 894 x g (10 000 rpm) durante 3 min a una temperatura de 70°C.

El Cuadro 4 muestra la distribución de los tratamientos de acuerdo a la concentración de biopolímero (pectina de tejocote o pectina comercial) y cera de candelilla

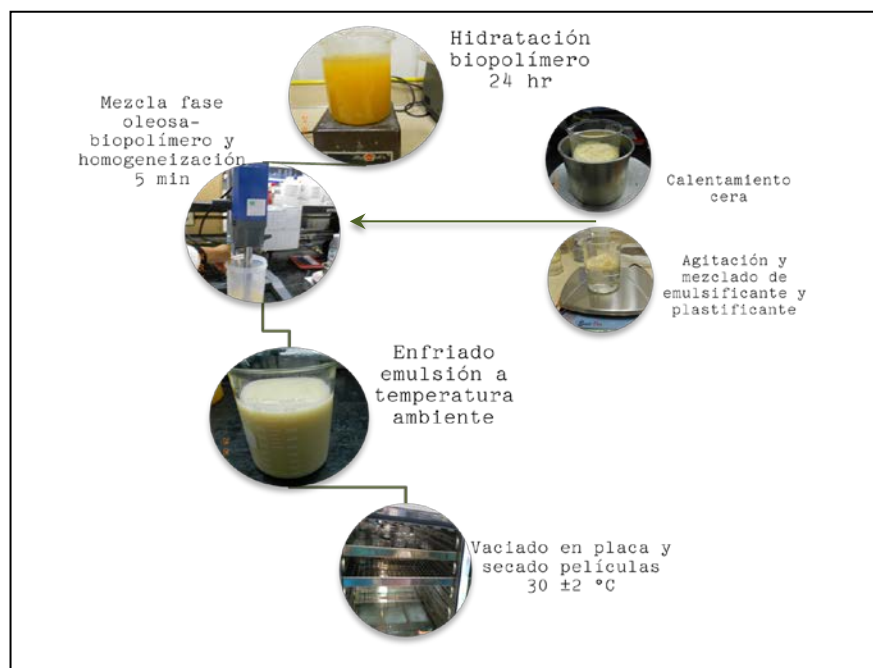


Figura 7. Proceso de elaboración de las emulsiones aceite en agua (O/W).

Cuadro 4. Formulación de emulsiones aceite en agua con pectina (de tejocote o comercial) y cera de candelilla.

Tratamientos	Concentración de pectina (% p/p)*	Concentración de cera de candelilla (% p/p)**
T1PT1	1%	0.05
T2PT2	2%	0.1
T3PC1	1%	0.05
T4PC2	2%	0.1

PT: pectina de tejocote Accesoión 55; PC: pectina comercial; T: tratamiento; *: concentración de biopolímero (pectina) en porcentaje con respecto al peso total de la emulsión; ** concentración de cera de candelilla en relación a la concentración de pectina (Φ).

5.2.5. Caracterización de las emulsiones

5.2.5.1. Determinación del tamaño de gota. El tamaño de gota de las emulsiones se midió con el equipo Master Sizer 3000[®] (Malvern Instruments, Ltd. Worcs., Inglaterra), el tamaño se expresó como diámetro volumétrico superficial ($d_{3,2}$) de acuerdo a la ecuación (3):

$$d_{3,2} = \frac{\sum_i z_i d_i^3}{\sum_i z_i d_i^2} \quad (3)$$

Donde z_i es el número de gotas con diámetro d_i proporcionado por el software del instrumento (Bosquez *et al.*, 2010).

Las muestras fueron diluidas en agua destilada hasta un índice de oscurecimiento de 16%. Se consideró el índice de refracción para la cera de candelilla de 1.455 (Rojas *et al.*, 2011), realizando tres repeticiones por tratamiento.

5.2.5.2. Comportamiento de flujo de las emulsiones. La variación de la viscosidad aparente (η_{ap}) de las emulsiones, se determinó mediante curvas de flujo, aplicando tasas de corte en el rango de 10^{-3} a $10^3 \cdot s^{-1}$ en un reómetro (MCR 301, Anton Paar[®], Messtechnik, Alemania), usando una geometría cono-plato con cono rotatorio de 50 mm de diámetro y 1° de ángulo, se colocaron 3 mL de muestra de cada emulsión en el sistema de medición.

Los datos de las curvas log viscosidad aparente-tasa de corte, se ajustaron usando el software del reómetro a los modelos reológicos de Carreau, Casson, Cross y Ellis (Steffe, 1996) que describen el comportamiento de fluidos independiente del tiempo. Todas las mediciones fueron llevadas a cabo a $4^\circ C$.

Los puntos graficados son el promedio de 3 repeticiones, usando una muestra nueva por cada repetición.

5.2.6. Caracterización de las películas

Preparación de las películas. Emulsiones de cada tratamiento fueron preparadas 24 h previas, de las cuales 6 mL de cada emulsión se vaciaron en placas de vidrio con superficie nivelada, plana y diámetro de 9 cm. Se dejaron secar en estufa (Memmert, Wisconsin Oven Distributions, LLC, WI, EUA) a 30 ± 2 °C durante 24 h. Posteriormente, las placas se colocaron en un desecador con sílica gel a una humedad relativa de 23% hasta alcanzar peso constante. Las películas formadas fueron removidas de las placas y almacenadas durante 24 h bajo las mismas condiciones de humedad para su posterior caracterización.

Espesor. El grosor medio de las películas se calculó con mediciones efectuadas aleatoriamente en 5 muestras rectangulares de 3 x 3 cm, usando un micrómetro (Starret T230, Starret Company, Massachusetts, EUA) con una resolución de 0.001 mm. Se realizaron tres réplicas de cada película.

Transparencia. Se aplicó el método propuesto por Al-Hassa y Norziah (2011) y Bao *et al.* (2009). Con piezas de películas en forma rectangular de 0.5 × 12.5 cm, las cuales se colocaron en celdas de espectrofotómetro UV (CS-200PC[®] Globe [™], Spectronics Instruments Inc., Rochester, New York, EUA) de forma perpendicular al paso de la luz. A cada muestra se midió transmitancia en una

longitud de onda de 550 nm. La transparencia (T) se calculó con la ecuación (4), donde Tr y e son transmitancia y espesor película (mm), respectivamente. Se utilizó una celda vacía como blanco, el resultado fue la media de 5 muestras evaluadas de cada película.

$$T = \frac{2 - \log_{10} Tr}{e} \quad (4)$$

5.2.6.1. Permeabilidad al vapor de agua (PVA). La permeabilidad al vapor de agua (PVA) de las películas se determinó empleando el método gravimétrico conocido como el “método de copa” descrito por McHugh *et al.* (1993). Se seleccionaron tres películas circulares de 9 cm de diámetro de cada formulación sin defectos físicos como grietas, burbujas o agregados de cera. Previamente las películas fueron acondicionadas en un desecador con silica gel a una HR de 30% durante una semana.

Las películas se colocaron cuidadosamente sobre la parte superior de celdas de ensayo (recipientes de vidrio con capacidad de 125 mL, 7.5 cm de alto, 4.5 cm de diámetro y boca recta) fijándolas con una banda elástica (Figura 8). En el interior de éstas se colocaron 35 mL de solución saturada de KNO₃ (Meyer® S.A. de C.V. D.F., México) para generar una humedad relativa constante de 97%. Las celdas de ensayo se colocaron en un desecador a temperatura constante de 24 °C y HR 54%. La humedad relativa dentro del mismo desecador se mantuvo constante con el empleo de una solución saturada de K₂CO₃ anhidro (Meyer® S.A. de C.V. D.F., México), la cual formó un gradiente de presión para que el vapor de agua dentro de las celdas de ensayo se

difundiera a través de la película, ocasionando así una pérdida de peso en las celdas con mayor humedad (sal KNO_3 y HR 97%). Las celdas de ensayo se pesaron antes de meterse a la cámara de ambientación y después de 24 h y hasta alcanzar el régimen estacionario de peso constante. Con ayuda de un sensor de presión y humedad (Kestrel® 4000 NV, Pocket Weather® Meter, Nielsen-Kellerman Company Birmingham Michigan, EUA) se determinó el tiempo al régimen estacionario. Todas las pruebas se hicieron por triplicado para cada formulación o tratamiento.

Se evaluaron las presiones parciales (P_a) de vapor dentro (p_v^i) y fuera (p_v^0) de la celda con la expresión ($p_v = H_r p_v^*$), donde p_v^* es presión de vapor de saturación y P_a evaluada con una tabla de vapor. Las presiones parciales se corrigieron con la Ecuación (5) de acuerdo a la forma propuesta por Gennadios *et al.* (1994), considerando la difusión gaseosa a través de la capa de aire estancada en ambos lados de la película, donde P_{atm} es la presión atmosférica (77,993 Pa), r_{vm} es flux molar de vapor de agua en la capa de aire ($\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \text{m}^2$), T es temperatura absoluta (K), R es la constante del gas ideal (8.3144 J/mol K), D es el coeficiente de difusión en el aire (m^2/s) y Δz la altura (m) entre la solución salina y el recubrimiento.

$$p_v = (p_{\text{atm}} - p_v^*) \exp\left(\frac{r_{vm}RT \Delta z}{P_{\text{atm}}D}\right) \quad (5)$$

La permeabilidad a vapor de agua se calculó con la Ecuación (6) en unidades de ($\text{kg} \cdot \text{m/s} \cdot \text{m} \cdot \text{Pa}$) y se convirtieron a ($\text{mol} \cdot \text{m/s} \cdot \text{m} \cdot \text{Pa}$) usando el peso

molecular del agua (18.02 g/mol), donde x es el espesor de la película (m) y los superíndices indican los lados interno (i) y externo de la celda de prueba (o).

$$PVA = \frac{r_v \cdot x}{A(p_v^i - p_v^o)} \quad (6)$$



Figura 8. Celdas de permeabilidad para la determinación de PVA de las películas.

5.2.6.2. Propiedades mecánicas. Resistencia a la tensión y punción. Todas las pruebas se realizaron en un texturómetro TA-XT2i (Stable Micro Systems UK, Surrey RU). Muestras de películas fueron cortadas en tiras de 8×3 cm, previamente acondicionadas a HR de 23% durante 48 h. La prueba de esfuerzo de tensión se realizó con el método descrito por Henrique *et al.* (2007) usando pinzas de tensión para sujetar las tiras por los extremos (Figura 9), y una rutina de estiramiento durante 15 mm a velocidad de deformación de 2.0 mm/s.

La prueba de elasticidad se realizó con los parámetros anteriores (15 mm y 2.0 mm/s de distancia y velocidad de ensayo respectivamente) considerando la distancia hasta la ruptura de la muestra. El parámetro se calculó dividiendo la distancia hasta la ruptura entre la longitud inicial de la muestra multiplicado por 100 (Navarro *et al.*, 2011).

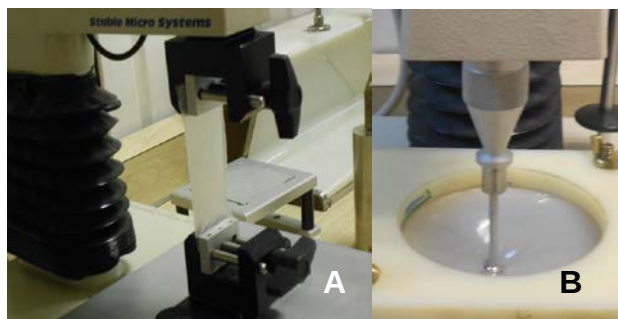


Figura 9. Prueba de esfuerzo de tensión (A) y punción (B) realizadas a las películas.

El ensayo de punción se realizó con el método descrito por Pintado *et al.* (2009) en muestras de película de 50 mm de diámetro. Los círculos de película se sujetaron en una placa de polietileno rígida con un orificio por donde la sonda esférica de 2 mm de diámetro perforó la película, con una velocidad de ensayo 2.0 mm/s aplicando una fuerza de 0.098 N y una distancia de deformación de la muestra 0.2 mm. La prueba se mantuvo hasta la ruptura de la muestra, realizando 5 repeticiones por tratamiento. Los resultados se expresaron en MPa.

5.3. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza aplicando un modelo completamente al azar (DCA) realizando un análisis de varianza y prueba de contraste de medias con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Posteriormente se realizó al grupo de variables un análisis de correlación canónica, con la finalidad de examinar las relaciones entre grupos de variables de las propiedades de la emulsión con respecto a las propiedades del recubrimiento. En ambos análisis se usó el paquete estadístico SAS (SAS[®] 9.2, Foundation for Microsoft[®] Windows[®], SAS Institute Inc., N.C., EUA).

5.4. Resultados y discusión

5.4.1. Características de pectina de tejocote ACC55

5.4.1.1. Rendimiento de extracción. El rendimiento de PT55 (accesión originaria de Puebla, Figura 10) fue 4.3%, este resultado coincide con lo reportado por Yapó (2009) quien indica un 4.1% de pectina purificada para el fruto de la pasión bajo con el mismo método de extracción. Por otra parte, para las fuentes comerciales de pectina de manzana y cáscaras de cítricos reportan rendimientos 2.6-3.2% de peso en seco como pectina purificada (Happi Emaga *et al.*, 2012) y de 7-15% como pectina cruda (Sijin-Wang *et al.*, 2007; Masmoudi *et al.*, 2008; Loyola *et al.*, 2011; Methacanon *et al.*, 2014). En promedio el rendimiento de PT55 fue superior comparándolo con las pectinas comerciales purificadas. Yapó (2009) menciona que el rendimiento dependerá del método de extracción, el procedimiento y el grado de pureza, siendo este último un factor importante sobre la calidad.



Figura 1. Fruto (A) y pectina (B) de tejocote de la ACC55 del Banco de Germoplasma de la Universidad Autónoma Chapingo.

Por su parte, Aldana-Villaruel (2011) y Methacanon *et al.* (2014) indican que es posible mejorar los rendimientos de pectina mediante la aplicación de pre-tratamientos y procedimientos físico-químicos o enzimáticos.

5.4.1.2. Grado de esterificación de PT55 y PC. El grado de esterificación (DE) de la PT%% fue 76.9 ± 0.06 y PC de 70.9 ± 0.90 , ambas son pectinas de alto metoxilo, ya que con un DE mayor a 50 indica que más del 50% de los grupos carboxilo son esterificados. Espitia *et al.* (2013) y Aldana-Villaruel (2011) mencionan que los grupos carboxílicos de la cadena de ácido galacturónico de las pectinas pueden estar metil esterificados y que el porcentaje de grupos esterificados se expresa como el grado de esterificación. Es importante conocer el DE de las pectinas ya que es un factor que determina en gran medida su propiedad gelificante, su habilidad para ligar agua y su capacidad estabilizante (Yapo, 2009).

El DE PT55 fue mayor en comparación con PC, pero ambas de alto metoxilo, este tipo de pectinas tienen la capacidad de formar geles térmicamente irreversibles en presencia de grandes cantidades de azúcar (>55%) (Yapo, 2009).

5.4.2. Caracterización de las emulsiones

En la Figura 11 se muestra la apariencia de los cuatro tratamientos, T1PT1 y T2PT2 fueron elaborados con PT55 mientras que T3PC3 y T4PC4 con PC.



Figura 11. Emulsiones preparadas para los tratamientos seleccionados. T1: tratamiento T1PT1, emulsión con 1% PT55+0.05 CC; T2: tratamiento T2PT2 con 2% PT55+0.1 CC; T3: tratamiento T3PC1 emulsión con 1% PC+0.05 CC; T4: tratamiento T4PC2 con 2% PC+ 0.1 CC.

5.4.3. Comportamiento de flujo de las emulsiones

En la Figura 12 se muestran las curvas de viscosidad aparente contra la tasa de corte de las distintas emulsiones, se puede observar que el patrón de flujo fue diferente para las elaboradas con PT55 que aquellas con PC. Las emulsiones con PT presentaron una región newtoniana a bajas tasas de corte y una región adelgazante al corte a tasas de corte altas, siendo el T1P1 a menor tasa (0.05 s^{-1}) en comparación con T2PT2 (0.1 s^{-1}). Las emulsiones con PC presentaron la región newtoniana por debajo de tasas 0.01 s^{-1} . En la zona newtoniana suceden reacomodos estructurales por la acción de esfuerzos cortantes sin que exista una ruptura neta en las unidades moleculares de los sistemas, se puede observar en la emulsión elaborada con 2% de PT55 presenta una zona newtoniana más amplia asociada a un mayor nivel de estructuración reversible favorecida por el tipo y concentración de pectina (alto metoxilo) (Li *et al.*, 2008).

