



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**✓ CONSERVACIÓN DE HUITLACOCHÉ (*Ustilago maydis* DC)
MÍNIMAMENTE PROCESADO EN ATMÓSFERAS MODIFICADAS
BASADAS EN MICROPERFORADO //**

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS:
EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

PRESENTA:

TERESA MONROY GUTIÉRREZ



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES

Enero, 2009.

Chapingo, Estado de México.



BIBLIOTECA AGROINDUSTRIAL UACH.

Conservación de huitlacoche (*Ustilago maydis* DC)
mínimamente procesado en atmósferas modificadas basadas
en microperforado

Tesis realizada por Teresa Monroy Gutiérrez bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN:
CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

DIRECTOR: 
Dr. Salvador Valle Guadarrama

ASESOR: 
Dr. Teodoro Espinosa Solares

ASESOR: 
M. en C. Artemio Pérez López

ASESOR: 
Dra. Ma. Teresa Martínez Damián

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado para la realización de mis estudios de maestría y proyecto de investigación (Proyecto 47725: "Producción controlada e intensiva de huitlacoche (*Ustilago maydis* D.C. Corda) y alternativas para su manejo en postcosecha").

A la Universidad Autónoma Chapingo, especialmente al Departamento de Ingeniería Agroindustrial y a la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria por brindarme las herramientas necesarias para concluir satisfactoriamente mi formación académica.

Al Dr. Salvador Valle Guadarrama por su valiosa aportación a éste trabajo como orientador y maestro, especialmente por su apoyo, voluntad, paciencia, confianza y disposición en todo momento.

Al Dr. Teodoro Espinosa Solares por su apoyo y valiosas recomendaciones para la realización del trabajo de investigación.

A la Dra. Ma. Teresa Martínez Damián y al M.C. Artemio Pérez López por sus observaciones y asesoría durante la revisión del trabajo realizado.

Al coordinador de posgrado, profesores del Programa de Tecnología Postcosecha y al personal administrativo por todas las facilidades otorgadas.

DATOS BIOGRÁFICOS

Nombre: Teresa Monroy Gutiérrez

Lugar de nacimiento: Jocotitlán, Estado de México.

Domicilio actual: Localidad Santiago Yeché, Barrio de Endavati S/N,
Jocotitlán, México.

e-mail: tere.monroy@gmail.com

Preparación académica

2000-2005	Ingeniero Agroindustrial – Título y Cédula profesional No.4795805 Departamento de Ingeniería Agroindustrial 2000-2005. Universidad Autónoma Chapingo Prom. General. 8.4
-----------	--

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso por su amor infinito al dirigir mi vida siempre.

*A mis amados padres Sara Gutiérrez Mercado y Misael Monroy Dávila,
especialmente a mi madre por creer en mí y permitirme ser quien soy.*

*A mis queridos hermanos Nancy, Marisol, Edgar y Misael, que sus vidas estén
llenas de amor y sus sueños se vuelvan realidad siempre.*

*A mis adorables sobrinos Cesar, Valeria y Gael por la alegría que nos brindan día a
día, que su vida este llena de éxito futuro.*

*A mis cuñados Benjamín, Ilda y Carlos por el apoyo que brindan a mi familia, que
sus vidas esten llenas de bendiciones.*

A Manuel, Rosy, Manuelito y Natalia con cariño, gracias por todo.

*A los amigos que sin mencionarlos me han brindado su amistad incondicionalmente,
gracias por hacer más llevadera mi vida, les deseo éxito y felicidad.*

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
RESUMEN.....	viii
SUMMARY	viii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Origen y distribución geográfica	4
2.2. Nomenclatura	4
2.2.1. Nombres comunes.....	4
2.2.2. Clasificación taxonómica	5
2.3. Morfología	6
2.4. Ciclo biológico	7
2.5. Huitlacoche como enfermedad del maíz	8
2.5.1. Síntomas de la enfermedad.....	9
2.5.2. Control de la enfermedad	9
2.5.3. Requerimientos de clima y suelo	10
2.6. Manejo postcosecha.....	11
2.7. Aprovechamiento del huitlacoche.....	13
2.7.1. Uso alimenticio	14
2.7.1.1. Valor nutritivo	15
2.7.2. Uso industrial	17
2.7.3. Uso como modelo biológico.....	18

2.8. Atmosferas modificadas	18
2.8.1. Almacenamiento en atmosfera modificada en base a perforaciones	27
2.9. Punto de Compensación Anaeróbica (PCA)	30
2.10. Producción de metabolitos anaerobios: acetaldehído y etanol.....	33
3. MATERIALES Y MÉTODOS	35
3.1. Material vegetal	35
3.2. Organización experimental de la investigación	35
3.3. Fase uno de investigación. Evaluación del efecto del microperforado sobre las condiciones de operación	36
3.3.1. Desarrollo experimental.	36
3.3.2. Análisis de datos.....	37
3.4. Fase dos de investigación. Evaluación del efecto del microperforado sobre la vida de anaquel de huitlacoche	38
3.4.1. Desarrollo experimental.	38
3.4.2. Análisis de datos.....	39
3.5. Evaluación de variables respuesta.....	39
3.5.1. Respiración.....	39
3.5.2. Pérdida de peso.....	40
3.5.3. Color.	40
3.5.4. Firmeza.....	41
3.5.5. pH.	41
3.5.6. Contenido de acetaldehído y etanol.....	41
3.5.7. Medición de concentraciones.	42
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43

4.1. Fase uno de investigación. Evaluación del efecto de microperforado sobre las condiciones de operación.	43
4.2. Fase dos de investigación. Efecto del microperforado sobre la vida de anaquel del huitlacoche.....	50
4.2.1. Calidad de la cosecha.....	50
4.2.2. Concentraciones de O ₂ y CO ₂ instaladas en envases y ambiente...	51
4.2.3. Tasa respiratoria	56
4.2.4. Producción de metabolitos anaerobios: etanol y acetaldehído	59
4.2.5. Pérdida de peso.....	64
4.2.6. Color	66
4.2.7. Firmeza.....	71
4.2.8. pH	73
5. CONCLUSIONES	77
6. LITERATURA CITADA.....	79

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Composición proximal de huitlacoche.....	15
Cuadro 2. Constantes de regresión asociadas a la Ecuación (1) para la representación de la variación de O ₂ y CO ₂ a 20 °C y 3 °C en el interior de las bolsas de polietileno de baja densidad con 150 g de agallas de huitlacoche.....	46
Cuadro 3. Comparación de medias de concentraciones instaladas de O ₂ y CO ₂ en los envases de AM afectadas por temperatura y número de perforaciones.....	46
Cuadro 4. Comparación de medias entre niveles de los factores de variación de O ₂ y CO ₂ en el ambiente inmediato al hongo huitlacoche durante la fase experimental de AM.....	52
Cuadro 5. Comparación de medias entre niveles de los factores de variación de concentración de CO ₂ en las unidades experimentales de huitlacoche en AM.....	56
Cuadro 6. Comparación de medias entre los niveles de producción de acetaldehído y etanol (acetaldehído y etanol) en las unidades experimentales de huitlacoche durante la fase experimental de AM.....	60
Cuadro 7. Comparación de medias entre niveles de los factores de variación de producción de metabolitos anaerobios (acetaldehído y etanol) en las unidades experimentales de huitlacoche durante la fase experimental de AM.....	61
Cuadro 8. Comparación de medias entre niveles de los factores de variación de porcentaje de pérdida de peso en las	

	unidades experimentales de huitlacoche durante la fase experimental de AM.....	65
Cuadro 9	Comparación de medias entre niveles de los factores de variación de la intensidad de color en las unidades experimentales de huitlacoche durante la fase experimental de AM.....	67
Cuadro 10.	Comparación de medias entre niveles de los factores de variación de firmeza en las unidades experimentales de huitlacoche durante la fase experimental de AM.....	73
Cuadro 11.	Comparación de medias entre los niveles de los factores de variación de pH en las unidades experimentales de huitlacoche durante la fase experimental de AM.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ciclo biológico de <i>Ustilago maydis</i> DC.....	8
Figura 2. Mazorca de huitlacoche entero y huitlacoche desgranado.....	35
Figura 3. Unidades experimentales en la cámara a 20 °C.....	36
Figura 4. Unidades experimentales en la cámara de 20 y 3 °C.....	38
Figura 5. Unidades experimentales para la toma de muestra en la medición de respiración por el método estático.....	40
Figura 6. Medición de la firmeza en agallas de huitlacoche.....	41
Figura 7. Cinética de cambio en la concentración de O ₂ y CO ₂ a 20 °C en bolsa de polietileno de baja densidad intacta, dos microperforaciones, cinco microperforaciones, diez microperforaciones y veinte microperforaciones.....	44
Figura 8. Cinética de cambio en la concentración de O ₂ y CO ₂ a 3 °C en bolsa de polietileno de baja densidad intacta, dos microperforaciones, cinco microperforaciones, diez microperforaciones y veinte microperforaciones.....	45
Figura 9. Cinética de cambio en la concentración de O ₂ y CO ₂ en aire normal (AN), bolsa perforada (B5) y bolsa de polietileno de baja densidad intacta (B0) a 20 °C y 3 °C..	53
Figura 10. Velocidad de respiración (expresada como velocidad de producción de CO ₂) en aire normal (AN), bolsa perforada (B5) y bolsa intacta (B0) a 20 °C y 3 °C.....	58
Figura 11. Producción de metabolitos anaerobios (acetaldehído y etanol) en huitlacoche almacenado en aire normal (AN), bolsa perforada (B5) y bolsa intacta (B0) a 20 °C y 3 °C.	61

Figura 12.	Producción de metabolitos anaerobios en huitlacoche almacenado en aire normal (AN), bolsa perforada (B5) y bolsa intacta (B0) a 20 °C y 3 °C.....	63
Figura 13.	Pérdida de peso de huitlacoche almacenado en aire normal (AN), bolsa perforada (B5) y bolsa intacta (B0) a 20 °C y 3 °C.....	66
Figura 14.	Valores alcanzados de luminosidad, pureza de color y ángulo de tono en huitlacoche almacenado en aire normal (AN), bolsa perforada (B5) y bolsa intacta (B0) a 20 °C y 3 °C.....	68
Figura 15.	Variación de la firmeza (N) en huitlacoche almacenado a 20 °C y a 3 °C.....	72
Figura 16.	Variación del pH en huitlacoche almacenado a 20 °C y a 3 °C.....	74

CONSERVACIÓN DE HUITLACOCHÉ (*Ustilago maydis* DC) MÍNIMAMENTE PROCESADO EN ATMÓSFERAS MODIFICADAS BASADAS EN MICROPERFORADO

CONSERVATION OF HUITLACOCHÉ (*Ustilago maydis* DC) MINIMALLY PROCESSED IN MODIFIED ATMOSPHERE BASED ON MICROPERFORATION

RESUMEN

Los objetivos del trabajo fueron evaluar, para un manejo de huitlacoche en condiciones térmicas ambientales y bajo refrigeración, el efecto del microperforado de envase sobre las concentraciones instaladas de O_2 y CO_2 en un sistema de atmósfera modificada y evaluar el efecto de este último sobre el comportamiento postcosecha del mismo hongo. Se realizaron dos fases. En la primera, se envasaron, a 20 y a 3 °C, lotes de 150 g de agallas de huitlacoche en bolsas de polietileno de baja densidad (PBD) intactas y con 2, 5, 10 y 20 perforaciones. A 20 °C el O_2 se instaló con 0 % en bolsa intacta y bolsa con 2 perforaciones y en rangos de 1-2 %, 6-7 % y 8-9 % con 5, 10 y 20 perforaciones, respectivamente, y el CO_2 lo hizo en rangos de 24-25 %, 21-22 %, 21-22 %, 14-15 % y 14-15 % para 0, 2, 5, 10 y 20 perforaciones, respectivamente. En contraste, a 3 °C el O_2 alcanzó valores de 16-17 % en todos los casos y el CO_2 varió de 10-11 % con 0 y 2 perforaciones, de 5-6 % con 5 y 10 perforaciones y de 3-4 % con 20 perforaciones. En una segunda fase, se estudio el comportamiento postcosecha del hongo en aire y en bolsa intacta y con 5 perforaciones. Las condiciones de operación propiciaron baja actividad fermentativa, excepto en el tratamiento de bolsa intacta a 20 °C donde se desarrollaron condiciones anaeróbicas. Por otro lado, a 20 °C, el mejor tratamiento fue el de 5 perforaciones, pues permitió un retraso en la velocidad de oscurecimiento y una reducción en la pérdida de firmeza, con vida útil de hasta 12 días. En contraste, a 3 °C, el mejor tratamiento fue con bolsa intacta, con la cual fue posible un almacenamiento hasta por 30 d.

Palabras clave: *Ustilago maydis*, huitlacoche, microperforado, atmósfera modificada, postcosecha.

SUMMARY

The objectives of the work were to evaluate, for a handling of huitlacoche at ambient thermal conditions and under refrigeration, the effect of package microperforation on the O_2 and CO_2 installed concentrations in a modified atmosphere system and to evaluate the effect of the later on the postharvest behavior of the product. Two phases were done. In the first, lots of 150 g of galls of huitlacoche were packaged at 20 and 3 °C inside low density polyethylene (LDP) intact bags and inside LDP bags with 2, 5, 10 and 20 perforations. At 20 °C the O_2 was installed with 0 % in intact bags and in bags with two perforations, and within ranges of 1-2 %, 6-7 % and 8-9 % with 5, 10 and 20 perforations, respectively, and CO_2 reached concentrations between 24-25 %, 21-22 %, 21-22 %, 14-15 % and 14-15 % in bags with 0, 2, 5, 10 and 20 perforations, respectively. In contrast, at 3 °C the O_2 reached values of 16-17 % in all the cases and CO_2 ranged from 10 to 11 % with 0 and 2 perforations, from 5 to 6 % with 5 and 10 perforations and from 3 to 4 % with 20 perforations. In a second phase, it was studied the postharvest behavior of the huitlacoche in air and inside intact bag and bag with 5 perforations. Operation conditions caused low fermentative activity, except with intact bag treatment at 20 °C, where anaerobic conditions were developed. On other hand, at 20 °C the best treatment was that of 5 perforations, which allowed a reduction in darkening rate and also a reduction in firmness loss, with a shelf life extended up to 12 d. In contrast, at 3 °C the best treatment was the intact bag, because with it the storage was extended up to 30 d.

Key words: *Ustilago maydis*, huitlacoche, microperforation, modified atmosphere, postharvest.

1. INTRODUCCIÓN

Ustilago maydis es el nombre científico del hongo que causa la enfermedad del carbón común del maíz. Cuando la infección se produce en las mazorcas, coincidiendo con la formación de los granos, es cuando se le considera un producto alimenticio para el ser humano (Castro-Espinoza y Ruíz-Hernández, 2003) y se le da el nombre de huitlacoche. Aunque este hongo puede provocar pérdidas importantes en la producción de maíz, en México es un alimento apreciado (Herrera y Ulloa, 1998), pero tiene también otros usos pues, según Guzmán (1997), las esporas pueden usarse en medicina tradicional. A nivel mundial se le considera un platillo exótico y su demanda ha crecido en países de la Unión Europea, así como en Estados Unidos y Japón (Villanueva-Verduzco, 2006).