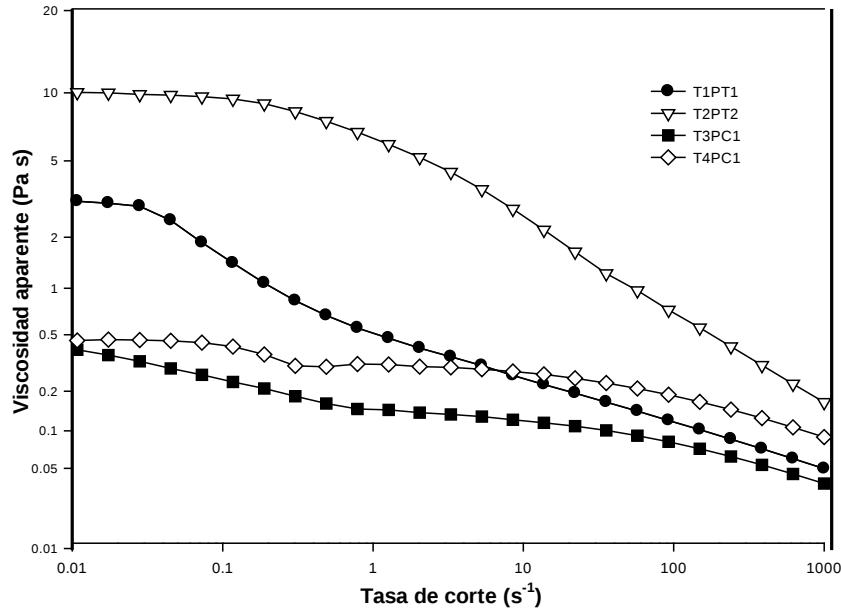


Figura 12. Comportamiento de la viscosidad aparente de las emulsiones en función de la tasa de corte. Donde T1 y T2: emulsiones con PT55, T3 y T4: emulsiones con PC.

A partir de tasas de corte de 0.1 las emulsiones con PT presentaron la zona de adelgazamiento al corte o también denominado comportamiento pseudoplástico, la cual es una zona donde predominan ruptura de enlaces sobre la formación de nuevas estructuras, lo cual causa la alineación de las moléculas en dirección al flujo y por lo tanto una disminución progresiva de la viscosidad aparente (Murillo *et al.*, 2011).

En cambio, las emulsiones con PC presentaron una zona de adelgazamiento al corte poco pronunciada iniciando a tasas menores $0.1 s^{-1}$ pero permanecen prácticamente constantes a tasas de corte mayores, existiendo así poca disminución de η_{ap} , lo que indica que hay menor grado de ruptura de las estructuras en comparación con las emulsiones de PT.

Los valores de viscosidad aparente (η_{ap}) variaron siendo T2PT2 y T1PT1 mayores que T4PC2 y T3PC1. Esto coincide con lo reportado por Yapo *et al.* (2007) donde establece que el comportamiento de la viscosidad está en función del grado de esterificación, a mayor grado las pectinas tienen mayor propiedad gelificante, en este sentido, las elaboradas con PT fueron las de mayor DE y η_{ap} . Rajinder (2011) menciona que el comportamiento reológico de una emulsión es muy sensible a la concentración del biopolímero un aumento de sólidos agregados en la fase continua afecta la viscosidad de las emulsiones.

Por otra parte en el comportamiento de flujo también pudo influir la propiedad de la CC al polimorfismo, ya que de acuerdo a Morales-Rueda *et al.* (2009) CC presenta un fenómeno de cristalización como resultado de la temperatura (2-5°C) y la concentración (>1%) provocando que exista una orientación o aglomeración de las estructuras (de la fase dispersa, continua y tensoactivo) en posibles cristales hexagonales. Estos autores mencionan que geles elaborados con CC a concentraciones de 2% presentaron mayores valores de viscosidad en comparación con tratamientos con 1% concentración. Este comportamiento se observó en T2PT2 ya que las pruebas se corrieron a 4°C (por la temperatura de aplicación en el hongo seta) con una concentración de CC 2%.

Los datos experimentales de viscosidad aparente vs tasa de corte fueron ajustados a varios modelos, siendo el de mejor ajuste ($R^2= 0.93-0.97$) el modelo de Carreau Modificado o simplificado por Dolz *et al.* (2007) (Ec. 6)

$$\eta_{ap} = \frac{\eta_0}{(1+(\lambda \cdot \dot{\gamma})^2)^c} \quad (6)$$

Donde η_{ap} : viscosidad aparente, η_0 : viscosidad a cero tasas de corte, λ : tiempo de relajación (s), $\dot{\gamma}$: tasa de corte y $c = (n-1)/2$, donde n es una constante adimensional relacionada con el índice de comportamiento de flujo.

Cabe mencionar que éste modelo no presenta el parámetro η_{∞} ya que se observa en la Figura 12 las emulsiones nunca presentaron una zona infinita ni tampoco una zona newtoniana a bajas tasas de corte para los tratamientos T3PC1 y T4PC2, por lo que el modelo se pudo ajustar satisfactoriamente.

Las emulsiones con PT55 presentaron diferencias significativas en los parámetros de Carreau modificado (Cuadro 6) de las elaboradas con PC. Las emulsiones elaboradas con PT55 presentaron valores más altos de η_0 , esto sugiere que el tipo de pectina y cantidad de sólidos (concentración de CC) formaron mayor número de interacciones entre el polímero y las gotas adyacentes de cera, en comparación con las elaboradas con PC cuyos arreglos fueron bajos o de interacciones más débiles.

Las emulsiones T1PT1 y T2PT2 son las que presentaron los valores de λ más bajos comparados con los elaborados con PC, se sabe que los tiempos de relajación (λ) están relacionados con la ruptura y el tiempo de recuperación de los enlaces en el sistema, por lo que al disminuir λ requiere de menor tiempo para que la estructura se recupere.

Cuadro 5. Parámetros del modelo de Carreau Modificado.

Código de la emulsión	c (adimensional)	λ (s)	η_0 (Pa • s)
T1PT1	0.4035 ± 0.01 ^b	77.52± 28.9 ^b	3.01±0.76 ^b
T2PT2	0.3621± 0.04 ^a	1.36± 0.07 ^c	9.99±0.005 ^a
T3PC1	0.4547±0.06 ^c	116.71±3.6 ^a	0.39± 0.003 ^c
T4PC2	0.4620±0.02 ^c	5.35± 1.5 ^c	0.43± 0.005 ^c

Superíndices distintos en la misma columna, indican que las medias difieren significativamente ($p \leq 0.05$). Los datos indican medias $\pm$ desviación estándar. T1PT1: emulsión 1% PT55+0.05 CC, T2PT2: 2% PT55+ 0.1 CC, PC1 y PC2: 1 y 2% PC+ 0.05 y 0.1 CC respectivamente.

El parámetro c está relacionado con el índice de comportamiento de flujo (n), donde las emulsiones T1PT1 y T2PT2 c fue estadísticamente mayor que T3PC1 y T4PC2. Dolz *et al.* (2007) menciona que valores de n cercanos a 0.10 es característico de emulsiones y a 0.15 o más son para geles. Esto coincide con los tratamientos T1PT1 ($n=0.1930$) y T2PT2 ($n=0.2757$) cuyo valor puede inducir un comportamiento de gel, lo que a su vez coincide con las curvas de viscosidad (Figura 12) donde los tratamientos con PT55 presentaron mayor η_0 con posible formación de cristales de la CC.

Por otra parte, cuando el índice de comportamiento de flujo se acerca a 1 ($n=1$) se trata de flujo newtoniano, mientras que $n<1$ el fluido presenta un comportamiento de adelgazamiento al corte. En este sentido las 4 emulsiones presentaron valores menores a 1 lo que indica que tienen un comportamiento de flujo no newtoniano.

Estudios similares mostraron un comportamiento de flujo no newtoniano, Murillo *et al.* (2011) y Alves *et al.* (2011) donde emulsiones proteína-polisacárido y

polisacárido-glicerol respectivamente, la viscosidad aparente disminuyó conforme aumentaba la velocidad de tasa de corte, lo cual se atribuye al rompimiento paulatino de estructuras reversibles o redes formadas por fuertes interacciones entre los complejos poliméricos adsorbidos con las gotitas adyacentes de la fase oleosa. Este comportamiento se refuerza con valores bajos de λ para emulsiones con PT55 los cuales requieren de un esfuerzo cortante más alto para romper la estructura y a su vez de un tiempo menor para que la estructura se recupere.

Los resultados de tamaño de gota (Cuadro 6) sugieren que las emulsiones con PT55 tuvieron gotas de diámetro medio superficial pequeño favoreciendo la formación de redes y entrecruzamientos reflejando valores altos de η_0 y mayor capacidad de recuperación bajo la aplicación de esfuerzos cortantes.

5.4.4. Tamaño de gota de la emulsión

En el Cuadro 6 se muestra el diámetro volumétrico superficial ($d_{3,2}$) de las gotas de cera de las emulsiones O/W, éstos indican que no hubo diferencia significativa entre tratamientos ($P \geq 0.05$) y el incremento de sólidos de 0.05 a 0.1% no afectó. En general, el tamaño de partículas para todas las emulsiones se encontró en un rango de 1.7 a 1.9 μ m. El diagrama de distribución de tamaño de gota para los 4 tratamientos presento dos picos (datos no mostrados en esta sección) que corresponden a dos tamaños diferentes (comportamiento bimodal) distribuyéndose en un rango de 0.5- 5 μ m.

A pesar que existió diferencia significativa entre tratamientos se observa que T4PC2 presentó un diámetro mayor.

Cuadro 6. Diámetro superficial de las gotas de las emulsiones

Emulsión	$d_{3,2}$ μm
T1PT1	1.713 ± 0.015^a
T2PT2	1.752 ± 0.002^a
T3PC1	1.785 ± 0.004^a
T4PC2	1.991 ± 0.218^a

Superíndices distintos en la misma columna, indican medias significativamente diferentes ($P \leq 0.05$). Los datos indican medias $\pm$ desviación estándar. T1PT1: 1% PT55+ 0.05 CC, T2PT2: 2% PT55+0.1 CC, T3PC1: 1% PC+0.05 CC y T3PC2: 2% PC+0.1 CC.

Se ha encontrado que el peso molecular de las pectinas así como una red del polímero fuertemente entrecruzada influye sobre la inmovilización y dispersión de las gotitas en la fase continua, y que en emulsiones sometidas a calentamiento especialmente superiores a 85°C, conlleva a la desestabilización y agregación de las gotas (Leal-Calderon *et al.*, 2007), lo anterior coincide con la capacidad de la PT55 de formar emulsiones térmicamente estables debido a su grado de esterificación y su capacidad emulsificante; el complejo PT55-carboximetilcelulosa (CMC) a través de sus interacciones electrostáticas formaron redes de entrecruzamientos fuertes que permitieron la formación y suspensión de gotas relativamente más pequeñas. Las emulsiones elaboradas con PC presentaron un $d_{3,2}$ mayor no significativo atribuido al DE menor en comparación con PT55, lo que coincide con Leal-Calderon *et al.* (2007) quienes

mencionan que la fuerza de repulsión entre dos gotitas se debe tanto a la cantidad del tensoactivo adsorbido en la superficie de las gotas, como a la superficie activa de los grupos carboxilo esterificados de los polisacáridos lo que permitirá coexistir un cierto tamaño de micelas.

Los valores obtenidos $d_{3,2}$ son similares a los reportados por Bonilla *et al.* (2012) en películas de quitosano con aceites esenciales de albaca y tomillo, las dispersiones O/W mostraron tamaños de 1-10 μm , atribuyendo esta variación al contenido de aceite, entre mayor fue la proporción, más grande fue el tamaño de partícula. Este comportamiento se presentó en emulsiones T3PC1 y T4PC2 con PC, donde a mayor concentración de la fase dispersa mayor tamaño de partículas, sin embargo para aquellas elaboradas con PT55 la mayor fracción volumétrica fue la de menor tamaño de gota, esto atribuido a mayor concentración de la fase dispersante (2% PT55), al DE, al efecto del tensoactivo y a las interacción electrostáticas PT55-CMC facilitaron la formación de redes más estructuradas lo que permitió la suspensión de gotas relativamente más pequeñas.

Otro factor que influyó en el tamaño de gota fue la viscosidad de la emulsión, donde T2PT2 y T1PT1 con mayor η_0 , fueron las elaboradas con PT55 cuya capacidad de formar geles de alta viscosidad permitió la estabilidad de la gota en comparación con las de PC.

5.4.5. Caracterización de las películas comestibles

5.4.5.1. Propiedades físicas. Espesor y Transparencia. En la Figura 13 se muestra la apariencia visual de las películas comestibles formadas, donde T2PT2 y T4PC2 fueron poco flexibles, opacos, de textura lisa, homogéneos y sin poros visibles a simple vista pero ambos diferentes en color y espesor. En contraste T1PT1 y T3PC1 fueron elásticos y lisos, siendo T3PC1 más frágil, con mayor transparencia pero menor espesor.

Los cuatro tratamientos tuvieron espesor significativo ($P \leq 0.05$) siendo T1PT1 y T3PC1 diferentes que T2PT2 y T4PC2 (Cuadro 7), esto puede estar vinculado con la concentración del biopolímero y la fracción volumétrica dispersa, puesto que a mayor concentración presentaron mayor espesor (94.3 y 102 μm) siendo T2PT2 < T4PC2. Esto se relaciona con el $d_{3,2}$ de las emulsiones ya que T4PC2 fue el que tuvo tamaño relativamente más grande (Cuadro 6), asimismo los resultados se correlacionan con los tratamientos de menor transparencia significativa ($P \leq 0.05$) y mayor opacidad debido posiblemente al efecto de secado de las películas, ya que en ésta se generan cambios en la fase continua provocando coalescencia (cremado o floculación) de las gotas de cera por la eliminación gradual del agua (Chiumarelli *et al.*, 2012).

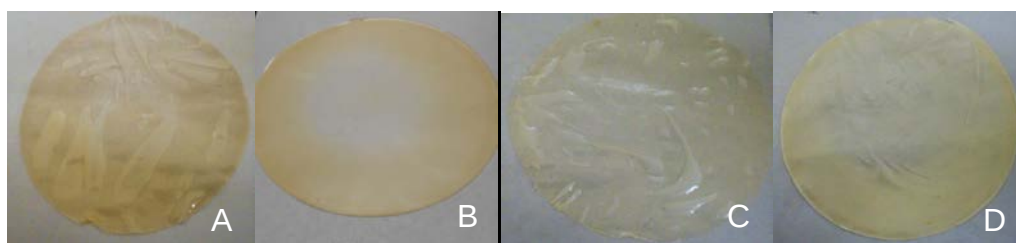


Figura 13. Recubrimientos comestibles a partir de emulsiones O/W, donde A, B son las de PT55, C y D con PC.

La mayor transparencia del T2PT2 que T4PC2 también puede ser atribuida a la formación de estructuras abiertas resultantes de las interacciones estéricas de PT55 y PC con la CMC, las propiedades emulsificantes formadas entre la PT, el surfactante y las gotas de cera, pero sobre todo debido por el efecto del plastificante el cual se inserta entre las cadenas de polímero formando estructuras más abiertas.

Cuadro 7. Propiedades físicas, mecánicas y de barrera de los recubrimientos formulados con pectina de tejocote y comercial.

Tratamiento	Es (μm)	Tr	PVA (g/m s Pa)
T1PT1	63.00 ± 3.0^b	19.34 ± 0.34^a	$7.005 \times 10^{-14}^a$
T2PT2	94.33 ± 5.1^a	16.98 ± 1.99^b	$0.128 \times 10^{-14}^a$
T3PC1	47.33 ± 10.2^b	28.46 ± 6.33^a	$9.175 \times 10^{-14}^a$
T4PC2	102.00 ± 8.5^a	14.15 ± 1.80^b	$0.122 \times 10^{-14}^a$

Es: espesor; Tr: transparencia; PVA: permeabilidad al vapor de agua. Superíndices distintos en la misma columna indican medias significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). Los datos indican medias $\pm$ desviación estándar.

La adición de CC en mayor concentración en los tratamientos T2PT2 y T4PC2 provocó mayor opacidad de las películas por la absorción de la luz de la cera, esto coincide con lo mencionando por Chiumarelli *et al.* (2012) y Embuscado *et al.* (2009) sobre películas que contienen sustancias hidrofóbicas en su formulación que contribuyen a la opacidad de éstas y tienden a ser más gruesas y quebradizas.

En el caso de las películas con 0.05% CC (T1PT1 y T3PC1) presentaron menor espesor pero mayor transparencia, siendo T3PC1 más transparente que la elaborada con PT, en este sentido, la transparencia pudo ser atribuida al

contenido de glicerol (plastificante) el cual, según Espitia *et al.* (2013) actúa entre las cadenas poliméricas ampliando las estructuras e interacciones entre las moléculas y coexistiendo de esta forma separación de las gotas de CC.

Los cuatro tratamientos fueron de menor espesor que los reportados por Brasil *et al.* (2012) y Andreuccetti *et al.* (2012) en recubrimientos de pectina con quitosano aplicados a papaya, y de extracto de yuca, 300 y 166-357 μm de espesor respectivamente. Fajardo *et al.* (2010) reportan espesores en películas de quitosano con natamicina (45-52 μm) similares; ambos autores coinciden que el espesor está en función del tipo de biopolímero, ya que los materiales higroscópicos, el contenido de agua en la emulsión y el número de componentes en la matriz estructural, influyen en el espesor de la película final. Además de estos factores, también influyó las propiedades de la PT55, el grado de esterificación DE y el tipo de interacciones estéricas y electrostáticas atractivas formadas entre los polímeros (pectina-CMC), el surfactante, plastificante y las gotas de cera.