Los hongos, en general, tienen vida de anaquel corta, la cual se extiende de uno a tres días a temperatura ambiente y de ocho a 10 días en condiciones de refrigeración, siendo esta última esencial para mantener la calidad (González-Fandos *et al.*, 2000). En el caso del huitlacoche, aunque se le ha manejado en formas congelada y deshidratada (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007), se prefiere una comercialización en fresco, sin embargo, es un producto sumamente frágil, incluso más que la fresa, pues se roza, se lastima y se deshace con mucha facilidad, con lo cual pierde su aspecto agradable y su calidad (Villanueva-Verduzco, 2006), por lo cual se debe optimizar su manejo postcosecha.

A este respecto, Martínez-Flores *et al.* (2008) señalaron que el huitlacoche puede ser manejado en refrigeración y recomendaron una condición térmica de 3 °C, con la cual se reduce la actividad respiratoria y se retardan el oscurecimiento y la pérdida de peso en relación a un manejo a temperaturas ambientales. Sin menoscabo de este aporte y aunque la refrigeración constituye la estrategia más eficiente para alargar la vida de anaquel de los productos, cuando se le combina con técnicas como atmósferas controladas (AC) o atmósferas modificadas (AM) los beneficios de aquella se mejoran, como lo demostraron Martínez-Morales *et al.* (2008), al conseguir manejar frutos de zapote mamey hasta por 28 días, y Valle-Guadarrama *et al.* (2008), en el retraso del oscurecimiento del pericarpio de frutos de litchi.

Por otro lado, actualmente hay una demanda creciente de alimentos que requieren menor tiempo de preparación para ser consumidos y, en tal sentido, los productos mínimamente procesados están ganando importancia en el mercado de vegetales frescos (De Oliveira-Silva *et al.*, 2005). Por ello, en el presente trabajo se ha propuesto el estudio de la conservación de agallas de huitlacoche en tecnología combinada de refrigeración y atmósferas modificadas y, aunque Martínez-Flores *et al.* (2008) mostraron que la agalla del hongo separada de la mazorca puede tener menor vida de anaquel que ésta última en forma intacta, se cree que se puede favorecer la distribución del producto hacia consumidores más diversos.

Sin embargo, la base de la operación de la tecnología de AM es la reducción de la concentración de O_2 y la elevación de la correspondiente a CO_2 dentro del material plástico que se usa como envase, pues con ello se retrasa la actividad respiratoria y se inducen diversos efectos fisiológicos que se traducen en el alargamiento del tiempo de conservación (Kader y Salveit, 2003). Pero todos los productos exhiben tolerancias a la baja disponibilidad de O_2 y a la elevada presencia de CO_2 , las cuales determinan los límites de operación de esta tecnología. Debido a ello se ha dejado claro que un adecuado manejo de productos en AM requiere del control de la permeabilidad del envase plástico, de tal forma que el O_2 y el CO_2 no se instalen en concentraciones fuera de las tolerancias del producto (Cameron *et al.*, 1995). A este respecto, Montanez (2005) señaló que el uso de películas perforadas representa una adecuación a la forma tradicional de implementación de AM en la que, en vez de utilizar envases plásticos intactos, a éstos se les generan una o más perforaciones o conductos que permiten controlar en forma más directa el intercambio de gases entre el interior y el exterior de dicho envase y por tanto se tiene un control más directo sobre las concentraciones de O_2 y CO_2 que se instalan en el interior.

En este contexto, el presente trabajo se planteó con los objetivos de evaluar, para un manejo de huitlacoche en condiciones térmicas ambientales y bajo refrigeración, el efecto del microperforado de envase sobre las concentraciones instaladas de O_2 y CO_2 en un sistema de atmósfera modificada y evaluar el efecto de este último sobre el comportamiento postcosecha del mismo hongo.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Origen y distribución geográfica

El carbón del maíz o huitlacoche causado por *Ustilago maydis* (De Candolle) Corda, es una enfermedad fungosa que se presenta dondequiera que se cultiva el maíz. El centro de origen del huitlacoche no está documentado; sin embargo, como es un hongo patógeno que sólo parasita el maíz, como resultado de una estrecha coevolución maíz-huitlacoche, puede considerarse que es originario del mismo lugar donde se domesticó el maíz, es decir México (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

2.2. Nomenclatura

2.2.1. Nombres comunes

En México, desde la época prehispánica, los aztecas lo tenían bien identificado como uno de los mejores alimentos por su buen sabor. Actualmente, en las zonas rurales, principalmente entre los grupos étnicos del país, se le conoce con diferentes nombres, siendo los más comunes: huitlacoche, cuitlacoche, cuitacoche, cuitlacocochtli (atizonado), cuitlacochein (maíz quemado), juas, kjutha, puax, tukura, xonatkuxi, carbón del maíz, hongo de maíz, hongo de milpa, seta del maíz, caviar azteca, trufa mexicana, tecolote y viejito entre otros (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

Otros de los nombres con los que se le denomina actualmente al huitlacoche son: dentó o donta en lengua otomí, en Ixmiquilpan Hidalgo; Shi-la en lengua

chontal, en Oaxaca; ta'chaak en maya en Yucatán; Loc, en la huasteca al sureste de San Luís Potosí y tecolote o cuervo en Jalisco.

2.2.2. Clasificación taxonómica

Ustilago, proviene del latín *ustus* o *ustulatos*, que significa quemado, chamuscado, cauterizado; de *ustulo*, quemar; por el color negro de la masa de esporas en las agallas del hongo. Pertenece a la subclase de los Heterobasidiomycetes y el orden de los Ustilaginales. Estos materiales producen las enfermedades llamadas carbones. No tienen cuerpo fructífero. Viven como parásitos en plantas superiores, donde desarrollan sus esporas de pared gruesa y con aspecto de carbón. Este hongo crece sobre el maíz y el teocintle, produciendo agallas, soros y tumores en el tallo, mazorcas, hojas y espigas, repletas de teliosporas carbonosas, que tienen un tamaño de entre 2-3 cm hasta de más de 15 cm de diámetro (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

Ustilaginales constituye un grupo importante de fitopatógenos, los cuales producen una variedad de enfermedades en monocotiledóneas alrededor del mundo. Estos patógenos tienen el potencial de causar severas enfermedades a pesar de los tratamientos químicos a las semillas y plantas, y a la existencia de variedades parcialmente resistentes, y los diferentes métodos de cultivo empleado. Entre los Ustilaginales patógenos de la avena pueden ser mencionados los siguientes: *Ustilago hordei*, *Ustilago nuda* y *Ustilago nigra*. Entre los Ustilaginales patógenos que afectan al trigo se puede citar a *Tilletia indica*, *Tilletia caries* y *Tilletia controversa*. De todos los Ustilaginales el más

conocido de todos los miembros del grupo es *U. maydis* que es un patógeno específico del maíz (*Zea mays*) y teozintle (*Zea mexicana*) (Ruíz-Herrera y Martínez-Espinoza, 1998).

2.3. Morfología

El huitlacoche produce un micelio dicariótico, que después de ocasionar una necrosis en el tejido de la planta hospedera se fragmenta y se transforma en teliosporas o clamidosporas también llamadas ustilagosporas. La teliospora es un tipo de espora esférica o elipsoidal de color café oscuro a negro, equinuladas (con protuberancias prominentes en forma de espinas de 7 a 11 micrómetros (μm) de diámetro), con capacidad para resistir las condiciones adversas del ambiente. Las teliosporas, se producen en gran cantidad dentro de cada agalla, constituyendo masas negras pulverulentas en la madurez. Los soros o agallas, se forman en cualquier parte tierna de la planta, principalmente en la inflorescencia femenina; carecen de columela y están cubiertos por una capa blanquecina llamada peridio (Herrera y Ulloa, 1998).

Las teliosporas poseen dos núcleos haploides. Al germinar, la teliospora presenta cariogamia, meiosis y mitosis, la pared se abre emitiendo un cuerpo tubular llamado basidio o promicelio, generalmente con cuatro células haploides que se transforman en basidiosporas (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

2.4. Ciclo biológico

La primera lesión en el año es causada por las esporas invernales. Las siguientes infecciones, son ocasionadas de manera sistémica o por reinfecciones ocasionadas por las nuevas teliosporas generadas en las agallas de ese año. La estructura de la teliospora está adaptada para superar las condiciones difíciles del ambiente, tales como la sequía y en especial el invierno. Caen directamente al suelo o son dispersadas por el viento a grandes distancias (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

Durante el ciclo de vida de *U. maydis*, las teliosporas germinan produciendo esporidias que infectan la planta de maíz, luego se forma el micelio dicariótico que crece y ataca las zonas meristemáticas de la planta. La infección es típicamente local apareciendo agallas en cualquier parte aérea de la planta. La fusión nuclear o carigamia ocurre antes de que se formen las teliosporas. Se pueden observar en este ciclo tres fases nucleares: la fase haploide con la formación de las basidiósporas o esporidias; la fase dicariótica con la formación del micelio dicariótico que es el que va a invadir la planta y a producir la infección, y la fase diploide con la formación de la teliospora. Estas fases involucran meiosis, plasmogamia y cariogamia respectivamente (Paredes-López, 2000).

El ciclo de vida de *U. maydis* es corto y se pueden producir teliosporas que no han alcanzado la madurez sexual. El tiempo requerido para inocular plantas y obtener progenie haploide es de tres semanas. Por otro lado, la germinación de

Este diagrama ilustra el ciclo de vida del hongo de la roya del maíz (*Ustilago maydis*). El ciclo comienza con la infección de las plantas jóvenes o de los tejidos en crecimiento de las plantas adultas por las basidiosporas. Estas se desarrollan en basidios, que producen cigotas. Las cigotas germinan para formar teliosporas, las cuales invernan sobre el suelo. Las teliosporas infectan las agallas de las plantas de maíz que ya tienen agallas. Las agallas infectadas se llenan de teliosporas. Las teliosporas se liberan y forman micelios dentro de las agallas. Los micelios se transforman en teliosporas dentro de la agalla. Las teliosporas infectan los tejidos de la hoja, produciendo agallas sobre la hoja. La infección de los mazorcos de maíz se produce a través de la seda. Las basidiosporas compatibles infectan los mazorcos de maíz a través de la seda. El micelio dicariótico infecta las semillas a través de la seda. Las semillas infectadas se alargan y forman agallas. El ciclo se completa cuando las agallas sobre la hoja liberan basidiosporas que infectan nuevas plantas jóvenes.

2.5. Huitlacoche como enfermedad del maíz

La importancia económica negativa del huitlacoche como enfermedad del

arraigada la tradición de consumo del huitlacoche. A nivel nacional predomina la importancia alimenticia del hongo (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

2.5.1. Síntomas de la enfermedad

El síntoma característico de ésta enfermedad es un tumor que se presenta en la planta en forma de agallas, siendo este último la parte más importante por las pérdidas de la parte comestible (Carroll, 1998). Se forma con el crecimiento desmesurado de las células del tejido infectado, en las mazorcas, el grano infectado es sustituido por las agallas. Inicialmente, las agallas están cubiertas por una membrana blanca encerrando a las células hipertróficas del hospedante y al micelio del hongo. Conforme las agallas maduran la membrana se torna gris plateada o plumiza, alcanzando dimensiones de hasta 15 cm de diámetro; al final, el micelio que ha invadido a las células del hospedante se transforman en teliosporas, mismas que son liberadas al romperse la membrana de la agalla (Leal-Chapa, 1996).

2.5.2. Control de la enfermedad

El carbón del maíz puede ser controlado hasta cierto grado mediante el uso de híbridos del maíz con alguna resistencia al hongo. No se conocen variedades o híbridos del maíz totalmente resistentes al carbón. El control mediante medidas sanitarias, como la remoción de las agallas del carbón antes de que se abran, es posible solo en lugares donde se cultiva el maíz en pequeñas parcelas aisladas, pero es impráctico e imposible en regiones donde se cultiva en áreas

extensas (Agrios, 1998). La rotación de cultivos ayuda a controlar la enfermedad en áreas donde el hongo es endémico.

2.5.3. Requerimientos de clima y suelo

La información disponible sobre las condiciones ambientales que favorecen el desarrollo del huitlacoche no es concluyente, sin embargo se pueden mencionar las siguientes:

- De manera natural el huitlacoche es más frecuente y severo en áreas con clima templado y húmedo que en las regiones calientes y secas.
- Predominantemente en años secos y calurosos.
- El ataque natural es más frecuente en las áreas cálidas y moderadamente secas, con temperaturas de 26 a 34 °C.
- Altas cantidades de nitrógeno y suelos abonados con materia orgánica parecen predisponer a las plantas al hongo.
- El daño por granizo y el paso de las cultivadoras, permiten al hongo penetrar rápidamente a la planta por las heridas que le ocasiona.
- La alta humedad relativa (75 a 85 %), mayor precipitación (45-53 mm) y temperaturas frescas (28 a 35 °C) en los 20 días posteriores a la inoculación, así como mayor humedad del suelo (80-85 % de humedad aprovechable), incrementan la incidencia del hongo inoculado artificialmente.
- Otros factores que influyen en el desarrollo del huitlacoche son daños mecánicos, granizo, aplicación de algunos herbicidas, riegos, labor de desespigamiento en lotes de producción de semilla híbrida, fallas en la

polinización y la incidencia de virus y el manejo asociado a la polinización controlada en maíz.

Es universalmente aceptado que los requisitos para el desarrollo de cualquier enfermedad patogénica son: la variedad susceptible, presencia de patógeno virulento y un clima favorable para el patógeno. En el caso de huitlacoche, no es problema encontrar variedades susceptibles, patógeno-virulento ni clima favorable; lo difícil es garantizar que en cultivo a cielo abierto coincidan a voluntad las condiciones favorables para el desarrollo del hongo en los días subsiguientes a la inoculación (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

2.6. Manejo postcosecha

Villanueva-Verduzco (2006) afirmó que en comparación con la fresa, que se considera una de las frutas más delicadas, el huitlacoche es más frágil, pues se roza, se lastima y deshace con mucha facilidad, con lo cual pierde su aspecto agradable, por lo que es muy necesario tener mucho cuidado en su manejo.

Durante su recolección, las mazorcas cosechadas deben ser colocadas en recipientes rígidos, evitando abrir la mazorca y desnudarla, para que no se rompan las agallas por rozaduras, sobre todo si el hongo será destinado al consumo en fresco. También menciona que un aspecto fundamental es realizar la cosecha cuando el peridio que cubre las agallas aún esté blanco e intacto y antes de que las agallas pierdan consistencia y se reblandezcan, ya que las cosechas posteriores a su punto óptimo resultan notablemente pobres en la calidad, por el deterioro de las agallas. Villanueva-Verduzco *et al.* (2007)

mencionaron que el indicador de cosecha es cuando las agallas alcanzan su máximo grado de desarrollo, aún no emergen del totemoxtle, tienen la capa blanquecina (peridio) intacto y las mazorcas se ven muy abultadas por las agallas. La forma preferida de comercialización en México es en fresco. Los métodos de conservación del huitlacoche mínimamente procesado, son congelando las mazorcas completas o en rebanadas y deshidratándolo bajo el sol o en una deshidratadora mecánica (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

Debido a que el consumo de huitlacoche se realiza en estado fresco y en forma inmediata a su recolección o cosecha; en general los cambios en postcosecha de huitlacoche no han sido estudiados a profundidad, lo que limita su vida de anaquel y mayor tiempo de venta en el mercado; sin embargo se comienzan a utilizar ciertas técnicas para su conservación, entre las que se encuentran la aplicación de frío, atmósferas controladas y atmósferas modificadas (Villanueva-Verduzco, 2006).