5.4.5.2. Propiedades de barrera. Permeabilidad al vapor de agua (PVA). En el Cuadro 7 se muestran los valores de PVA, se observa que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos, sin embargo T2PT2 y T4PC2 presentaron valores de permeabilidad más bajos (0.128×10^{-14} y 0.122×10^{-14} g/msPa) en comparación con T1PT1 y T3PC1, éstos tratamientos corresponden a los de mayor contenido de CC que impartió una carácter menos polar a la matriz polimérica y por consecuencia una disminución de PVA.

Espitia *et al.* (2013) mencionan que en películas formadas a partir de emulsiones de pectina con compuestos lipídicos las propiedades de barrera a la humedad mejoran, ya que en presencia de un agente emulsionante, el polisacárido atrapa el componente lipídico y dependiendo de la concentración y las condiciones polimórficas de las fases impartirá un efecto significativo como barrera contra humedad.

Los tratamientos T1PT1 y T3PC1 presentan mayor PVA debido a varios factores como la reducción de la concentración del polímero (1%), menor concentración de CC (0.05%), e igual cantidad de plastificante que T2PT2 y T4PC2, lo que pudo conferirle mayor propiedad higroscópica a la película y por ello mayor PVA. Espitia *et al.* (2013) mencionan que los plastificantes como el glicerol, polietilenglicol, sorbitol, entre otros, generalmente son higroscópicos y disminuyen la capacidad de las películas para actuar como barrera.

Condés *et al.* (2013) informaron valores de PVA en películas de proteína de amaranto entre $52\text{--}98 \times 10^{-11}$ g/msPa. Alves *et al.* (2011) reporta $1.1\text{--}5.2 \times 10^{-11}$ gH₂O/msPa en películas elaboradas con polisacáridos extracelulares, y, Sánchez *et al.* (2013) menciona reducciones del PVA hasta del 30% en películas de hidroxipropilcelulosa adicionando aceite esencial del árbol del té. Todos estos valores comparados con los obtenidos en esta investigación son superiores, considerando que esas películas fueron elaboradas con materiales hidrofílicos pone en manifiesto el efecto barrera que tuvo la cera de candelilla, ya que por ser una sustancia hidrofóbica sólida estabilizada en una emulsión con polímero PT55, establecieron interacciones estéricas favoreciendo la estabilidad de la partícula y por ello mayor eficiencia en la transferencia al vapor

de agua, en comparación con los aceites que son menos eficientes por la diferencia de hidrofobicidad de los ácidos grasos (Bosquez, 2003).

5.4.5.3. Propiedades mecánicas. Esfuerzo de tensión, punción y elongación.

Los resultados de las propiedades mecánicas (Cuadro 8) muestran que todos los tratamientos tuvieron valores de esfuerzo de tensión menores a 1 MPa. Estadísticamente fueron mayores los tratamientos T2PT2 y T4PC2 que T1PT1 y T3PC1, con 50% o más de esfuerzo de tensión. Se observa que el contenido de pectina en la fase dispersante y la concentración de CC influyo sobre las propiedades de tensión, siendo T2PT2 y T4PC2 los de mayor contenido de pectina y cera. Considerando que la resistencia al rompimiento está dado por la máxima tensión de tracción que la muestra puede soportar y que esta es sustancialmente afectada por el contenido de los componentes de la película (Fang *et al.*, 2002), los resultados indican que a mayor concentración de polímero, mayor es el esfuerzo de tensión necesario para su rompimiento. Esto quiere decir que a pesar que los complejos pectina-CMC forman interacciones electrostáticas opuestas, la propiedad de elevar la viscosidad de la PT55 junto con la CC al formar geles, propician que después del secado se formen estructuras fuertes comparadas con las elaboradas de PC.

Cuadro 8. Propiedades mecánicas de los recubrimientos formulados con PT55 y PC.

Código Emulsión	Te (MPa)	Pc (MPa)	Es (%)
T1PT1	0.155±0.031 ^b	0.049±0.007 ^b	57.20±0.00 ^a
T2PT2	0.218±0.010 ^a	0.139± 0.041 ^a	4.42±1.78 ^d
T3PC1	0.062±0.002 ^c	0.019±0.004 ^b	23.93± 2.83 ^b
T4PC1	0.133±0.034 ^b	0.129±0.015 ^a	15.43±2.49 ^c

Donde Te: tensión; Pc: punción; Es: elasticidad. Superíndices distintos en la misma columna, indican medias significativamente diferentes ($P \leq 0.05$). Los datos indican medias $\pm$ desviación estándar.

De igual forma este comportamiento se tuvo en la prueba de resistencia a la punción siendo T1PT1 y T3PC1 estadísticamente de menor valor que T2PT2 y T4PC2. Esto se atribuye al contenido de pectina y CC, cuyas estructuras formadas por la PT55 y CC a través de interacciones estéricas y electrostáticas repulsivas, de la capacidad estabilizante de PT55, y del incremento de viscosidad por PT55 y CC al formar geles térmicamente irreversibles, permitieron formar redes más cohesivas que las elaboradas con PC.

Fang *et al.* (2002) y Navarro *et al.* (2011) mencionan que las películas se vuelven más frágiles y débiles cuando el contenido de cera aumenta en la matriz estructural, esto contrasta con los tratamientos T2PT2 y T4PC2 los cuales fueron de mayor concentración de cera, no obstante los mismos autores mencionan que el efecto de resistencia está dado también por la naturaleza del polímero base de la matriz y por el contenido de plastificante. Navarro *et al.* (2011) mencionan que en películas de almidón, el conjunto almidón-plastificante mejoró favorablemente la resistencia a la tensión, en nuestro caso, la

incorporación de PT55 en la matriz estructural junto con el surfactante favorecieron para que la CC se incorporara eficazmente entre la red polimérica evitando así fueran frágiles y quebradizas.

En la prueba de elasticidad, T1PT1 y T3PC1 fueron los tratamientos estadísticamente mayores que T4PC2 y T2PT2, a pesar que el contenido de plastificante es igual en todos los tratamientos, su efecto posiblemente se maximizó por la reducción en la concentración del polímero. T1PT1 fue mayor T3PC1 atribuyendo éstos valores a la capacidad higroscópica de la PT55 incorporando mayor cantidad de agua en la red polimérica, y, junto con el plastificante, formaron redes más flexibles. Leceta *et al.* (2013) menciona que generalmente los plastificantes actúan químicamente entre las cadenas moleculares poliméricas reduciendo la cohesión entre la película y extendiendo su estructura. Asimismo, los resultados coinciden con Chiumarelli *et al.* (2012) donde películas de almidón y cera de carnauba, la concentración de glicerol fue la variable que influyó en la elasticidad, encontrando que los valores más bajos se presentaron en los tratamientos con menor concentración de plastificante.

Las propiedades elásticas de las películas desarrolladas en la presente investigación pueden vincularse principalmente a las características físico-químicas del complejo polisacárido-plastificante, sin embargo se debe tener en cuenta el tipo de interacciones ya que cuando aumenta el peso molecular del polisacárido este comportamiento se invierte (Leceta *et al.*, 2013).

Los valores encontrados en las pruebas mecánicas fueron similares con los reportados por Chiumarelli *et al.* (2012) en películas de almidón (2-4%) y cera de carnauba (0.4-0.6%) la tensión fue 0.3-1.8 MPa y la elasticidad 10-45%.

Leceta *et al.* (2013) por su parte reportaron en películas de quitosano con glicerol, 4.5-37.6% de elasticidad y 11.9-20.6 N de deformación a la punción.

5.4.6. Análisis univariado

En el análisis de varianza (cuadro 9 y 10) se observa diferencias significativas para todas las variables respuesta, excepto PVA y diámetro superficial de gota ($d_{3,2}$). El $d_{3,2}$ entre tratamientos no varió a pesar que su formulación fue diferente, esto se explica por las propiedades de la PT55 y la capacidad de la CC de formar geles viscosos así como de las interacciones estéricas formadas por éstos (capítulo 5.4.4.). La PVA tampoco fue significativa aunque los valores encontrados en los cuatro tratamientos son de baja permeabilidad comparados incluso con materiales de empaque comerciales tales como el celofán (22.6×10^{-12} mol/msPa), de proteínas de trigo (69.7×10^{-12} mol/msPa) y de maíz (22.6×10^{-12} mol/msPa) (Aydin *et al.*, 1991).

Cuadro 9. Análisis de varianza para las variables respuesta de las características de las emulsiones elaboradas con pectina de tejocote, pectina comercial y cera de candelilla.

Fuente variación	GL	Cuadrados medios			
		$d_{3,2}$ (μm)	λ (s)	c (adimensional)	η_0 (Pa·s)
Modelo	3	0.046077	9567.0580	0.0263520	61.4744
Error	8	0.011943	212.9687	0.0000375	0.1473
CV		0.080525	1.046581	0.53478316	1.18061
Pr>F		0.0563	<.0001*	<.0001*	<.0001*

$d_{3,2}$: diámetro superficial medio de gota; λ : tiempo de relajación; c: índice de comportamiento de flujo; η_0 : viscosidad inicial.

Cuadro 10. Análisis de varianza para las variables respuesta de las características de los recubrimientos comestibles de pectina de tejocote y pectina comercial con cera de candelilla.

Fuente variación	GL	Cuadrados medios					
		Tr	Es (μ m)	Te (MPa)	Pc (MPa)	Et (%)	PVA (g/msPa)
Modelo	3	115.021841	2001.111	0.012412	0.010415	1553.0009	2.23492E-27
Error	8	11.878357	53.41666	0.000567	0.000494	4.354497	2.25507E-27
C.V.		0.320520	0.315373	0.430135	0.669497	0.818260	0.944425
Pr>F		0.0049*	<.0001*	0.0003*	0.0004*	<.0001*	0.4447

C.V.: coeficiente de variación, Tr: transparencia; Es: espesor; Te: esfuerzo de tensión; Pc: punción; Et: elongación; PVA: permeabilidad al vapor de agua.

5.4.7. Análisis de correlación canónica

El análisis de correlación canónica (CORCAN) es una técnica estadística multivariable adecuada en situaciones que se dispone de información de dos grupos de variables, dentro de los cuales a menudo suele encontrarse cierto grado de correlación entre las mismas. La técnica consiste en la construcción de pares sucesivos de variables canónicas, que son combinaciones lineales de las variables originales, pudiendo conceptualizarse como entidades globalizadoras de las variables originales del grupo del cual se derivan (Pérez *et al.* 2007).

En este sentido, se realizó un análisis de CORCAN con el objetivo de identificar la relación de las características estructurales de las películas con las propiedades de las emulsiones elaboradas, identificando grupos de asociación entre las variables respuesta de las emulsiones (tamaño de partícula y viscosidad) con las de las películas (espesor, transparencia, elasticidad y esfuerzo de tensión).

En el Cuadro 11 se muestran los coeficientes de correlación del análisis CORCAN, donde muestra que el $D_{3,2}$ y los parámetros de modelo de Carreau modificado (λ , c , η_0) tienen correlación altamente significativa con respecto a las propiedades de la película en las variables respuesta: transparencia, espesor, tensión y punción. Estas correlaciones coinciden con lo discutido en el apartado 5.4.3 al 5.4.5, donde el diámetro de gota está fuertemente relacionado con el espesor de forma positiva, es decir, conforme el diámetro de gota de la emulsión sea grande, mayor será el espesor obtenido en la película, sin embargo este comportamiento está delimitado por las propiedades de la PT55 y concentración de CC y pectina, como en el caso de los tratamientos a base de PT55, donde los tamaños de gota fueron iguales a pesar del incremento en la fracción volumétrica.

El tiempo de relajación (λ) está correlacionado con el espesor y el esfuerzo de punción de la película pero con signo negativo, es decir, cuando el tiempo de recuperación de los enlaces del sistema de la emulsión es bajo, el espesor y la punción tendrán valores altos, esto coincide con lo discutido en los apartados mencionados ya que una emulsión con bajo tiempo de relajación se caracteriza por que sus estructuras se recuperan rápidamente al aplicar un esfuerzo cortante, este tipo de emulsiones forman películas altamente cohesivas que reflejan sus propiedades en el espesor y mayor esfuerzo de tensión y punción.

Finalmente la viscosidad inicial (η_0) está correlacionada con el esfuerzo de tensión de la película, a mayor valor de η_0 se obtienen películas de mayor resistencia a la tensión. Lo anterior nuevamente coincide con los resultados de

viscosidad de las emulsiones (capítulo 5.4.3) donde aquellas elaboradas con PT55 presentaron los valores más altos de η_0 , y formaron películas más resistentes al esfuerzo de tensión, esto atribuido a las propiedades de la PT55 de formar redes y entrecruzamientos más.

Cuadro 11. Coeficientes de correlación entre las propiedades de la emulsión y las propiedades de las películas comestibles.

Características recubrimiento	Propiedades de la emulsión			
	$D_{3,2}$	λ	n	η_0
Transparencia	-0.5537	0.7957*	-0.2248	-0.289
Espesor	0.61*	-0.9462*	0.1924	0.3623
Tensión	-0.5631	0.0365	0.8737*	0.8317*
Punción	0.3315	-0.912*	0.3361	0.5126
Elongación	-0.107	0.5622	-0.0707	-0.3672
PVA	0.0955	-0.3295	0.0827	0.2482

$d_{3,2}$: diámetro de gota; λ : tiempo de relajación; n : índice de comportamiento de flujo; η_0 : viscosidad inicial. *Significancia $P \leq 0.05$.

La estructura canónica estuvo conformada por las dos primeras variables canónicas: “Emulsión 1” la cual es integradora de las características de la emulsión, y, “P1” de las propiedades de la película comestible. En la Figura 14 se observa que estas variables fueron altamente significativas ($P \leq 0.0079$), con un valor de 0.833, esto demuestra que las características de la emulsión se encuentran directamente relacionados con las propiedades de la película.

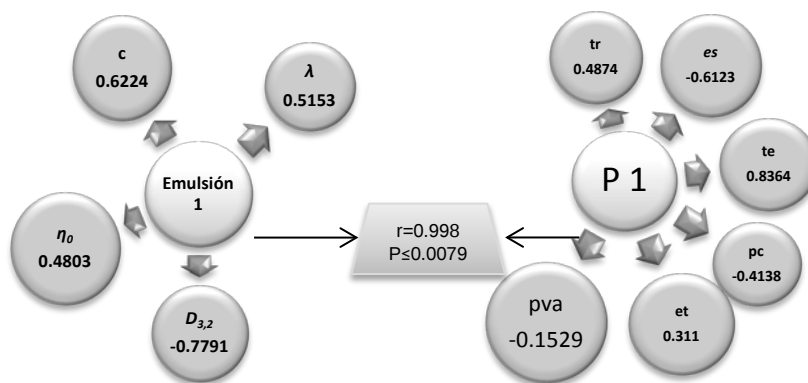


Figura 14. Fracción de la estructura canónica mostrando la primera variable canónica de cada grupo y la correlación simple con sus respectivas variables originales. $d_{3,2}$: diámetro gota (μm); λ : tiempo de relajación (s); c : índice de comportamiento de flujo (adimensional); η_0 : viscosidad inicial ($\text{Pa} \cdot \text{s}$); tr : transparencia; es : espesor (μm); te : esfuerzo de tensión (MPa); pc : punción (MPa); et : elongación (%); pva : permeabilidad al vapor de agua (g/msPa).

La Figura 14 muestra también los coeficientes de correlación entre la primer variable canónica de cada grupo con sus variables originales. Para “P1” la variable original de mayor influencia fue tensión y espesor (con signo contrario), mientras que en “Emulsión 1” fue diámetro superficial de gota (con signo negativo), índice de comportamiento de flujo y tiempo de relajación.

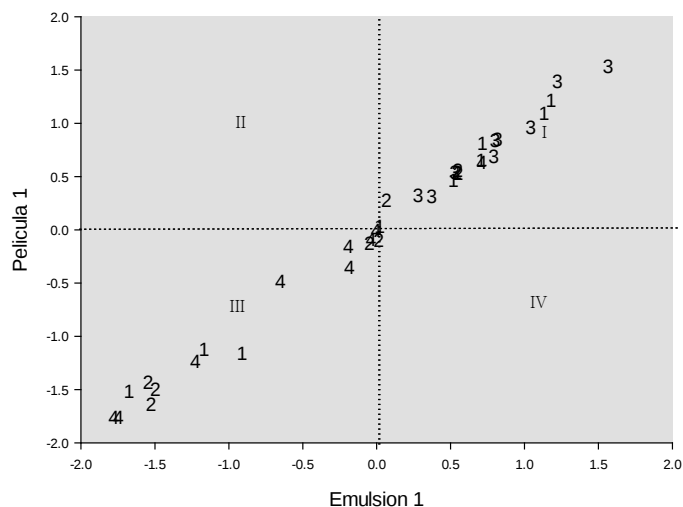


Figura 15. Representación de valores de las dos primeras variables canónicas, obtenidas de 4 variables de “Emulsión 1” y 6 de “P1”, registradas para los 4 tratamientos.