Martínez-Flores *et al.* (2008) identificaron el cambio de parámetros físicos y fisiológicos en postcosecha de huitlacoche entero (mazorca) y desgranado (agallas) a temperatura ambiente, 3 y 10 °C durante 11 días. Evaluaron el cambio de aspecto, color, pérdida de peso, respiración, producción de etileno y cambio en aminoácidos. Sus resultados mostraron que la respiración promedio del huitlacoche entero a temperatura ambiente, 10 y 3 °C fue de 320.8, 120.8 y 71.5 mLCO₂ kg⁻¹ h⁻¹ respectivamente; en tanto que para el desgranado fue de 372.8, 346.7 y 164.1 mLCO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a temperatura ambiente, 10 y 3 °C

respectivamente. Menciona también que a los 7 días de almacenamiento el hongo presentó pérdidas de peso arriba del 80, 60 y 22 % a temperatura ambiente, 10 y 3 °C.

Finalmente concluyeron que después del almacenamiento, el huitlacoche no mostró un cambio importante en el contenido de aminoácidos y que a 3 °C el huitlacoche entero conservó mejor su apariencia, color y peso. De la misma manera en esta investigación no se detectó producción de etileno a las temperaturas evaluadas.

2.7. Aprovechamiento del huitlacoche

Aunque puede provocar pérdidas importantes en la producción de grano de maíz, en México es un alimento humano apreciado (Herrera y Ulloa, 1998) y según Guzmán (1997) a veces las esporas se usan en medicina tradicional. Como alimento, cada vez es más conocido en el mundo, donde es consumido como un platillo exótico de la comida mexicana. Existe demanda insatisfecha en Estados Unidos, Unión Europea y Japón. En los Estados Unidos (Pensilvania), el huitlacoche espontáneo se recolecta en campos de maíz sembrados con la variedad susceptible de polinización abierta "Silver Queen", para comercializarlo congelado en fresco a un precio de 20 dólares por kilogramo (Villanueva, 1997).

La producción controlada y fuera de época, significa una alternativa altamente rentable respecto a la producción de maíz para grano, ya que es un producto

bien cotizado y con un mercado de oportunidad a nivel nacional y en los Estados Unidos (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

Considerando que se colecta y comercializa, su venta representa ingresos económicos para los productores nacionales, puesto que su precio supera por mucho al precio del maíz. En México en la actualidad el precio por kilogramo de huitlacoche varía en torno a 80 pesos el kilogramo en la época de producción natural de julio y agosto; y entre 60 y 120 pesos por kilogramo, fuera de dichos meses de recolección natural, aunque de manera extraordinaria ha llegado a valer hasta \$380.00 el kilogramo, precio al consumidor, en el mes de abril (Verificación propia).

2.7.1. Uso alimenticio

Los estados del centro de México son considerados el área original del uso alimenticio del huitlacoche, ya que su consumo es practicado desde la época prehispánica (Villanueva, 1997); en los estados del centro del país como: Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, México, Morelos, Oaxaca y Distrito Federal, el huitlacoche se consume tradicionalmente en forma de diferentes platillos típicos. Las principales formas de consumo humano del huitlacoche son: quesadillas, pechugas rellenas de huitlacoche, esquites con huitlacoche, entre otras (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

La tendencia en la nueva cocina mexicana va encaminada hacia el uso de ingredientes prehispánicos, produciendo una muy incrementada demanda para

el huitlacoche. Gracias a la demanda creciente en países como Estados Unidos es fácilmente encontrado en supermercados y tiendas de abarrotes latinas, enlatado bajo ciertas marcas (Martínez-Pelayo, 2000).

2.7.1.1. Valor nutritivo

Los hongos comestibles, desde el punto de vista nutricional, se caracterizan por ser bajos en calorías, sodio, grasa y colesterol. Pueden entonces ser visualizados como una fuente de alimentos suplementarios y son considerados especialmente útiles en las dietas vegetarianas (Castro-Espinoza y Ruiz-Hernández, 2003). El Cuadro 1 muestra la composición proximal del huitlacoche, la cantidad de proteínas es moderada pero más alta que las presentes en el grano de maíz y otros cereales. El contenido de carbohidratos y fibra es alto (Castro-Espinoza y Ruiz-Hernández, 2003)

Cuadro 1. Composición proximal de huitlacoche.

Componente	g 100g ⁻¹ base seca
Proteínas	11.5 – 16.4
Grasa	1.6 – 2.3
Cenizas	5.2 – 7.0
Fibra	16.0 – 23.5
Carbohidratos	55.1 – 66.5

Fuente. Castro-Espinoza y Ruiz-Hernández, 2003.

Castro-Espinoza *et al.* (2003) mencionaron que el contenido de grasas es considerado bajo, por lo tanto la cantidad de calorías y colesterol aportados son

pocas. Además en los componentes grasos se han reportado altos niveles de ácido linoleico, el cual es un ácido graso esencial desde el punto de vista nutricional. Sus proteínas contienen un buen balance de aminoácidos esenciales, destacándose altas cantidades de histidina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico y serina.

De acuerdo a León-Guzmán *et al.* (1997) la calidad, cantidad y disponibilidad *in vivo* de proteínas (aminoácidos libres y esenciales) juegan un papel importante en la evaluación de la calidad nutricional de hongos; también es sabido que los aminoácidos libres tales como glutámico y aspártico forman parte del sabor del alimento. De acuerdo a Paredes-López (2000) el huitlacoche supera los patrones que ha establecido la FAO para el consumo de aminoácidos en adultos.

Martínez-Flores *et al.* (2008) evaluaron el contenido de aminoácidos del huitlacoche fresco y después de 11 días de almacenamiento a 3 y 10 °C, sus resultados indicaron que el hongo contiene 18 aminoácidos; destacando la presencia de todos los esenciales que representaron el 37.8 % del total. Estos autores reportaron que los aminoácidos esenciales presentes en mayor cantidad fueron lisina, fenilalanina y leucina con 27.2, 20.6 y 15.5 % del total de los aminoácidos esenciales, respectivamente. Asimismo, encontraron dos aminoácidos no esenciales que destacaron por su alto contenido, estos fueron el ácido aspártico y ácido glutámico que representaron el 27.6 % del total de los aminoácidos. Los resultados obtenidos por estos autores mostraron que no se

presentaron cambios importantes en el contenido de aminoácidos después de 11 días de almacenamiento a 3 ó 10 °C, por lo tanto consideraron que el huitlacoche refrigerado en postcosecha mantiene su contenido de aminoácidos y no pierde su calidad nutricia.

2.7.2. Uso industrial

Villanueva-Verduzco (2006) menciona que en México el huitlacoche ya está siendo comercializado por seis industrias, que lo presentan de manera enlatada o liofilizada, deshidratado a baja temperatura. Entre ellas sobresalen Monteblanco y Hérdez. La época donde este producto observa mayor oferta se ubica en los meses de julio y agosto, con cantidades que van de las 300 a 400 toneladas por año (en fresco) tan sólo en los mercados de la ciudad de México.

Además de su apreciación alimenticia, el huitlacoche produce el ácido utiláxico, que se obtiene por fermentación de glucosa con cultivos sumergidos de *Ustilago maydis* (huitlacoche) a 30 °C. Tiene cierta importancia como componente de algunos perfumes raros y costosos; se utiliza en la fabricación de almizcles macrocíclicos de gran valor en la industria de la perfumería (Martínez-Pelayo, 2000). Algunos mutantes de huitlacoche se han utilizado en la producción industrial de aminoácidos como lisina, valina, arginina, treonina y de algunas vitaminas como riboflavina, niacina, biotina y ácido fólico (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

2.7.3. Uso como modelo biológico

El huitlacoche está siendo usado como modelo biológico para dilucidar las bases genético-moleculares de la patogenicidad de algunos hongos sobre plantas cultivadas y de la respuesta genéticamente controlada a factores de estrés. Se espera que el entendimiento de los mecanismos genéticos de la interacción maíz-huitlacoche tenga aplicación en el control de enfermedades económicamente más importantes, como son las royas y los tizones de diferentes plantas cultivadas (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

2.8. Atmósferas modificadas

El almacenamiento en atmósfera modificada (MAP) es una técnica usada para extender la vida de anaquel de productos frescos dentro de un empaque permeable. MAP reduce la velocidad de respiración y producción de etileno, retardando el ablandamiento y cambios ocurridos en el producto, creando y manteniendo una microatmósfera óptima (usualmente reduciendo el nivel de O₂ y elevando los niveles de CO₂) dentro del empaque. Una microatmósfera deseable puede ser establecida rápidamente por nivelación del espacio de cabeza del empaque con la mezcla de gas y manteniendo la atmósfera, controlando la afluencia del O₂ y CO₂ con una película permeable propiamente seleccionada. La microatmósfera también puede establecerse a una velocidad lenta, permitiendo al producto respirar dentro del empaque hasta alcanzar una atmósfera en equilibrio (Lee *et al.*, 1991).

De acuerdo con Kader (2002) las atmósferas modificadas (AM) o controladas (AC) son aquellas en las que se eliminan o añaden gases para crear una composición atmosférica alrededor del producto que difiera de aquella del aire (78.08 % de N_2 , 20.95 % de O_2 y 0.03 % de CO_2). Usualmente esto involucra la reducción de oxígeno (O_2) y/o la elevación de las concentraciones de dióxido de carbono (CO_2). Las AM y AC solamente difieren en el grado de control, la AC es más exacta.

Las atmósferas controladas y modificadas difieren sólo en el grado de control de la concentración atmosférica de los gases. Una atmósfera controlada es monitoreada y controlada con mayor precisión que la atmósfera modificada. Una atmósfera controlada es instrumental o químicamente controlada sobre una base en curso, mientras que la atmósfera modificada depende de la respiración del producto y del estado de madurez, temperatura, atmósfera, daños, cultivar y duración del almacenamiento (Berrios, 2002).

El uso de las atmósferas modificadas o controladas debe considerarse como un complemento al manejo de la temperatura y humedad relativa apropiadas. El potencial del beneficio o riesgo de las atmósferas modificadas depende del producto, cultivar o variedad, edad fisiológica, composición atmosférica, así como de la temperatura y duración del almacenamiento (Kader, 2002).

El uso de almacenamiento en atmósfera modificada (MAP) en postcosecha para la preservación de frutas y vegetales es una importante técnica para

reducir las pérdidas y mantener la calidad, el efecto de la baja temperatura de almacenamiento la incrementa considerablemente. Una alta humedad relativa en la atmósfera circundante al producto, bajo O_2 y altas concentraciones de CO_2 en el empaque pueden reducir potencialmente la velocidad de respiración, sensibilidad a etileno y producción, también el deterioro y cambios fisiológicos como la oxidación, lo cual resulta benéfico para incrementar la vida del producto (Salvador *et al.*, 2002).

Existen muchos factores que tienen que ser considerados para el diseño de una atmósfera modificada pasiva óptima: características de la película (O_2 , CO_2 , N_2 , permeabilidad del vapor al agua y superficie de área), temperatura, volumen libre dentro del empaque, peso del producto, velocidad de respiración del producto y composición inicial del gas. Cuando la tolerancia del fruto a altos niveles de CO_2 y bajas concentraciones de O_2 es determinado, la búsqueda de los parámetros óptimos de un sistema de atmósfera modificada pasiva puede ser hecha por un análisis teórico, el cual puede describir los cambios temporales en la atmósfera dentro del empaque. La temperatura es un factor muy importante en la atmósfera modificada pasiva; no sólo como un parámetro directo que puede modificar directamente la calidad del producto, sino también como un parámetro que influye en otros. Ciertamente, la permeabilidad de la película a diferentes gases y cinética de los parámetros varían con la temperatura (Salvador *et al.*, 2002).

La atmósfera óptima puede ser creada y mantenida mediante el envasado con películas plásticas, las concentraciones óptimas de oxígeno y dióxido de carbono son creadas pasivamente dentro del envase, como resultado del intercambio de gases entre la atmósfera dentro y fuera del envase y de la respiración producida por el consumo de O_2 y producción de CO_2 . La disminución en la concentración de O_2 y el incremento en la concentración de CO_2 no deben exceder un cierto límite crítico (Tano *et al.*, 1999).

Kader (2002) menciona que el uso de las atmósferas modificadas o controladas pueden tener los siguientes beneficios:

- Ocurre un retraso de la senescencia (maduración de consumo), junto con los correspondientes cambios bioquímicos y fisiológicos, esto es, velocidades más bajas de respiración y producción de etileno, ablandamiento y cambios composicionales.
- La reducción de la sensibilidad del fruto a la acción del etileno ocurre a niveles de O_2 por debajo del 8 % o de CO_2 por arriba del 1 % de sus combinaciones.
- Puede ocurrir una reducción de ciertas fisiopatías tales como el daño por frío de varios productos.
- Las atmósferas modificadas pueden afectar directa o indirectamente a los patógenos de postcosecha y, en consecuencia, la severidad e incidencia de la pudrición.
- La modificación atmosférica (menos del 1 % de O_2 ó 40 a 60 % de CO_2) puede ser un arma útil para el control de insectos en algunos productos.

De la misma manera menciona los siguientes riesgos potenciales de las atmósferas modificadas para el producto:

- La posibilidad de que se inicien o agraven ciertas fisiopatías.
- Puede ocurrir una maduración de consumo irregular de los frutos.
- Se pueden desarrollar sabores y aromas desagradables a concentraciones muy bajas de O_2 o muy altas de CO_2 como resultado de la respiración anaeróbica y del metabolismo fermentativo.
- La susceptibilidad a la pudrición puede aumentar cuando el producto es dañado fisiológicamente por concentraciones demasiado bajas de O_2 o demasiado altas de CO_2 .
- La brotación y el retardo del desarrollo del peridermo se ven estimulados en algunas hortalizas de raíz y tubérculos, tales como papas.

De acuerdo a Beaudry (1999) las respuestas a la modificación atmosférica pueden variar dramáticamente entre especies de plantas, tipo de órgano y estado de desarrollo e incluye ambas respuestas, no deseadas y fisiológicamente benéficas. Las respuestas deseables incluyen una reducción en la respiración, reducción del daño oxidativo del tejido o decoloración, reducción en la velocidad de degradación de la clorofila y reducción a la sensibilidad del etileno en la velocidad de la maduración y otros fenómenos. Asimismo entre las respuestas indeseables se incluyen la inducción de la fermentación, el desarrollo de sabores desagradables, una reducción en la biosíntesis del aroma, la inducción de daños del tejido y una alteración en la composición de la fauna microbiana.

La mejor manera de mantener la calidad de frutas y vegetales frescos es indudablemente manteniendo la cadena de frío a través del manejo postcosecha, aunque no siempre se logra una temperatura constante o se mantiene raramente. El uso del almacenamiento en atmósfera controlada no sustituye las ventajas de una temperatura óptima, puede mejorar en algunos casos los efectos de temperaturas no óptimas. En el caso particular de productos altamente perecederos como frutas y vegetales frescos cortados en atmósfera modificada pasiva, los cuales tienen relativamente una corta vida de anaquel y son muy vulnerables al abuso de la temperatura, el mantenimiento adecuado de esta cerca de los 0 °C es obligatorio para mantener la seguridad de consumo del producto (Brencht *et al.*, 2002).