En la Figura 15 se muestra el patrón de distribución definido por las características de la emulsión y de la película comestible, usando las dos primeras variables canónicas. Los tratamientos 1 (T1PC1) y 3 (T3PC1) se ubican principalmente en el cuadrante I, mientras que los tratamientos 2 (T2PT2) y 4 (T4PC2) en el III que corresponde a los valores negativos de “Emulsión 1” y “P1”. Los tratamientos ubicados en el cuadrante III representan los de mejor propiedad, ya que de acuerdo a la Figura 14 y Cuadro 11 las variables que contribuyen con mayor peso en “Emulsión 1” es $d_{3,2}$ con signo negativo, y E_s para “PT1” también con signo negativo. Por lo tanto estadísticamente T2PT2 representó el tratamiento cuyas propiedades están principalmente correlacionadas, esto coincide con los resultados discutidos en el apartado de caracterización de las películas, donde T2PT2 con matriz estructural de PT55 proporcionó buenas propiedades de tamaño de gota,

viscosidad, películas con mayor resistencia al esfuerzo de tensión, punción y menor elasticidad, atribuyendo estas características a interacciones estéricas generadas entre la PT55-CMC con la cera de candelilla entre otras interacciones presentes en el sistema.

5.5. Conclusiones

La pectina extraída del fruto de tejocote accesión 55 presentó un grado de esterificación (76.9%) mayor que el control (PC, 70.9%) confiriendo mejores propiedades emulsificantes y estabilizantes.

Las emulsiones con polímeros PT55-CMC 1 y 2%, con 0.05 y 0.1% CC, fueron los tratamientos de mayor viscosidad (3.0 y 9.9 Pa·s) comparados con los de pectina comercial, los cuales presentaron perfiles de viscosidad con comportamiento adelgazante al corte característico de fluidos pseudoplásticos.

El diámetro volumétrico superficial $d_{3,2}$ para los cuatro tratamientos fue menor a 5 μm , siendo T4PC2 con 1.99 μm el tratamiento con mayor valor y TIPT1 (1.71 μm) el menor. Estos tamaños son pequeños para lograr el efecto de tortuosidad en el recubrimiento y ofrecer mayor resistencia a la permeación.

La concentración de cera, pectina, y el tipo de pectina influyeron significativamente ($P \leq 0.05$) en las propiedades físicas, mecánicas y de barrera de las películas, siendo el tratamiento 2% PT55 + 0.1% CC el que presentó los valores más altos de esfuerzo de tensión (0.218 MPa), punción (0.139 MPa) y menor elasticidad (4.42), con PVA (0.128×10^{-14} g/msPa).

**6. APLICACIÓN DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE Y EVALUACIÓN
DEL COMPORTAMIENTO POSTCOSECHA DE HONGO SETA
MINIMAMENTE PROCESADO**

6.1. Introducción

El cultivo de *Pleurotus spp* ha tenido un desarrollo muy rápido, una amplia aceptación en el mercado y un crecimiento de su industria, de tal manera que en la actualidad se produce en casi todas las latitudes del mundo. Tiene una atención especial por sus propiedades nutritivas, la amplia variedad de residuos orgánicos en los que es capaz de crecer y la baja inversión inicial para su producción al tratarse de una alternativa económica familiar (Boa, 2005).

En México el cultivo de los hongos comestibles tuvo sus inicios en 1933 con la especie *Agaricus biosporus* (champiñón), y hasta 1974 empezó de manera formal con la producción de *Pleurotus spp*, conocido comercialmente con el nombre de “seta”. Su cultivo es una actividad que se desarrolla en diversas partes del país como una alternativa económica que favorece a muchas familias mexicanas. Veracruz, Chiapas, Estado de México, Distrito Federal, Hidalgo, Jalisco, Puebla, Querétaro y Tlaxcala, son algunos de las entidades en donde se lleva a cabo este sistema productivo (Sánchez, 2007).

El conocimiento de los hongos se ha incrementado de tal forma, que actualmente es motivo de investigación por numerosos especialistas. Han surgido nuevos conocimientos que incluyen aspectos taxonómicos, ecológicos, nutricionales, farmacológicos y bioquímicos (Bermúdez *et al.* 2003), sin embargo poco se ha investigado en el ámbito postcosecha, existen pocos trabajos que solo caracterizan su patrón de respiración bajo algunos métodos de conservación y refrigeración, por ello, existe la necesidad de desarrollar investigación que aporte a la industria de alimentos información valuable para la mejora de la vida de anaquel de *Pleurotus ostreatus*.

6.2. Materiales y Métodos

6.2.1. Material vegetal

El material vegetal que se empleó fue hongo seta (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) proveniente de la empresa Niebla ubicada en la comunidad de San Felipe Teotitlán, municipio de Nopaltepec, Estado de México; ubicada a 2,450 m.s.m., latitud 19°44'43" N, 098°38'26" W de longitud.

Se cosecharon 100 kg los cuales fueron traídos a la Universidad Autónoma Chapingo, a su llegada se almacenaron a 4 °C durante 1 hora para reducir la temperatura de campo y poder comenzar el procesado (Figura 16).



Figura 16. Recepción de hongo seta (*Pleurotus ostreatus* Jacq.) en cámaras frigoríficas de la unidad Plantas Piloto, UACH.

6.2.2. Acondicionamiento y procesado mínimo de hongo seta

Una vez reducida la temperatura de campo a 4°C se inició el procesado mínimo con el lavado y desinfección del hongo en una solución de hipoclorito de sodio concentrado (ABA 3M[®], D.F., México) a 200 ppm, sumergiéndolos durante 3 min. Posteriormente se realizó una selección por color (eliminación de píleos

grises y café oscuro), tamaño (eliminación de púleos no desarrollados y tamaños mayores 5 cm diámetro) y libre de daños (frágiles, quebradizos y tejido muerto). Una vez seleccionados se inició el corte de los sombreros de la base o estípote conformando los tratamientos como se muestra en el Cuadro 12. Cada tratamiento estuvo conformado por 60 charolas de 150 g cada uno, con un total de 360 unidades.

Cuadro 12. Manejo de los diferentes tratamientos aplicados a hongo seta.

Código Tratamiento	Antioxidante	Recubrimiento
Testigo 0 (TE)	Sin	Sin
Testigo 1 (AT)	✓	Sin
T1PT1	✓	Con 1% PT55+0.05 CC
T2PT2	✓	Con 2% PT55+0.1 CC
T3PC1	✓	Con 1% PC+0.05 CC
T4PC2	✓	Con 2% PC+0.1 CC

T1PT1: Tratamiento 1 (T1); T2PT2: tratamiento 2 (T2); T3PC1: tratamiento 3 (T3); T4PC2: tratamiento 4 (T4).

Los sombreros de los tratamientos: Testigo1, T1 al T4, se sumergieron inmediatamente después del corte en una solución antioxidante con eritorbato de sodio (Bekarem® S.A. de C.V., D.F., México) al 1% y 0.5 % de ácido cítrico (Cedrosa S.A de C. V. Naucalpan, México) durante 10 minutos (Ventura, 2011). La aplicación de los recubrimientos se realizó por el método de espreado con pistola de aire de aluminio (19000 PPI-26 Trupper® Tertulianet de baja presión 50 psi, Trupper México, S.A. de C.V., D.F., México) a una presión de flujo de aire de 45 libras, y una boquilla de aplicación tipo abanico de acero inoxidable calibre 0.5 mm. Una vez secada la emulsión se procedió al pesado y envasado del producto.

Al tratamiento Testigo 0 (TE) no se le aplicó ningún recubrimiento, una vez cortado se procedió a envasarlo. El tratamiento testigo1 (AT) se le agregó solución antioxidante, dejándose escurrir durante 10 min para su posterior envasado.



Figura 17. Etapas del procesamiento mínimo de hongo seta (*Pleurotus ostreatus*): A) lavado y desinfección, B) escurrido de cuerpos fructíferos, C) selección y corte de sombreros y estípites, D) inmersión en solución antioxidante, E) segundo escurrido, F) aplicación del recubrimiento por espreado, G) desinfección de clamshell, H) pesado, I) envasado, J) almacenamiento a 4°C.

El envasado se realizó en charolas o clamshell de poliestireno termo-formado transparente (cat. 1312-44 Inix® S.A. de C.V. México, D.F.) con una capacidad de 16 Oz y 13 × 12 cm de tamaño. Las charolitas se pesaron conteniendo 150 g de producto mínimamente procesado (Figura 17). Se elaboraron un total de

360 charolas, considerando cada una como unidad experimental, monitoreando y tomando muestras diariamente hasta 20 días de almacenamiento.

Todo el proceso mínimo llevó a cabo una temperatura de 4 ± 0.5 °C en condiciones debidamente higienizadas tanto en la cámara, equipo, material de trabajo y utensilios (Figura 18).



Figura 18. Condiciones de higiene de la cámara frigorífica y utensilios de trabajo para la elaboración del hongo seta mínimamente procesado.

6.2.3. Evaluación de características de calidad

6.2.3.1. Pérdida de peso. La pérdida de peso (%) se determinó con una balanza electrónica (SP2001 OHAUS Scout Pro[®], OHAUS Corporation, Pine Brook, NJ, EUA.) registrando el peso diariamente desde el inicio del proceso hasta el término de su conservación o senescencia.

La diferencia entre el peso inicial y el peso final de las charolas fue expresada como el porcentaje de pérdida de peso.

6.2.3.2. Cambio de color. El color se evaluó mediante un colorímetro HunterLab (D8/S Color MiniScan XE® Plus, Hunter Associates Laboratory Inc., Reston VA, EUA) tomando las lecturas en cada una de las caras del sombrero (Figura 19). Las lecturas se obtuvieron en la escala CIELAB. Se calculó el ángulo de tono ($\text{hue} = \arctan \frac{b^*}{a^*}$) y chroma ($\text{chroma} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$). El color fue determinado como la media de 3 réplicas para cada repetición (Perdones *et al.*, 2012; Ventura *et al.*, 2011; Figueroa *et al.*, 2011).



Figura 19. Medición de color en hongo seta, con colorímetro Hunter Lab.

6.2.3.3. Firmeza. La firmeza se determinó con un texturómetro TA.XT2i (Stable Micro Systems UK, Surrey, RU) con el uso de una sonda esférica de 2 mm de diámetro, realizando las mediciones sobre la cara inferior del sombrero del hongo (Figura 20).

Los parámetros en que se realizó la prueba fueron: velocidad de ensayo $5.0 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$, distancia de penetración de sonda 4.0 mm, con una fuerza de contacto de 0.981 N (Oliveira *et al.*, 2012). Los resultados se expresaron en Newtons (N).



Figura 20. Texturómetro TATX2i en la determinación de firmeza de hongo seta.

6.2.3.4. Sólidos solubles totales. Con ayuda de un refractómetro portátil (2111W10 12-30% Atago N-1E®, ATAGO CO.LTD, Tokyo, Japón) se determinó el contenido de sólidos solubles por medición directa del jugo de 5 g de muestra del hongo previamente molida (Villaescusa, 2003).

6.2.4. Evaluación de parámetros químicos

6.2.4.1. pH. Se molieron 10 g de tejido de hongo con 40 ml de agua destilada, la mezcla fue filtrada, a la solución obtenida se le midió el pH con un potenciómetro portátil (HI 98239 Hanna Instruments, SL. Eibar, España), realizando tres lecturas por tratamiento a temperatura ambiente.

6.2.4.2. Acidez titulable. La acidez se determinó por titulación directa de la mezcla filtrada de 10 g de tejido licuado en 40 ml de agua destilada. La titulación se realizó con NaOH 0.1 N y fenolftaleína como indicador, ajustando a un pH de 8.1 (Figueroa *et al.*, 2011; Villaescusa 2003).

6.2.4.3. Etanol y acetaldehído. El contenido de etanol y acetaldehído se determinó por cromatografía de gases de acuerdo al método descrito por Valencia *et al.* (2009) con algunas modificaciones. Con ayuda de una navaja se cortó aleatoriamente 5 g de tejido de hongo de cada charolita, colocándolo en viales de 10 mL de capacidad, los cuales fueron sellados con tapón de silicona y almacenados a -20 °C. Previo al análisis, los viales se descongelaron a 20 °C y se incubaron durante 10 min a 60 °C. Después de este tiempo, se extrajo 1 mL de aire del espacio de la cabeza del vial inyectándose en un cromatógrafo de gases (STAR 3400 CX Varian®, Gas Chromatograph GC System, CA, EUA) equipado con un detector de conductividad térmica (TCD) y un detector de ionización de flama (FID) con columna SS PoropackN 2m x 1/8" OD x 2.0 mm OI. Las condiciones de trabajo fueron: columna a 80°C, detector 178°C, filamentos 210°C, inyector 150°C y el detector FID 250°C. El tiempo de retención para el etanol fue de 3.89 min y para acetaldehído 2.195 min.

El etanol y el acetaldehído de las muestras se identificó por comparación de tiempos de retención con soluciones patrón. Los resultados se expresaron como Mmol de etanol o acetaldehído por 1 g de tejido. Las muestras se tomaron por triplicado en cada día de almacenamiento del hongo, donde cada repetición correspondió a una unidad experimental.

6.2.4.4. Evaluación de la atmósfera interna en el envase. Concentración

CO₂. La composición gaseosa dentro del clamshell (envase o contenedor de poliestireno tipo almeja) se realizó tomando muestras diariamente en viales (de 10 mL) de la atmósfera interna (Figura 21), los cuales fueron colocados al momento del envasado y colectados por día en cada unidad experimental.

Posteriormente se cuantificó por cromatografía de gases la concentración de CO₂ acumulada desde el día 1 hasta el 20 (tiempo que duro el almacenamiento); los datos fueron expresados en porcentaje (%CO₂). El equipo utilizado fue un cromatógrafo de gases (STAR 3400 CX Varian®, Gas Chromatograph GC Syst

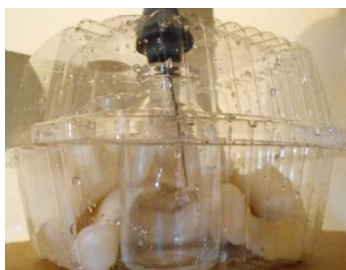


Figura 21. Toma de muestra de la atmósfera interna del envase

6.3. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de medidas repetidas para un modelo con estructura mixta. El objetivo fue examinar y comparar las tendencias en el tiempo de las respuestas a los tratamientos, lo cual permitió la comparación de los tratamientos en tiempos específicos (efectos simples) y la comparación de los tratamientos promediando todos los tiempos (efectos principales) (Correa, 2004). Se realizó prueba de Tukey para comparaciones múltiples.

6.4. Resultados y discusión

En el Cuadro 13 se presenta el análisis de varianza de las variables estudiadas durante el almacenamiento de hongo seta mínimamente procesado, se observa que todas las variables fueron significativas ($P \leq 0.05$) a las respuestas de los tratamientos, por lo que requirió comparar las tendencias en tiempos específicos de las respuestas de los tratamientos (efectos simples de los tratamientos) mediante el análisis de medidas repetidas.

Cuadro 13. Análisis de varianza de las variables respuesta en *P. ostreatus* mínimamente procesado con recubrimiento comestible, almacenados a 4°C

Fuente variación	GL	Cuadrados medios				
		pp	n	sst	L	chrom
Modelo	109	0.82128	1.02972	0.68100	50.56223	20.53287
Error	220	0.13046	0.26994	0.14896	16.30994	5.336376
C.V.		0.51632	0.14847	0.12538	0.069368	0.174986
Pr>F		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Fuente variación	GL	Cuadrados medios				
		hue	pH	Ac	mettot	CO ₂
Modelo	109	20.41915	0.133611	0.000537	30.78521	1.512092
Error	220	4.733480	0.011119	0.000228	8.004966	0.672195
C.V.		0.035093	0.349098	0.208429	0.567225	0.493972
Pr>F		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Donde pp: pérdida de peso (%); n: firmeza (N); sst: sólidos solubles totales (°Brix); L: luminosidad; chrom: chroma; hue: hue o pureza color (°); ph: pH; Ac: acidez titulable (mg ac. cítrico/100 g pf); mettot: metabolitos totales (Mmol/mL); CO₂: concentración de CO₂ (%). C.V.: coeficiente de variación.

6.4.1. Pérdida de peso

En la Figura 22 se muestra la pérdida fisiológica de peso de *P. ostreatus* con recubrimiento de PT55 y PC comparándolos con los testigos (con y sin

antioxidante). En general, la pérdida de peso (PP) fue menor al 2% para todos los tratamientos, estos resultados contrastan con los reportados por Ares *et al.* (2007) quienes obtuvieron pérdidas de 5.6% en hongos shiitake almacenados a 5°C durante 16 días en AM pasiva (bolsas de polietileno y polipropileno de baja densidad con macroperforado); Jing-jun *et al.* (2012) reportan hasta 16% PP en shiitake almacenados a 4°C con atmósferas modificadas activas (2% O₂ y 7-10% CO₂) y Aboul-Anean *et al.* (2013) con 20% PP en hongo fresco cortado con recubrimiento comestible (RC) de cloruro de calcio y ácido cítrico almacenados a 4°C. Sin embargo los resultados son similares a Ventura *et al.* (2011) y Villaescusa (2003) quienes reportan para *P. ostreatus* pérdidas del orden del 1-3% en producto mínimamente procesado y en atmósfera modificada respectivamente.