En años recientes se ha incrementado el consumo de hongos frescos. Este producto tiene una corta vida de anaquel de 1-3 días a temperatura ambiente y de 8-10 días en condiciones de refrigeración; la refrigeración es esencial para mantener su calidad y seguridad. Se sabe que la cadena de frío reduce las pérdidas. Sin embargo, la distribución y venta ocurren con frecuencia a temperatura ambiente (González-Fandos *et al.*, 2000).

Los hongos (*Agaricus bisporus* L.) son uno de los productos más perecederos; usualmente su vida de anaquel es de uno a tres días a temperatura ambiente. Son muy sensibles a los niveles de humedad, altos niveles de agua favorecen el crecimiento microbiano y decoloración e inversamente, bajos niveles de agua

aventajan la pérdida de peso (y por consiguiente el valor económico) y cambios indeseables en textura (Cliffe-Byrnes y O'Beirne, 2007).

El envasado en atmósfera modificada retrasa el desarrollo y senescencia del producto y hasta puede afectar los tipos y velocidad de crecimiento de los microorganismos presentes. Diferentes películas son usadas para crear atmósferas modificadas; entre ellas el PVC es uno de los más usados comercialmente. La calidad de los hongos está definida por una combinación de parámetros, incluyendo la blancura, textura, etapa de desarrollo y cuenta microbiológica. El cambio de color es uno de los parámetros más importantes usados para evaluar la calidad de los hongos (González-Fandos *et al.*, 2000).

Tano *et al.* (1999) evaluaron los efectos de las fluctuaciones de temperatura sobre la atmósfera dentro de los empaques permitiendo la difusión al intercambio de gases y su impacto en la calidad de los hongos (*Agaricus bisporus* L.). Los autores observaron que los niveles de CO₂ dentro del empaque están sujetos a la fluctuación de la temperatura seguidos de los cambios de ésta, mientras la disminución de O₂ que acompaña al primer incremento en la temperatura disminuye igual al 1.5 % a pesar de variaciones en la temperatura a través del almacenamiento.

Sin alterar los niveles de O₂, las fluctuaciones de temperatura dan probablemente como resultado el daño irreversible a la membrana y reducción de la actividad mitocondrial. Olores desagradables, pérdida de firmeza del

tejido, e incremento del oscurecimiento enzimático pueden ocurrir a bajos niveles de O_2 (< 2 %) y altos niveles de CO_2 (>12 %) en el interior de los hongos con MAP como resultado de las fluctuaciones de temperatura (Tano *et al.*, 1999).

Villaescusa y Gil (2003) realizaron un estudio en el cual evaluaron la calidad de hongos *Pleurotus ostreatus* en almacenamiento en frío bajo varias temperaturas y atmósferas modificadas con y sin absorbentes de humedad. Sus resultados mostraron que la producción de CO_2 siguió un patrón no climatérico y fue alrededor de 0.50, 0.99 y 1.23 $\mu\text{molCO}_2 \text{ kg}^{-1}\text{s}^{-1}$ a 0, 4 y 7 °C respectivamente, después de 12 horas. Al final de 11 días de almacenamiento la velocidad de respiración fue muy similar para todas las temperaturas ($\pm 0.37 \mu\text{molCO}_2 \text{ kg}^{-1}\text{s}^{-1}$). La mejor apariencia del hongo fue encontrada a 0 °C, aunque para optimizar el almacenamiento de la atmosfera modificada (MAP) 4 °C fue seleccionada al minimizar los daños a baja temperatura.

En este estudio también encontraron que al prolongar el almacenamiento por más de siete días, las características de calidad disminuyeron claramente y los hongos no fueron comercializados, excepto los que se mantuvieron a 0 °C. Por lo tanto, 7 días fue el máximo periodo de almacenamiento para el hongo *Pleurotus*. La atmósfera modificada a 4 °C por 7 días fue creada usando películas de polipropileno microperforado (MPP1 y MPP2), polietileno de baja densidad (LDPE) y cloruro de polivinilo (PVC). La extensión de la vida de anaquel de *Pleurotus* fue alcanzada a través de la atmósfera modificada

usando bolsas de MPP2 (sistema de flujo empaque). La atmósfera modificada (15 kPa O₂ + 5 kPa CO₂) fue benéfica para mantener la calidad aceptable de *Pleurotus* por 7 días a 4 °C. Finalmente concluyeron que los hongos tienen una rápida respiración y alta perecibilidad y por lo tanto el envasado en atmósfera modificada, en adición a la baja temperatura puede beneficiar prolongando su vida de anaquel.

Ares *et al.* (2006) evaluaron la influencia de una atmósfera modificada pasiva, así como las características sensoriales y vida útil de "*Shiitake*" (*Lentinula edodes*). Los hongos fueron almacenados bajo aire atmosférico en 3 diferentes películas: polietileno de baja densidad, polipropileno y película de polipropileno macroperforado. las bolsas fueron almacenadas a 5 °C por 16 días, se determinó la velocidad de respiración, la composición del almacenamiento en atmósfera modificada y la pérdida de peso.

Los resultados obtenidos mostraron que los hongos almacenados con película de polipropileno macroperforado presentaron menor deterioro, que los almacenados bajo atmósfera modificada. Asimismo los hongos almacenados bajo aire atmosférico mostraron baja velocidad de deterioro y alta vida de anaquel. Estos resultados sugieren que concentraciones altas de CO₂ (mayores a 9 %) aceleran el deterioro de los hongos, indicando que "*Shiitake*" (*Lentinula edodes*) es más susceptible que otras especies (Ares *et al.*, 2006).

Simón *et al.* (2005) probaron el efecto de las atmósferas modificadas generadas por el uso de diferentes películas (PVC no perforado, PVC perforado, polipropilenos PP1 y PP2) para almacenamiento en la calidad de hongos frescos cortados (*Agaricus bisporus*), los cuales fueron almacenados por 13 días a 4 ± 1 °C con una humedad relativa de 85-90 %. Sus resultados mostraron que el uso de películas plásticas para almacenamiento de hongos cortados evitó atmósferas anaeróbicas, es decir, la posible producción de malos olores y el crecimiento potencial de patógenos anaeróbicos. Los cuatro tipos de películas generaron significativamente diferentes atmósferas en las concentraciones de CO₂ y O₂. Las atmósferas generadas con el PVC perforado llegaron a ser muy similares a las del aire; el PVC no perforado y PP1 generaron niveles alrededor de 2.5 %, los cuales son los recomendados para hongos. Cabe mencionar que también se evitó la pérdida de peso, color y el incremento en el endurecimiento de los hongos.

2.8.1. Almacenamiento en atmósfera modificada en base a perforaciones

Como se ha visto, el uso de perforaciones está constituyendo una modificación a la forma tradicional de implementación de atmósferas modificadas. En adición a los trabajos ya mencionados antes, hay otros cuya metodología está basada en forma específica en esta opción. Renault *et al.* (1994) evaluaron el transporte e intercambio de gases en empaques microperforados usados en almacenamiento en atmósfera modificada modelado numéricamente utilizando leyes de Stephan-Maxwell e independientemente de las perforaciones por la Ley de Fick. El modelo desarrollado consideró simultáneamente oxígeno,

dióxido de carbono, argón y vapor de agua. La respiración de frutos y vegetales fue aproximada mediante la cinética de Michaelis-Menten dependiente de la concentración de O_2 con una inhibición acompetitiva debida al dióxido de carbono.

La concentración de equilibrio fue alcanzada después de 2 a 3 días, dependiendo del volumen libre y de las propiedades de difusión del empaque, así como del número de perforaciones, su diámetro, el espesor de la película y la temperatura. Sin embargo, encontraron que si el O_2 alcanza 10 % de concentración la operación era adecuada a 10 °C, pero con 20 °C podía haber anaerobiosis, debido al incremento en la respiración del fruto.