Los gráficos de PP muestran que el testigo sin antioxidante pereció antes de los 7 días, siendo éste el tratamiento con mayor PP, asimismo, T3PC1 y T4PC2 con RC a base pectina comercial tuvieron mayor PP en comparación con RC de PT55. El tratamiento que presentó menor PP significativa ($P \leq 0.05$) al día 20, fue T2PT2 que corresponde al recubrimiento con 2% de PT55+1% CC. Esto pone en manifiesto que el efecto del RC sobre *P. ostreatus*, fue efectivo, relacionándose con las propiedades estudiadas en la sección de caracterización de los RC, donde T2PT2 aunque no significativo fue el de menor valor PVA y $d_{3,2}$, confirmando estas propiedades a la reducción de pérdida de agua del producto por el tamaño de partícula de cera, formando junto con la PT55 una matriz cohesiva que aumentó el efecto de tortuosidad para la transferencia de agua del producto al medio externo a través del RC.

Por otra parte, en la PP no solo influyó el recubrimiento comestible, también el tipo de empaque semihermético, ya que para *P. ostreatus* en fresco se han reportado PP mayores al 50% por la evaporación de agua de la superficie del producto como resultado de altas tasas de respiración y transpiración, posiblemente las atmósferas modificadas (AM) generó un ambiente con gradiente de presión de vapor muy pequeño dado la HR de la cámara frigorífica del 95%, de tal forma que el flujo de agua del producto al entorno disminuyó.

6.4.2. Firmeza

Para esta variable se encontró que T2PT2 y T4PC2 fueron los tratamientos con menor pérdida de firmeza significativa ($P \leq 0.05$) al día 19 y 20 respectivamente (Figura 22). Por el contrario, los testigos TE y AT fueron los de mayor pérdida que el resto de los tratamientos, atribuyendo esta reducción al efecto del RC de pectina en T2PT2 y T4PC2. Dado que la función de la pared celular en la mayoría de los productos hortofrutícolas es evitar la pérdida de agua y proporcionar rigidez, el hongo careciente de éste organelo, el RC fungió en éste como pared, rica en pectina, evitando la pérdida de agua de la vacuola la cual es responsable de la turgencia en los productos.

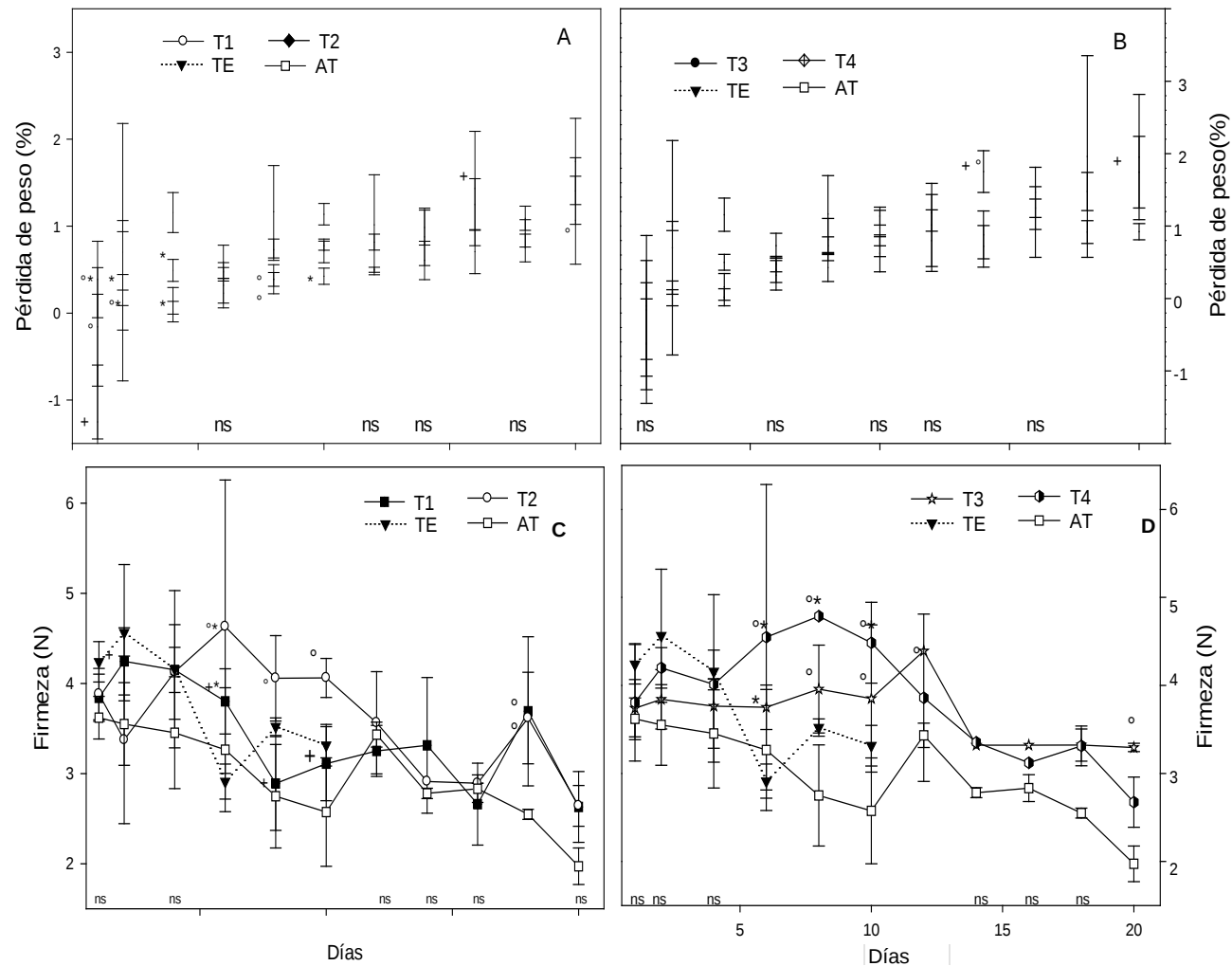


Figura 22. Pérdida de peso (A) (B) y pérdida de firmeza (C) (D) en hongo seta mínimamente procesado, almacenado a 4 °C. TE: testigo, AT: tratamiento con antioxidante, T1: tratamiento T1PT1; T2: tratamiento T2PT2; T3: T3PC1; T4: T4PC2. La notación *, °, + indica diferencia significativa y, *ns* no significativa, entre los tratamientos T1, T2, T3, T4, con respecto al testigo,*, (TE), al tratamiento con antioxidante,°, (AT), y al tratamiento con diferente concentración de CC, +. La diferencia significativa está basada en prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). La barra en cada punto corresponde a desviación estándar.

En general, los valores de firmeza disminuyeron de 4.5 a 2 N en el caso de los testigos y de 4.0 a 3 N para T2PT2 y T4PC2. Estos valores son similares a los reportados por Jing-jun *et al.* (2012) en hongo shiitake con atmósfera modificada (AM) donde perdió de 4.4 a 2.9 N, y con Ventura *et al.* (2011) en setas mínimamente procesadas de 2.7 a 2.4 después de 17 días de almacenamiento. Como puede verse para esta variable los resultados muestran que la combinación de tecnologías de atmósfera modificada, refrigeración y recubrimiento comestible (RC), permitió conservar la firmeza de las setas hasta después del día 15 de almacenamiento. El RC formó una barrera en el producto capaz de reducir la pérdida de agua por transpiración, lo que ocasiona generalmente el reblandecimiento de los tejidos, por otra parte, la degradación de la pared celular a temperaturas ambientales producen pérdida de pectinas, hemicelulosas y compuestos que proporcionan rigidez a la pared, sin embargo en el hongo seta al no contener éste organelo, el RC funcionó como ésta, fortaleciendo las capas externas del tejido, y, en combinación con temperatura óptima de refrigeración y AM de poliestireno resultó una combinación eficaz para la reducción de la pérdida de firmeza (Navarro *et al.*, 2011).

6.4.3. Sólidos solubles totales

Los resultados de sólidos solubles totales (SST) muestran que solo existió diferencia significativa los días 4, 5, 7 y 10 ($P \leq 0.05$) en los tratamientos T1PT1 y T3PC1 (Figura 23), presentándose en general una tendencia a la baja, solo el testigo (TE) tuvo un incremento hasta el quinto día de almacenamiento y

después se redujo considerablemente. El tratamiento T3PC1 elaborado con pectina comercial fue el que presentó los valores más bajos ($P \leq 0.05$), perdiendo de 4 hasta 2.6 °Brix.

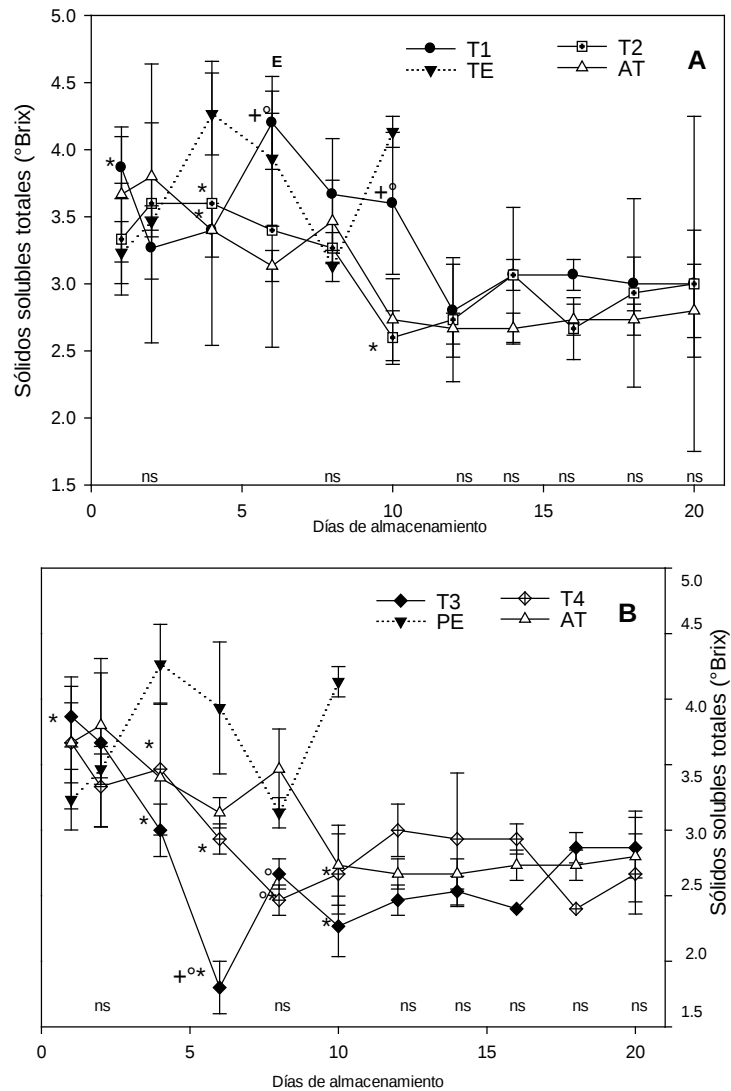


Figura 23. Cambio de sólidos solubles totales (A)(B) en hongo seta mínimamente procesado almacenados a 4°C. TE: testigo, AT: tratamiento con antioxidante, T1: tratamiento T1PT1 T2: tratamiento T2PT2; T3: T3PC1; T4: T4PC2. La notación *, °, + indica diferencia significativa y, ns no significativa, entre los tratamientos T1, T2, T3, T4, con respecto al testigo,*, (TE), al tratamiento con antioxidante,°, (AT), y al tratamiento con diferente concentración CC, +. La diferencia significativa está basada en prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). La barra en cada punto corresponde a desviación estándar.

El resto de los tratamientos tuvo una reducción de 4 a 3 °Brix, estos valores son similares con los reportados por Villaescusa (2003) donde hongo seta fresco, entero y envasado en AM microperforada perdió al séptimo día almacenamiento 5.1 a 4.0 °Brix. Por su parte, Ruiz *et al.* (2010) menciona que en setas mínimamente procesadas, empacadas en AM y tratadas en impregnación al vacío con una solución conservante, los °Brix disminuyeron de 4 a 3 después de 12 días de almacenamiento.

Los resultados obtenidos muestran un incremento de °Brix y después del 8° y 10° día disminuyen, lo cual puede atribuirse a los procesos metabólicos del producto, que incluye una degradación de las macromoléculas de carbohidratos y posteriormente una hidrólisis de los polisacáridos en monosacáridos, por ende, un aumento en los sólidos solubles totales. En este sentido, el testigo (TE) al no tener una cubierta protectora la degradación de los carbohidratos y polisacáridos se presentó rápidamente al 3er día, por el contrario el tratamiento con antioxidante (AT) fue el que disminuyó abruptamente por debajo de los tratamientos T1PT1 y T2PT2.

El tratamiento T2PT2 fue el que retardó durante más tiempo la disminución de °Brix, hasta el día 12, esto se atribuye a las propiedades del RC de PT55 como mayor espesor, menor $d_{3,2}$ y PVA bajo, formando redes cohesivas que funcionaron como una barrera efectiva a gases, disminuyendo el patrón de respiración del hongo y retardando la degradación de reservas (azúcares y almidones) durante los procesos respiratorios del producto.

Lo anterior contrasta con Ochoa *et al.* (2011) quienes mencionan que la aplicación de RC a base de ceras no afecta los parámetros cualitativos de los

productos hortofrutícolas, por lo tanto no afecta el contenido de SST, manteniéndose estable durante el período de almacenamiento.

6.4.4. Color

En la Figura 24 se muestran los cambios de coloración progresivos durante 20 días de almacenamiento de las setas a 4°C, en el parámetro de luminosidad existieron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) tanto entre tratamientos como entre días almacenamiento. Para todos los tratamiento la luminosidad disminuyó siendo TE tratamiento con mayor deterioro, al noveno día mostró coloraciones opacas, amarillentas y finalmente manchas cafés hasta la pudrición (Figura 25), la reducción de la luminosidad para este tratamiento fue abrupta de L^*80 a L^*65 .

El tratamiento AT prolongó la vida útil del hongo hasta el día 20, sin embargo los valores de L^* fueron más bajos que el resto de los tratamientos (L^*57), presentando amarillamiento y opacidad del tejido (Figura 25). Ambos testigos (AT y TE) tuvieron una pérdida de L en el orden 19%, mientras que el resto del 10%.

Las setas cubiertas con T1PT1 y T3PC1 fueron los que mejor conservaron la luminosidad a lo largo de todo el almacenamiento, siendo T1PT1 con $L^* 79$ más alto que el resto. T1PT1 fue elaborado con 1% PC+0.05 CC. En la Figura 24 se muestra que T1PT1 y T2PT2 con $L^* 70$ fueron los tratamientos con mayor brillantez, atribuyendo este comportamiento a la concentración de CC ya que de acuerdo a Ochoa *et al.* (2011) las ceras en los RC imparten brillantez a ésta, reflejando dicha propiedad en la superficie del hongo.

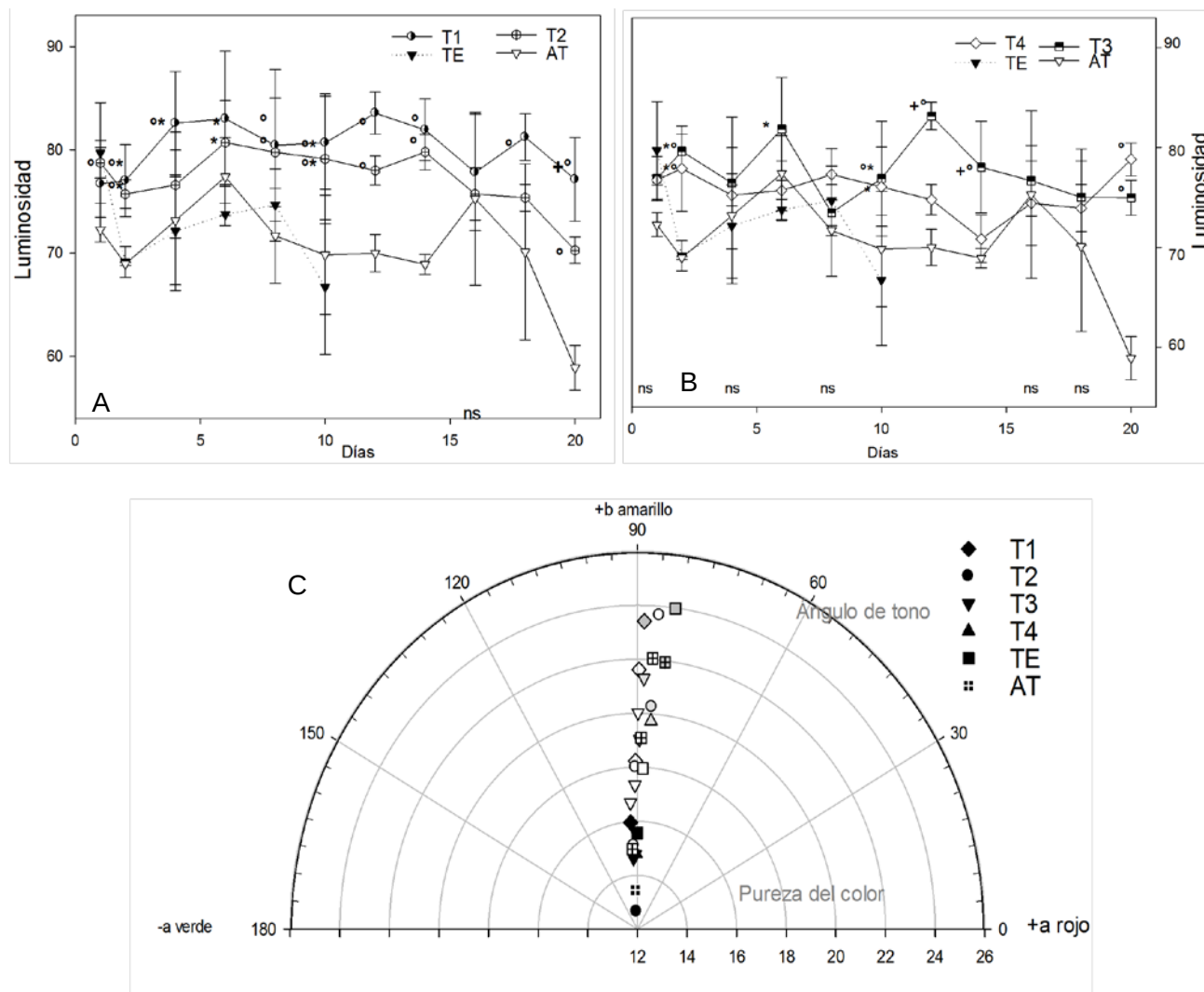


Figura 24. Luminosidad (A), (B) y diagrama de cromaticidad (C) en hongo seta mínimamente procesado, almacenado a 4°C. envasado en clamshell y bajo refrigeración a cero (símbolos negros), 10 días (símbolos blancos) y 20 días (símbolos grises) de almacenamiento a 4° C. TE: testigo, AT: tratamiento con antioxidante, T1: tratamiento T1PT1 T2: tratamiento T2PT2; T3: T3PC1; T4: T4PC2. La notación *, °, + indica diferencia significativa y, *ns* no significativa entre los tratamientos T1, T2, T3, T4, con respecto al testigo,*, al tratamiento con antioxidante,°, y con diferente concectración CC, +. La diferencia significativa está basada en prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). La barra en cada punto corresponde a desviación estándar.

Varios autores mencionan el beneficios que imparten los ácidos grasos en los RC, por ejemplo, Perdones *et al.* (2012) indican que RC de quitosano en

combinación con ácidos grasos ayudaron a mantener la luminosidad hasta por 11 días en fresas.

Por otra parte, los valores obtenidos de Luminosidad se asemejan a Ruiz *et al.* (2010) quienes informan en hongo seta valores de luminosidad de 90, 70 y 60 durante 12 días de almacenamiento en AM. Villaescusa (2003) en setas con AM de polipropileno obtuvo L^* 96.9, 80.7 y 61.9 después de 11 días

En el diagrama de cromaticidad (Figura 24) se observa que los valores de ángulo de tono se mantuvieron en 90° lo que en escala CIELAB ubica las tonalidades amarillas, sin embargo la pureza de color cambió considerablemente alcanzando valores hasta 25 unidades, siendo el testigo (TE) con valores más lejanos (amarillo intenso). Los tratamientos T2PT2 y T4PC2 mantuvieron mayor pureza localizándose en la zona de amarillo claro.

Es importante mencionar que tanto la Luminosidad como pureza de color fueron los parámetros más importantes que explicaron los cambios de color en hongo seta (Figura 24).

El oscurecimiento del testigo (TE) se atribuye a las reacciones de pardeamiento enzimático de la polifenoloxidasas, por el contrario, para el tratamiento TA aún bajo la acción del antioxidante produjo pérdida de L^* debido a la superficie irregular o cubierta rugosa del sombrero lo que hace menos homogéneo la superficie del tejido, disminuyendo el índice de refracción y aumentando el grado de absorción de la luz, esto se puede observar en la Figura 25.

Los resultados de Luminosidad, Chroma y Hue mostraron que los RC tanto de pectina de tejocote (T1PT1 y T2PT2) como pectina comercial (T1PT1 y T2PT2) fueron los que mantuvieron las propiedades de color, T1PT1 mantuvo mayor luminosidad que está relacionada con la blancura del tejido del hongo, esto indica que el RC a base de PT55 disminuyó los cambios de color, pudiendo actuar como barrera al oxígeno, necesario para que se produzcan reacciones de pardeamiento por el oscurecimiento enzimático (Olivas *et al.*, 2009). Esta propiedad puede atribuirse la capacidad PT55 de formar una red fuertemente entrelazada y mantener gotas de CC más estables, ya que de acuerdo a Lima *et al.* (2010) la permeabilidad al O₂ se atribuye a la solubilidad del gas en el agua, y ésta disminuye cuando se adicionan lípidos.

El parámetro de permeabilidad al O₂ no fue determinado en la caracterización de la película, sin embargo es recomendable su estudio en investigaciones complementarias.

6.4.5. pH

En la Figura 26 se muestra el cambio de pH de las setas, éste presentó un aumento significativo ($P \leq 0.05$) por día y entre tratamientos, excepto el Testigo 0 (TE) el cual se mantuvo constante durante el almacenamiento.

Se puede observar que los tratamientos con recubrimiento comestible tuvieron un pH inicial de 6.0-6.2 cambiando a 6.8 después 20 días de almacenamiento, similar al tratamiento con antioxidante.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días)				
	1	5	10	15	20
TE			np	np	np
AT					
T1PT1					
T2PT2					
T3PT3					
T4PT4					

Figura 25. Evolución de la apariencia del hongo seta mínimamente procesado con diferentes tratamientos, envasados en clamshell y almacenados a 4°C. TE: testigo, AT: tratamiento con antioxidante.

La diferencia de pH inicial con respecto al testigo radica en los componentes de la fórmula del recubrimiento, la pectina de tejocote y comercial tienen pH de 4.0-4.5, mientras que el antioxidante agregado al hongo fue ácido cítrico cuyo pH 2.2, esto favoreció la conservación de las setas al ataque de microorganismos, siendo el testigo (TE) con pH 6.0 un medio propicio para el desarrollo éstos que condujo a su rápido deterioro después del séptimo día de almacenamiento.

El pH y otros parámetros químicos en la mayoría de los productos hortofrutícolas están influenciados por las condiciones de almacenamiento, a bajas temperaturas el pH presenta poca variación pero con tendencia a disminuir con el tiempo. Generalmente pH está asociado con el exceso de ácidos orgánicos almacenados en las vacuolas como sustrato respiratorio (Maftoonazad, 2008), por lo que las setas al contener un recubrimiento de ácido cítrico, el cual es un metabolito intermediario en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, intervino en los procesos fisiológicos controlando el pH.

Por otra parte, Aboul-Anean *et al.* (2013) mencionan que los RC pueden retardar los cambios en pH ya que retardan la senescencia de frutas y hortalizas debido a la semipermeabilidad que forman sobre la superficie, modificando la atmósfera, es decir, el CO₂ endógeno y concentración de O₂, retardando así el proceso de maduración.

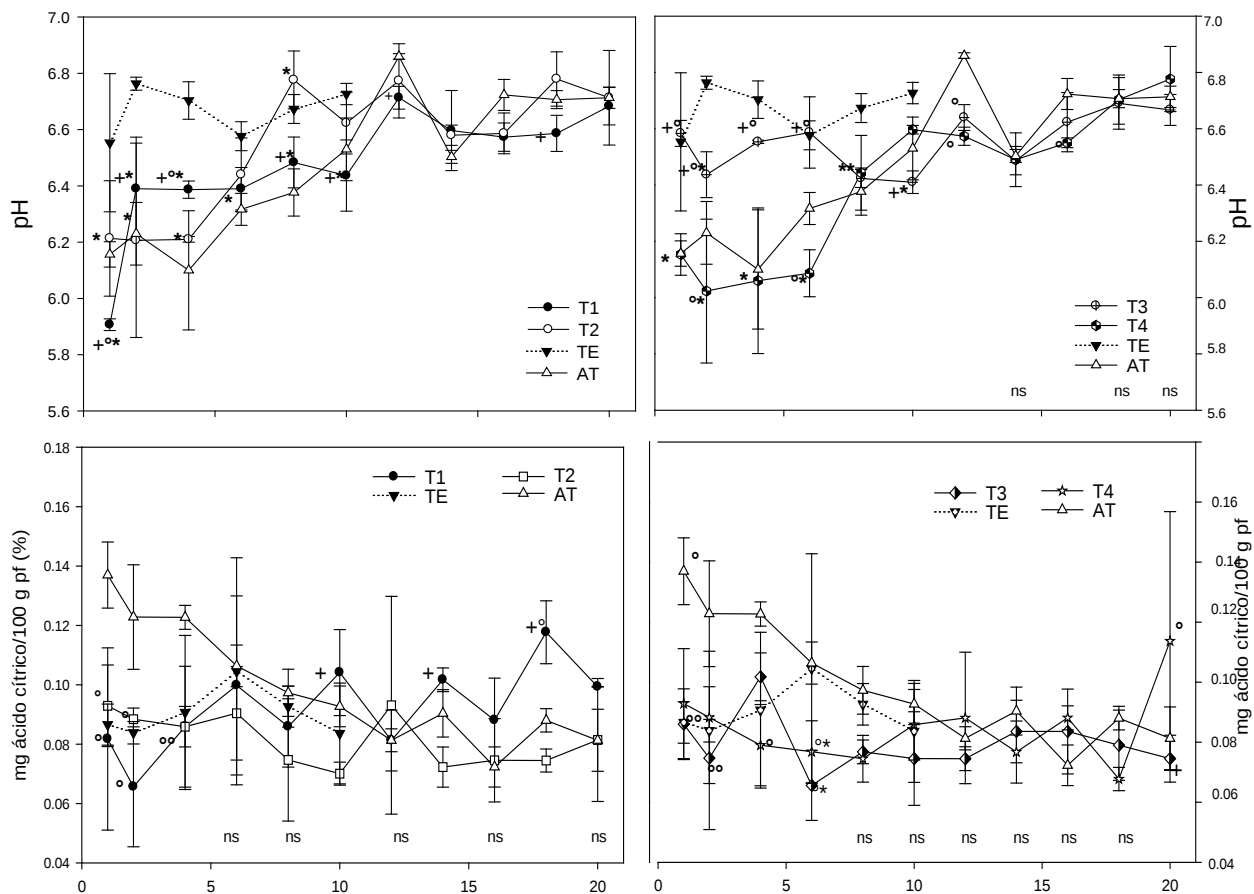


Figura 26. pH (A) (B) y acidez titulable (C) (D) en hongo seta mínimamente procesado envasados en clamshell y almacenados a 4°C. TE: testigo, AT: tratamiento con antioxidante, T1: tratamiento T1PT1 T2: tratamiento T2PT2; T3: T3PC1; T4: T4PC2. La notación *, °, + indica diferencia significativa y, ns no significativa, entre los tratamientos, con respecto al testigo,*, (TE), al tratamiento con antioxidante,°, (AT), y al tratamiento con diferente % CC, +. La diferencia significativa está basada en prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). La barra en cada punto corresponde a desviación.

6.4.6. Acidez titulable

En la Figura 26 se muestran los resultados para la variable acidez titulable, la cual está expresada en ácido cítrico. Se observa que hubo diferencia significativa ($P \leq 0.05$) solo para los tratamientos T1PT1 y T3PC1 respecto al tratamiento AT los días 1,2,4 y 6. Generalizando, el comportamiento de acidez

disminuyó, principalmente en el tratamiento AT mientras que T1PT1, T2PT2 y T4PC2 se mantuvieron constantes a través de 20 días de almacenamiento.

Los valores obtenidos para acidez coinciden con Villaescusa (2003) quien reporta en *P. ostreatus* 0.1 g ácido cítrico/100 al inicio y 0.09 g de ácido cítrico/100 después de 11 días de almacenamiento; Ruiz *et al.* (2010) indica contenidos de ácido cítrico de 0.6 a 0.2% en setas después de 12 días de almacenamiento a 5°C en AM con solución conservante; Muy-Rangel *et al.* (2009) por su parte encontró que la acidez titulable en mango ataulfo con cubierta comestible de quitosano disminuyó y tuvo valores menores comparados con el testigo (sin recubrimiento y sin tratamiento químico) de 2.7 a 0.4 y 2.2 a 0.9 % ácido cítrico respectivamente.

Villaescusa (2003) menciona que la acidez en setas no muestra cambios significativos desde el momento de la cosecha y almacenados a diversas temperaturas.

6.4.7. Metabolitos totales anaerobios (etanol y acetaldehído)

Para esta variable, los resultados muestran que hubo diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos (Figura 27) y entre los 20 días de almacenamiento. T2PT2 y T4PC2 fueron los de mayor contenido de metabolitos totales (MT), mientras que el testigo (TE) y AT los de menor. El comportamiento del contenido de MT se mantuvo constante para los tratamientos TE, AT y T1PT1 mientras que T2PT2, T3PC1, T4PC2 tuvieron una alza hasta el día 10 y después una leve reducción. Navarro *et al.* (2011) menciona que los

recubrimientos comestibles proporcionan una barrera semipermeable para O₂ y CO₂ lo que ralentiza la respiración de las frutas, esto generalmente se traduce en un aumento en el contenido de volátiles asociados a condiciones anaeróbicas, tales como el etanol y el acetaldehído, que depende de la barrera al oxígeno de los revestimientos.

Por ello, en este trabajo, las setas recubiertas con 2% PT55+% CC, mostraron los niveles más altos de etanol (datos no mostrados en la gráfica) mientras que AT y TE no se observaron diferencias consistentes. Asimismo, los resultados indican que los recubrimientos con pectina de tejocote (T1PT1 y T2PT2) proporcionaron una mejor barrera en comparación con las de PC ya que el aumento de MT se tradujo en una efectiva AM sin que los valores de los volátiles aumentaran a límites excesivos, esto se puede correlacionar con los valores de permeabilidad generados a partir de las interacciones formadas en los RC de PT55, cuyas redes poliméricas consistentes formaron una barrera protectora eficiente en comparación con los RC a base de PC.

Jayathunge (2005) reporta comportamientos similares a la alza de etanol en *Pleurotus ostreatus* bajo AM empacada en polietileno a 8°C y H.R. 70%, obteniendo concentraciones de etanol hasta 80 ppm después de 14 días de almacenamiento. Navarro *et al.* (2011) por su parte informa 5-17 mg/100 mL de etanol a tres semanas de almacenamiento de ciruelas cubiertas con recubrimiento de hidroxipropilmetilcelulosa (18.7-66.7 g/100 g) y cera de abeja (0-60 g/100 g). Por otra parte, es importante resaltar que el incremento en MT se dio para el T2PT2 después del doceavo día mientras que para el T3PC1 fue a partir del día 4.

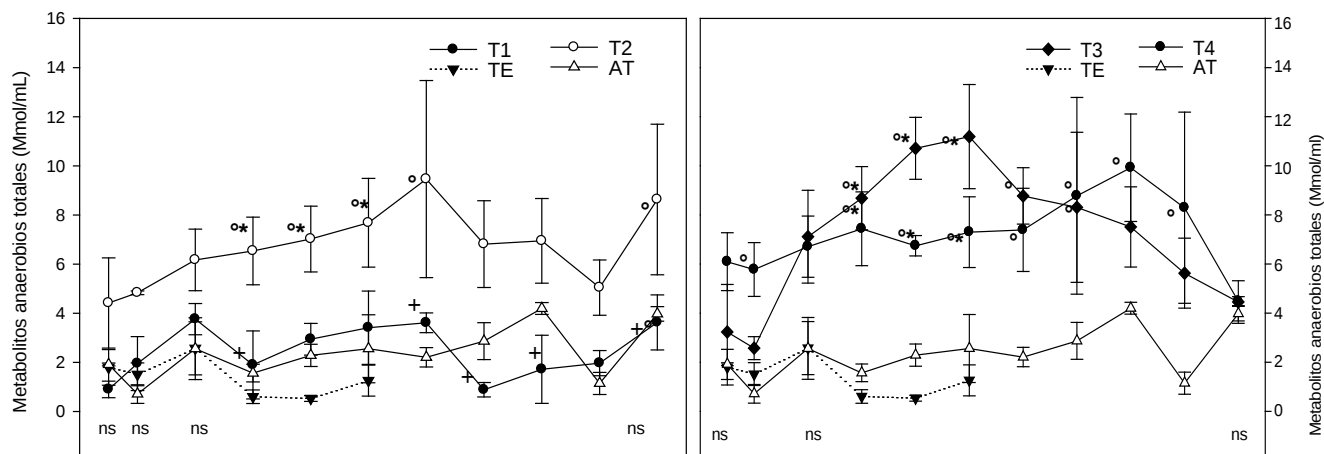


Figura 27. Producción de metabolitos anaerobios (A) (B) en hongo seta mínimamente procesado, con recubrimiento comestible envasado en clamshell y almacenados a 4°C. TE: testigo, AT: tratamiento con antioxidante, T1: tratamiento T1PT1 T2: tratamiento T2PT2; T3: T3PC1; T4: T4PC2. La notación *, °, + indica diferencia significativa y, *ns* no significativa, entre los tratamientos con respecto al testigo, *, (TE), al tratamiento con antioxidante, °, (AT), al tratamiento con diferente %CC, +. La diferencia significativa está basada en prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). La barra en cada punto corresponde a DS.

6.4.8. Atmósfera modificada del empaque

A 4°C se mantuvo almacenado en empaque de poliestireno semihermético hongo seta mínimamente procesado. En la Figura 27 se muestran las concentraciones de CO₂ (%) para cada uno de los tratamientos, los cuales resultaron significativos, y, entre días solo para el tratamiento T1 con respecto al TE y AT los días 2 y 9; 4,5 y 19 con respecto a T3 y T4 (significancia no mostrada en gráficos). La evolución de la concentración de CO₂ en el interior del empaque durante los 20 días se mantuvo constante para los tratamientos T2, T3 y T4 y disminuyó para el testigo, AT y T1.

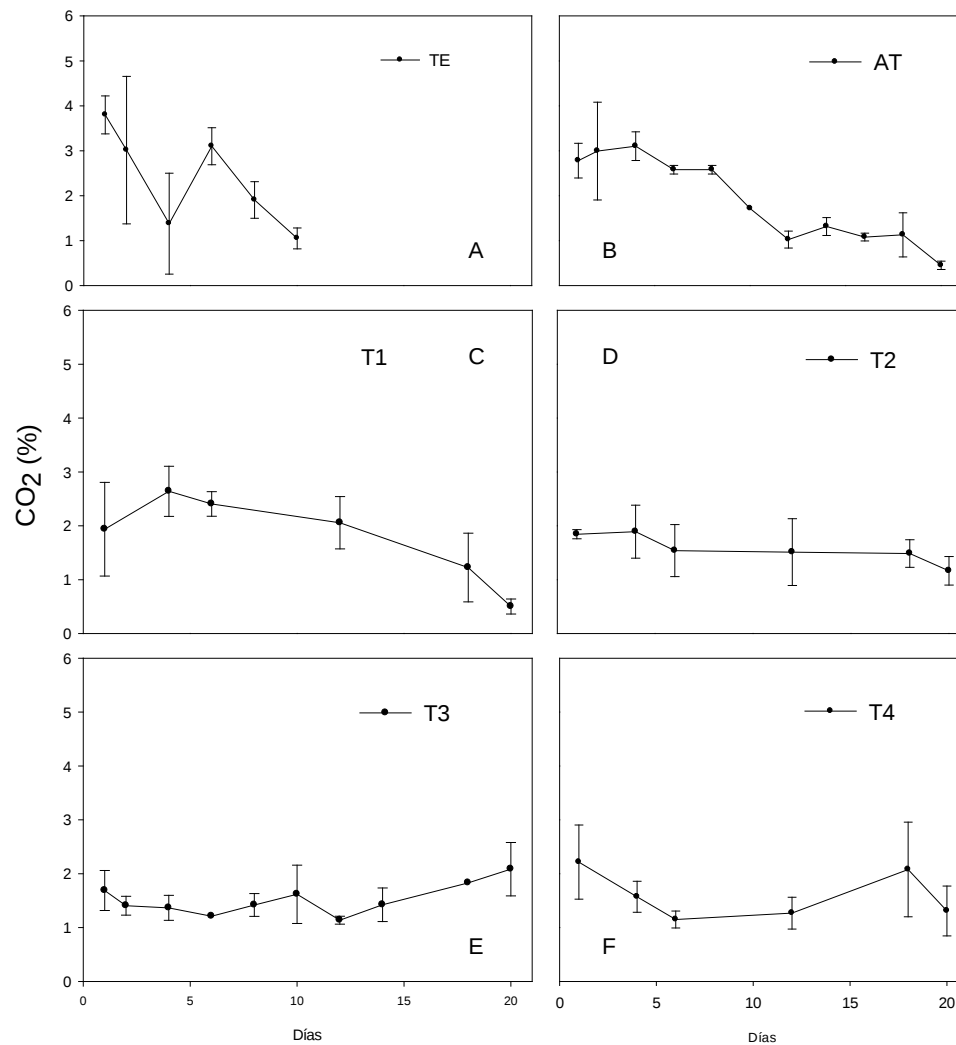


Figura 28. Cambios en la concentración de CO₂ dentro del empaque de poliestireno en hongo seta mínimamente procesado. TE: testigo, AT: tratamiento con antioxidante, T1: tratamiento T1PT1; T2: tratamiento T2PT2; T3: T3PC1; T4: T4PC2. La barra en cada punto corresponde desviación estándar.

Generalmente, el comportamiento dentro de una atmósfera modificada se caracteriza por una reducción de la concentración de O₂ y un incremento de CO₂ (Cortés *et al.*, 2011), sin embargo en esta investigación el comportamiento se mantuvo constante en los tratamientos con RC. Estos resultados fueron

similares con Cortés *et al.* (2011) donde estudiaron la influencia del empaque en las propiedades físico químicas de *P. ostreatus*, encontrando que en una AM la concentración aumentaba después de 12 días, atribuyendo este comportamiento a los procesos de pérdida por transpiración y a la permeabilidad del empaque.

Ares *et al.* (2007) por su parte también reporta una concentración constante de CO₂ a lo largo de 16 días de almacenamiento a 5°C de hongo shiitake en AM pasiva, atribuyendo el comportamiento al tipo de AM macroperforada. Estadísticamente no se encontraron diferencia en las AM micro y macroperforadas a pesar de tener diferente permeabilidad. En este sentido, se puede atribuir que el comportamiento de la concentración de CO₂ en esta investigación se mantuvo constante por el tipo de empaque semihermético, lo cual permitía un intercambio de O₂ y CO₂ con el medio ambiente. Esto favoreció que las concentraciones de O₂ y CO₂ no llegaran a niveles límites que indujeran a una condición de anaerobiosis, confirmándolo esto con los resultados de metabolitos totales (etanol y acetaldehído). Ares *et al.* (2007) mencionan que concentraciones superiores a 9% CO₂ inducen a un rápido deterioro en hongos shiitake, y, Kader (2007) recomienda para la conservación de hongos rebanados una presión máxima de CO₂ 4 KPa.

El RC por su parte produjo un efecto de AM sobre el producto para los tratamientos, sin embargo dado que no se tiene el reporte de permeabilidad O₂ y CO₂, sólo se puede correlacionar los resultados con MT, color y textura, en los cuales indican que el RC proporcionó una barrera efectiva a gases que condujo

a la reducción de los procesos metabólicos del hongo, y esto se puede reforzar en la gráfica de CO₂ donde el tratamiento AT tuvo concentraciones mayores.

En este sentido el envase de poliestireno (con permeabilidad 10,000-26,000 cc · m²/Mil/día de CO₂ y 2,600-7,700 cc/m²/Mil/día de O₂) (Kader, 2007), el RC de pectina con cera de candelilla, y temperatura de refrigeración, favorecieron la reducción de la actividad respiratoria y de los procesos metabólicos del hongo, induciendo a un alargamiento de la vida útil de *P. ostreatus* por 20 días.

7. Conclusiones

Las propiedades de la emulsión ($d_{3,2}$, viscosidad aparente) y del recubrimiento comestible (PVA, transparencia y esfuerzo de tensión) modificaron los procesos fisiológicos del hongo *Pleurotus ostreatus*.

El hongo cubierto con los tratamientos T1P1 y T2P2, presentaron niveles de metabolitos totales y concentración de CO_2 bajos (6 Mmol/mL y 2%), lo que indica que el producto no presentó fermentación y el recubrimiento contribuyó a la regulación del proceso de respiración.

El recubrimiento comestible 2% PT55 + 0.1% CC mejoró estadísticamente ($P \leq 0.05$) las características de color, textura, y apariencia en el hongo con respecto al testigo. Mientras que los parámetros de pH y acidez se mantuvieron casi constantes.

El uso de AM pasiva (envase de poliestireno de baja densidad) en combinación con el recubrimiento comestible de pectina de tejocote+cera candelilla, a una temperatura de almacenamiento de 4°C , favorecieron la conservación de las setas, aumentando su vida de anaquel por 20 días.

8. CONCLUSIONES GENERALES

La vida de anaquel del hongo *Pleurotus* se prolongó por 20 días en almacenamiento a 4°C, con la combinación de técnicas de conservación: recubrimiento comestible, compuesto antioxidante y atmósfera modificada de poliestireno rígido transparente.

El tratamiento T2PT2 con 2% pectina, 1% cera candelilla, 0.5% monoestearato de sorbitan, 0.5% carboximetilcelulosa y 1.2% glicerol, formó emulsiones estabilizadas con diámetro superficial de gota (1.7µm) y viscosidad inicial (9.9 Pa·s) permitiendo la formación de películas con 0.128×10^{-14} g/m s Pa de PVA, resistencia a la tensión 0.22 MPa, punción 0.13 MPa, espesor 94 µm y 16% de transparencia. Este tratamiento tuvo pérdida de peso (1.2%), mayor valor de Luminosidad (L^*78), pérdida textura (3N) y concentración de CO₂ en el envase (2%), significativamente menor ($P \leq 0.05$) con respecto al testigo el cual pereció a los 7 días de almacenamiento.

La funcionalidad del recubrimiento se atribuyó a las propiedades de la pectina de tejocote, donde su grado de esterificación (DE 76.9) y sus propiedades emulsificantes y estabilizantes (viscosidad 9Pa s) permitieron fuerzas intermoleculares pectina-cera formando redes estructuradas cohesivas que establecieron propiedades mecánicas y de barrera óptimas.

Derivado de los resultado obtenidos, el tratamiento T2PT2 representa una propuesta viable para la industria alimentaria en la conservación *Pleurotus ostreatus*.

9. LITERATURA CITADA

Aboul-Anean, H.E., Asrar, Mohamed, Y.I., El-Waseif, K.H.M. 2013. Extension of shelf life of the fresh cut mushrooms and artichokes using some edible films. Journal of Applied Sciences Research, 9(1): 590-600.

- Aguirre, M. E. 2010. *Caracterización de pectinas de tejocote (Crataegus spp.)* Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Méx. México. 69p.
- Aldana-Villarruel, D.S., Aguilar-González, C., Contreras-Esquivel, J.C., Nevárez-Moorillón, G. V. 2011. Moléculas pécticas: extracción y su potencial aplicación como empaque. *Tecnociencia Chihuahua*, 2: 76-82.
- Al-Hassan, A.A., Norziah, M.H. 2011. Starch-gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids*, 3: 1-10.
- Alves, V.D.A., Ferreira, A.R., Costab, N., Freitas, F., Reisb, M.A.M., Coelho, I.M. 2011. Characterization of biodegradable films from the extracellular polysaccharide produced by *Pseudomonas oleovorans* grown on glycerol byproduct. *Carbohydrate Polymers*, 83: 1582–1590.
- Ancona, P. M., Ancona, M. L., Flores, N. A., Pech, M.V.C. 2005. Estimación de la demanda de *Pleurotus ostreatus* en el Estado de Yucatán. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 9(17): 1-13.
- Andreuccetti, C., Carvalho, R.A., Galicia-García, T., Martinez-Bustos, F., González-Núñez, R., Grosso, R.F.C. 2012. Functional properties of gelatin-based films containing *Yucca schidigera* extract produced via casting, extrusion and blown extrusion processes: A preliminary study. *Journal of Food Engineering*, 113: 33–40.
- Aranberri, I; Binks, B.P; Clint, J.H; Fletcher, P.D.I. 2006. Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensoactivos. *Revista Iberoamericana de Polímeros Universidad de Hull*, Reino Unido, 7(3): 211- 231.

- Ares, G., Lareo, C., Lema, P. 2007. Modified atmosphere packaging for Postharvest storage of mushrooms. A Review. Fresh Produce Global Science Books, 1(1): 32-40.
- Arik-Kibar, E.A., Ferhunde, U. 2013. Thermal mechanical and water adsorption properties of corn starch–carboxymethylcellulose/methylcellulose biodegradable films. Journal of Food Engineering, 114: 123–131.
- Aydt, T.P., Weller, C., Testin, R. F.1991. Mechanical and barrier properties of edible corn and wheat protein films. American Society of Agricultural Engineers, 34(1): 207-211.
- Bao, S., Xu, S., Wang, Z. 2009. Antioxidant activity and properties of gelatin films incorporated with tea polyphenol-loaded chitosan nanoparticles. Journal of the Science of Food and Agriculture, 89(15): 2692-2700.
- Bermúdez, S. R.C., Morris, Q.H.J., Donoso, F. C., Martínez, M. C. E., Ramos, S.E.I. 2003. Influencia de la luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus* Var. Florida. Revista Cubana de Investigación Biomédica, 22(4): 226-31.
- Boa, E. 2005. *Productos Forestales no madereros: Los hongos silvestres comestibles, perspectiva global de uso e importancia para la población*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).161 p.
- Bonilla, J., Atarés, J., Vargas, M., Chiralt, A. 2012. Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. Food Hydrocolloids, 26: 9-16.

- Bosquez, M. E. 2003. *Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (Citrus latifolia tanaka)*. Universidad Autónoma Metropolitana. 147 p.
- Bosquez, M.E., Tomás, S.A., Rodríguez, H.M.E. 2010. Influence of CaCl_2 on the water vapor permeability and the surface morphology of mesquite gum based edible films. *Food Science and Technology*, 43: 1419-1425.
- Bourtoom, T. 2008. Review article edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*, 15(3): 237-248.
- Brasil, M.I., Gomes, C., Puerta-Gomez, P., Castell-Perez, M.E., Moreira, R.G. 2012. Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of fresh-cut papaya. *Food Science and Technology*, 47: 39-45.
- Brennan, J. G. 2006. *Manual del procesamiento de los alimentos*. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 581 p.
- Campo, V.Y., Gélvez, O.V.M. 2011. *Efecto de la termosonicación sobre las propiedades fisicoquímicas del hongo comestible (Pleurotus ostreatus) fresco empacado al vacío*. *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 9(2): 55-63.
- Chanamai, R., McClements, D.J. 2000. Creaming stability of flocculated monodisperse oil-in-water emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 225(1): 214–218.

- Chiumarelli, M., Hubinger, M.D. 2012. Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch-Carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples. *Food Hydrocolloids*, 28: 59-67.
- Ciappini, M.C., Gatti, B., López, Z. M.L. 2004. *Pleurotus ostreatus*, una opción en el menú, estudio sobre las gírgolas en la dieta diaria. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 7(12): 127-132.
- Condés, M. C., Añón, M.A., Mauri A. N. 2013. Amaranth protein films from thermally treated proteins. *Journal of Food Engineering*, 119: 573–579.
- Correa, L. G. 2004. *Análisis de medidas repetidas*. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia. 44p.
- Cortés, R. M., Ruiz, R. M., Henriquez, L. 2011. *Influencia del empaque y envasado sobre las propiedades fisicoquímicas del hongo comestible Pleurotus ostreatus*. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia Córdoba Colombia*, 16(2): 2593-2604.
- De Azeredo, H.M.C. 2012. *Edible coatings*. En: *Advances in fruit processing technologies*. CRC Press Taylor and Francis Group (ed.) Boca Raton, Florida, EUA. pp. 345-354.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.A., Voilley, A. 1998. Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(4): 299-313.
- Dickinson, E.1992. Interfacial interactions and the stability of oil-in-water emulsions. *Pure and Applied Chemistry*, 64(11): 1721-1724.

- Dolz M., Hernández, M.J., Delegido, J., Alfaro, M.C., Muñoz, J. 2007. Influence of xanthan gum and locus bean gum upon flow and thixotropic behaviour of food emulsions containing modified starch. *Journal of Food Engineering*, 81: 179-186.
- Embuscado, M., Huber, K.C., Valley, H., Milda, M.D.E. 2009. *Edible Films and coatings for food applications*. Springer Dordrecht Heidelberg, Londres. 403 p.
- Espitia, P. J., Wen X.D., Avena-Bustillos, R. J., Ferreira, S. N., McHugh, T. H. 2014. Edible films from pectin: physical-mechanical and antimicrobial properties: A review. *Food Hydrocolloids*, 35: 287-296.
- Fairley, P., Krochta, M. J., Bruce, G. J. 1997. Interfacial interactions in edible emulsion films from whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 11(3): 245-252.
- Fajardo, P., Martins, J.T., Fuciños, C., Pastrana, L., Teixeira, J.A., Vicente, A.A. 2010. Evaluation of a chitosan-based edible film as carrier of natamycin to improve the storability of Saloio cheese. *Journal of Food Engineering*, 101: 349–356.
- Falguera, V., Quintero, J.P., Jim, A., Mu-nozb, A., Ibarz, A. 2011. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 22: 292-303.
- Fang, Y., Tung, M.A., Britt, I.J., Yada, S., Dalgleish, D.S. 2002. Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. *Journal of Food Science*, 67(1): 188-193.

- FAO. 2013. System FAOSTAT of Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat3.fao.org/faostat-ateway/go/to/download/Q/QC/S>. Fecha de consultada el 10 octubre 2013.
- Figuerola, M.S., Aragón, G. W. I., Hernández, O. E., Vázquez, O. J.A., Adriano, A. M. L. 2011. Effect of chitosan coating on some characteristics of mango (*Mangifera indica* L.) "Ataulfo" subjected to hydrothermal process. African Journal of Agricultural Research, 6(27): 5800-5807.
- Fisher, L.R., Parker, N.S. 1988. *Effect of surfactants on the interactions between emulsion droplets*. En: *Advances in Food Emulsions and Foams*. Elsevier Applied Science. Nueva York. pp. 45-90.
- Friberg, S.E., Larsson, K. 1997. *Food emulsions*. Marcel Dekker, Inc. Nueva York, EUA. 582p.
- Galiotta, G., Harte, F., Molinari, D., Capdevielle, R. 2005. Aumento de la vida útil poscosecha de tomate usando una película de proteína de suero de leche. Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha, 6(2): 117-123.
- Galus, S., Lenart, A. 2013. Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. Journal of Food Engineering, (115): 459–465.
- Garcia, L. C., Pereira, L. M. R., Sarantópoulos, C.I.G.L., Hubinger, M. D. 2010. Selection of an edible starch coating for minimally processed strawberry. Food Bioprocess & Technology, 3: 834-842.
- Gennadios, A., McHugh, T.H., Weller, C.L., Krochta, J.M. 1994. *Edible coatings and film based proteins*. In: Krochta, J. M., Baldwin, E.A;

- Nisperos-Carriedo, M. *Edible coatings and films to Improve food quality*. Editorial Technomic, Lancaster, PA. pp. 201-277.
- Giancone, T., Torrieri, E., Di Pierro, P., Mariniello, L., Moresi, M., Porta, R. (2008). Role of constituents on the network formation of hydrocolloid edible films. *Journal of Food Engineering*, 89: 195–203.
- Gigli, J., Garnier, C., Piazza, L. 2009. Rheological behaviour of low-methoxyl pectin gels over an extended frequency window. *Food Hydrocolloids*, 23: 1406–1412.
- Girard, M.S., Turgeon S.L., Paquin, P. 2002. Emulsifying properties of whey protein-carboxymethylcellulosa complexes. *Journal of Food Science*, 67: 113-116.
- González, A. G.A., Álvarez, P. E., Olivas, G. L.R., Ayala, Z. J.F. 2009. *Aspectos nutricionales y sensoriales de vegetales frescos cortados*. Editorial Trillas CIAD. México. 419p.
- Gunstone, F.D. 1997. *Lipid Technology and Applications*. Marcel Dekker, Inc. Nueva York. 834p.
- Han, H. J., Gennadios, A. 2005. Edible Films and coatings: a review, *In: Innovations in Food Packaging*. Elsevier Academic Press. pp. 239-259.
- Happi Emaga, T., H., Garna, M. Paquot., Deleu, M. 2012. Purification of pectin from apple pomace juice by using sodium caseinate and characterisation of their binding by isothermal titration calorimetry. *Food Hydrocolloids*, 29(1): 211-218.
- Henrique, C.M., Teófilo, R.F., Sabino, L., Ferreira, M.M., Cereda, M.P. 2007. Classification of cassava starch films by physicochemical properties and

- water vapor permeability quantification by FTIR and PLS. *Food Engineering and Physical Properties*, 72: 184-188.
- Jayathunge, L., Illeperuma, Ch. 2005. Extension of postharvest life of oyster mushroom by modified atmosphere packaging technique. *Journal of food science*, 70(9): 57-578.
- Jing-Jun, Y., Jian-Rong, L., Xiao-Xiang, H., Lei, Z., Tian-Jia, J., Miao, X. 2012. Effects of active modified atmosphere packaging on postharvest quality of shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) stored at cold storage. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(3): 474-482.
- Kader, A. A. 2007. *Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas*. Postharvest Technology Research & Information Center University of California, Davis, C.A. 570 p.
- Kalac, P. 2009. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chemistry*, 13: 9–16.
- Krochta, J. M. 2002. *Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities*. En: A. Gennadios (ed.) *Protein-Based Films and Coatings*. CRC Press. Florida, EUA. 640 p.
- Lamikanra, O. 2002. *Fresh-cut fruits and vegetables. Science Technology and Market*. CRC Press. Washington. 467p.
- Leal-Calderon, F., Thivilliers, F., Schmitt, V. 2007. Structured emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 12: 206–212.
- Leceta, I., Guerrero, P., De la Caba, K. 2013. Functional properties of chitosan-based films. *Carbohydrate Polymers*, 93: 339–346.

- Li, T., Li, S., Wang, N., Liu, J. 2008. Physicochemical properties and partial structural features of haw pectin. *European Food Research & Technology*, 227: 1035–1041.
- Lima, A.M., Cerqueira, M.A., Souza, B.W.S., Santos, E.C.M., Teixeira, J.A., Moreira, R.A., Vicente, A.A. 2010. New edible coatings composed of galactomannans and collagen blends to improve the postharvest quality of fruits, influence on fruits gas transfer rate. *Journal of Food Engineering*, 97: 101–109.
- Lin, D., Zhao, Y. 2007. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6: 60-75.
- López, S.C.A. 2011. *Modelo de estabilidad de emulsiones poliméricas*. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería, Bogotá, Colombia. 180 p.
- Loyola, N., Pavéz, P., Lillo, S. 2011. Extracción de pectina a partir de manzana (*Malus pumila*), cv. Pink Lady. *Ciencia e Investigación Agraria Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule, Curicó Chile*, 38(3): 425-434.
- Maftoonazad, N., Ramaswamy, H.S. 2008. Effect of pectin-based coating on the kinetics of quality change associated with stored avocados. *Journal of Food Processing and Preservation*, 32: 621–643.
- Mahajan, P.V., Oliveira, F.A.R., Macedo I. 2008. Effect of temperature and humidity on the transpiration rate of the whole mushrooms. *Journal of Food Engineering*, 84: 281–288.

- Martínez-Carrera, D., Larqué, M., Aliphat, A., Aguilar, M., Bonilla, W., Martínez. 2000. La biotecnología de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México. Academia Mexicana de Ciencias-CONACYT, México, D. F. ISBN 968-7428-11-2.
- Masmoudi, M., Besbes, S., Chaabouni, M., Robert, C., Paquot, M., Blecker, C., Attiaa, H. 2008. Optimization of pectin extraction from lemon by-product with acidified date juice using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 74: 185–192.
- McHugh, T.H., Avena-Bustillos, R., Kochta, J.M. 1993. Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58: 899-903.
- Mesbahi, G., Jamalian, J., Farahnakya, A. 2005. A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. *Food Hydrocolloids* 19: 731–738.
- Methacanon, P., Krongsin, J., Gamonpilas. 2014. Pomelo (*Citrus maxima*) pectin: Effects of extraction parameters and its properties. *Food Hydrocolloids*, 35: 383-391.
- Mohnen, D. 2008. Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 11: 266–277.
- Mora, V. M., Martínez-Carrera D. 2007. *Investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas sobre el cultivo de setas (Pleurotus) en México*. En: *El Cultivo de Setas Pleurotus spp. en México*. J. E. Sánchez, D. Martínez-Carrera, G. Mata & H. Leal (eds.). ECOSUR, México, D.F. ISBN 978-970-9712-40-7. pp. 7-26.

- Morales-Rueda, J.A., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso M.A., Weiss, R.G., Toro-Vazquez J.F. 2009. Thermo-mechanical properties of candelilla wax and dotriacontane organogels in safflower oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111: 207–215.
- Murillo, M.M., Pedroza, I.R., Lobato, C.C., Martínez, F. A., Vernon, C. J. 2011. Designing $W_1/O/W_2$ double emulsions stabilized by protein-polysaccharide complexes for producing edible films: Rheological, mechanical and water vapour properties. *Food Hydrocolloids*, 25: 577-585.
- Muy-Rangel, D., Espinoza, V. B., Siller, C. J., Sañudo, B. A., Valdez, T. B., Osuna, E. T. 2009. Efecto del 1-metilciclopropeno (1-MCP) y de una película comestible sobre la actividad enzimática y calidad poscosecha del mango “ataulfo”. *Revista Fitotecnia mexicana*, 32(1): 53-60.
- Navarro, T.M., Massa, A., Pérez, G. M. 2011. Effect of beeswax content on hydroxypropyl methylcellulose-based edible film properties and postharvest quality of coated plums (*Cv. Angeleno*). *Food Science and Technology*, 44: 2328-2334.
- Nieto-Ángel, R., Pérez-Ortega, S.A., Núñez-Colín, C.A., Martínez-Solís, J., González-Andrés, F. 2009. Seed and endocarp traits as markers of the 83 biodiversity of regional sources of germplasm of tejocote (*Crataegus spp.*) from Central and Southern México. *Scientia Horticulturae*, 121: 166-170.

- Nordby, M. H., Kjoniksen, A. L., Nyström B., Roots, J. 2003. Thermoreversible gelation of aqueous mixtures of pectin and chitosan. *Reology. Biomacromolecules*, 4: 337-343.
- Nuhum, A., Ruhul, A., Asaduzzaman, K., Ismot, A., Mi-Ja, S., Min, W. L., Tae, S. L. 2008. Nutritional Analysis of Cultivated Mushrooms in Bangladesh- *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus florida* and *Calocybe indica*. *Mycobiology*, 36(4): 228-232.
- Núñez-Colín, C. A., Nieto-A. R., Barrientos-Priego, F.A., Sahagún-Castellanos, J., Segura, S., González-Andrés, F. 2008. Variability of three regional sources of germplasm of Tejocote (*Crataegus spp.*) from central and southern Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55: 1159–1165.
- Ochoa, E., Saucedo, P.S., Rojas, M. R., De la Garza, H., Charles, R.A., Aguilar, C.N. 2011. Evaluation of a candelilla wax-based edible coating to prolong the shelf-life quality and safety of apples. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(1): 92-98.
- Olivas, G., Barbosa-Cánovas, G. (2009). *Edible films and coatings for fruits and vegetables*. En: Embuscado, M.E., Huber, K.C. (eds.), *Edible Films and Coatings for Food Applications*. Springer, Nueva York, EUA. pp. 211–244.
- Oliveira, F., Sousa-Gallagher, M.J., Mahajan, P.V., Teixeira, J.A. 2012. Development of shelf-life kinetic model for modified atmosphere packaging of fresh sliced mushrooms. *Journal of Food Engineering*, 111: 466–473.

- Pacheco, A. M., Ancona, M. L., Flores, N. A., Pech, M. V. 2005. *Estimación de la demanda de Pleurotus ostreatus en el Estado de Yucatán*. Revista Mexicana de Agronegocios, 17: 711- 721.
- Pal, R. 2011. Rheology of simple and multiple emulsions. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 16: 41–60.
- Pathmashini, L. V., Arulnandhy, V., Wijeratnam, R.S. 2008. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on sawdust Cey. Journal of Biological Sciences, 37 (2): 177-182.
- Perdones, A., Sánchez, G. L., Chiralt, A., Vargas, M. 2012. Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. Postharvest Biology and Technology, 70: 32–41.
- Pérez, C.F.J., Carballo, C.A., Santacruz, V.A., Hernández, L.A., Molina, M. C.J. 2007. Calidad fisiológica en semillas de maíz con diferencias estructurales. Agricultura Técnica en México, 33(1): 53-61.
- Pesis, E. 2005. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. Postharvest Biology and Technology, 37: 1–19.
- Pichot, R. 2010. Stability and characterisation of emulsions in the presence of colloidal particles and surfactants. Tesis doctoral, Universidad de Birmingham, Inglaterra. 204p.
- Pintado, C.M., Ferreira, M.A., Sousa, I. 2009. Properties of whey protein-based films containing organic acids and nisin to control *Listeria monocytogenes*. Journal Food Protection, 72(9): 1891-1896.

- Rajinder, P. 2011. Current opinion in colloid & interface science. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 16: 41–60.
- Rocha, B. J.C., Dutra, L. J., Nucci, M.C., Barrera, A. D., Ricardo, G. L., Lopes, C.R. 2013. Thermal and rheological properties of organogels formed by sugarcane or candelilla wax in soybean oil. *Food Research International*, 50: 318–323.
- Rojas, M. R., Saucedo, P.S., De León, Z.M.A., Jasso, C. D., Aguilar C.N. 2011. *Pasado, Presente y Futuro de la Candelilla*. INIFAP, Revista Mexicana de Ciencias Forestales, 124 p.
- Ruiz, M.P., Cortés, M. R., Henríquez, A.L. 2010. Efecto de dos atmósferas de empaque en hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus* L.) tratados mediante impregnación a vacío con una solución conservante. *Revista Facultad de Química Farmacéutica*. Universidad Nacional de Colombia, 17(1): 12-19.
- SAGARPA. 2013. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, pesca y Alimentación. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.gob.mx/>. Consultada el 10 de octubre 2013.
- Sánchez, C. 2010. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied Microbiological Biotechnology*, 85: 1321–1337.
- Sánchez, G. L., Vargas, M., González, M. Ch., Chiraltnt, A., Cháfer, M. 2013. Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloids*, 23: 2102–2109.

- Sánchez, V.J., Martínez –Carrera D., Mata, G., Lara, H. L. 2007. *El cultivo de las setas Pleurotus spp. en México*. Editorial Ecosur. Colegio de la Frontera del Sur. 235 p.
- Sijin-Wang, Fang-Chen., Jihong-Wu., Zhengfu-Wang., Xiaojun-Liao., Xiaosong-Hu. 2007. Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78: 693–700.
- Singthong, J., Steve, W.C., Ningsanond, S., Douglas, G.H. 2004. Structural characterization, degree of esterification and some gelling properties of Krueo Ma Noy (*Cissampelos pareira*) pectin. *Carbohydrate Polymers*, 58: 391-400.
- Sothornvit, R., Krochta, J.M. 2005. *Plasticizers in edible films and coatings*. En: *Innovations in Food Packaging*. Academic Press (ed.). Londres, Reino Unido. pp. 403–433.
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*. East Lansing: Freeman Press.
- Stone, A. K., Cheung, L., Chang, C., Nickerson, M.T. 2013. Formation and functionality of soluble and insoluble electrostatic complexes within mixtures of canola protein isolate and (κ -, ι - and λ -type) carrageenan. *Food Research International*, 54: 195-202.
- Suhong, L., Tuoping, L., Youfeng, J., Rugang, Z., Na Wang, S.J., Mei, G. 2011. Fractionation and structural characterization of haw pectin oligosaccharides. *Food Research Technology Springer*, 233: 731–734.

- Toro, V. J.F., Morales, R.J., Ajay, M.V., Weis, R. G. 2010. Relationship between molecular structure and thermo-mechanical properties of candelilla wax and amides derived from (R)-12-Hydroxystearic acid as gelators of safflower oil. *Food Biophysics*, 5: 193–202.
- Valencia, Ch. S.A., Pérez, G.M.B., Ángel del Río, M., Palou, L. 2009. Effect of antifungal hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)–lipid edible composite coatings on postharvest decay development and quality attributes of cold-stored ‘Valencia’ oranges. *Postharvest Biology and Technology*, 54: 72–79.
- Ventura, A. R., Colinas, L.M.T., Martínez, D., Valle, G. S. 2011. Atmósferas modificadas, frigo conservación e inhibidores de oscurecimiento en poscosecha de *Pleurotus ostreatus*. *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas*, 2(2): 197-206.
- Villaescusa, R., Gil, M.I. 2003. Quality improvement of *Pleurotus* mushrooms by modified atmosphere packaging and moisture absorbers. *Postharvest Biology and Technology*, 28: 169-179.
- Vullioud, M. B., Rusalen, R., De Michelis, A. 2011. Blanching process of oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) and its effect on parameters of technological interest in Argentina. *Micología Aplicada Internacional*, 23(2): 47-53.
- Wiley, R.C. 1994. *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. Chapman & Hall Nueva York, EUA. 373p.

- Williats, W.G.T., Knox, P., Dalgaard M. J. 2006. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, 17: 97–104.
- Yapo, B. M. 2009. Pectin quantity, composition and physicochemical behaviour as influenced by the purification process. *Food Research International*, 42: 1197–1202.
- Yapo, B.M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B., Paquot, M. 2007. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pectin extracts. *Food Chemistry*, 100: 1356-1364.