Montanez *et al.* (2005) definieron que el almacenamiento en atmósfera modificada en base a perforaciones (PM-MAP) consiste del almacenamiento del producto fresco en un envase hermético perforado por uno o más conductos. El intercambio entre la velocidad de respiración del producto y la velocidad de intercambio de gases a través de los conductos promueve un incremento en la concentración de CO_2 y una disminución en la concentración de O_2 ; la atmósfera eventualmente termina igualándose. En este trabajo diferentes cantidades de producto y dimensiones de conductos fueron seleccionados y evaluados experimentalmente a 10 °C para el diseño de un almacenamiento en atmósfera modificada en base a perforaciones para zanahoria cortada. Las predicciones y composición experimental del gas fueron completamente diferentes y se observó anaerobiosis en casi todos los

envases; debido a esto, concluyeron que para el diseño de MAP para zanahorias cortadas es necesario tomar en consideración el efecto del tiempo de almacenamiento en relación a la velocidad de respiración.

El transporte de gas en las microperforaciones es debido simultáneamente a la difusión y convección. Las fronteras de cada microperforación, asumen ser definidas por la frontera exterior e interior de la película. Por tanto, se ignora la resistencia a la difusión de gases en el volumen del gas circundante. Esta suposición depende del radio entre el diámetro y la longitud de la microperforación (Renault *et al.*, 1994).

El uso de películas perforadas se está incrementando con la aplicación del almacenamiento en atmósfera modificada para productos frescos. Estas películas proveen una alta a muy alta velocidad de intercambio de masa. La versatilidad de los polímeros en la fabricación de diferentes empaques (número y forma, estructura flexible/rígida, transparente/opaco, etc.) es una de las principales características atractivas junto con su bajo costo, peso ligero o química inerte. Sin embargo algunos polímeros permiten en gran medida el transporte de componentes de bajo peso molecular, resultando en: (1) la permeación de oxígeno, agua, componentes del aroma de los alimentos y muchos otros gases y vapores; (2) la sorción de vapores y líquidos (retención de aromas, aceites, etc.); y (3) la migración de polímeros y aditivos (Del-Valle *et al.*, 2003).

Del-Valle *et al.* (2003) mencionaron que inicialmente estas propiedades fueron consideradas negativas, pero el nuevo concepto de almacenamiento de alimentos está relacionado directamente con el transporte de masa, especialmente el intercambio de gas o vapor entre la atmósfera externa e interna. Esto es la base del almacenamiento en atmósfera modificada para productos frescos.

2.9. Punto de Compensación Anaeróbica (PCA)

La respiración es un proceso metabólico que provee la energía a la planta para los procesos bioquímicos. Varios substratos usados en dos rutas metabólicas sintéticas en la planta son usadas durante respiración. La respiración aeróbica consiste en el rompimiento oxidativo de la reserva orgánica a moléculas más simples, incluyendo el CO_2 y el agua, con la liberación de energía. Los substratos orgánicos obtenidos en este proceso pueden incluir carbohidratos, lípidos y ácidos orgánicos (Fonseca *et al.*, 2002).

El proceso consume O_2 en una serie de reacciones enzimáticas (Fonseca *et al.*, 2002) que toman lugar en la ruta metabólica de la glicólisis, el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA) y el sistema asociado al transporte de electrones. La velocidad de la respiración está gobernada por la difusión de O_2 y CO_2 a través de los tejidos de la planta. La glicólisis, el ciclo de los ácidos tricarboxílicos y el sistema de transporte de electrones son las rutas del metabolismo de la respiración aeróbica (Lee *et al.*, 1991).

El proceso de la respiración en frutos y vegetales puede ser representado por la siguiente reacción química (Lee *et al.*, 1991):



La tolerancia de un cultivo específico a bajos niveles de O_2 y/o altos niveles de CO_2 puede ser evaluada por el comienzo de la fermentación. Los indicadores de una simple fermentación son incrementados en el RQ (el cociente entre la producción de CO_2 y la velocidad de consumo del O_2) y la producción de etanol. Existe una relación lineal entre la concentración de etanol y el RQ (Beaudry, 1993; Joles *et al.*, 1994); la respiración puede ser detectada por el cambio en el incremento del RQ asociado con la síntesis de acetaldehído, etanol y CO_2 . De la misma manera Beaudry (1999) menciona que el O_2 y CO_2 son biológicamente moléculas activas de importancia en procesos metabólicos primarios y secundarios en plantas.

El cociente respiratorio (RQ) va de un rango de 0.7 a 1.3 dependiendo del sustrato metabólico y este es afectado por las condiciones de atmósfera modificada (por ejemplo reducción de O_2 y elevado CO_2) (Lee *et al.*, 1991); bajo concentraciones aerobias de O_2 el RQ sigue siendo relativamente constante. Como los niveles de O_2 disminuyen, la fermentación es inducida y el RQ se incrementa, debido a una mayor producción de CO_2 con muy poco o ningún consumo de O_2 . La más baja concentración de O_2 alrededor del producto que no induce la fermentación puede ser expresada como el límite de O_2 externo

más bajo (LOL), el O_2 en el punto de rompimiento RQ, el punto de compensación anaeróbica (ACP), la inducción del punto de fermentación anaeróbica o umbral de fermentación (Boersig *et al.*, 1988; Beaudry *et al.*, 1992; Talasalia *et al.*, 1994; Brencht *et al.*, 2002).

Diferentes especies tienen diferentes tolerancias a elevado CO_2 y esto puede influenciar su límite crítico de O_2 en almacenamiento en AC (Brencht *et al.*, 2002). El punto de extinción (EP) fue definido por Boersig *et al.* (1988) como la concentración más baja de O_2 a la cual la producción de alcohol cesa; fue un concepto útil en la interpretación temprana del efecto Pasteur en frutos. Sin embargo se sabe que el etanol es ahora un constituyente normal de muchas frutas bajo condiciones aeróbicas. Por tanto, propusieron un concepto alternativo, el Punto de Compensación Anaeróbica (ACP), definido como la concentración de O_2 a la cual la evolución de CO_2 es mínima.

El nivel de O_2 en el cual la fermentación comienza y el etanol tiende a acumularse fue nombrado Punto Pasteur, pero más recientemente ha sido denominado como el límite de oxígeno más bajo o punto de inducción fermentativa (FIP) (Petracek *et al.*, 2002).

Raj y Paul (2007) utilizaron la teoría de la cinética enzimática para realizar predicciones aproximadas de la velocidad de respiración de hongos bajo atmósfera modificada. Este enfoque fue seguido para evaluar la velocidad de respiración de los hongos "botón" empacados en películas de polietileno de

baja densidad (LDPE), polipropileno (PP) y polipropileno orientado (OPP) a una temperatura de 15 °C y 75 % de humedad relativa, por un periodo de almacenamiento de 96 h. Cuando la velocidad de la respiración cayo dramáticamente en la película de LDPE y PP, llegaron a niveles constantes (115 y 110 mL kg⁻¹h⁻¹ para el consumo de O₂ y evolución del CO₂, respectivamente), en la película de OPP después de 36 h, indicando la condición de equilibrio gaseoso en este empaque.

En esta investigación concluyeron que este enfoque puede ser usado fácilmente en la predicción de la velocidad de la respiración de algunos productos empacados bajo condiciones dinámicas de atmósfera modificada.

2.10. Producción de metabolitos anaerobios: acetaldehído y etanol

Durante la maduración del fruto en el árbol y después de la cosecha algunos procesos esenciales involucran la producción de los metabolitos anaerobios, acetaldehído y etanol. Estos procesos incluyen de producción de volátiles del aroma y remoción de la astringencia del fruto. Acetaldehído, un componente natural del aroma, está presente en casi todos los frutos; este se acumula durante la maduración bajo condiciones aeróbicas, pero es mucho mayor, parcial o totalmente en condiciones anaeróbicas. Parcialmente en condiciones anaeróbicas, con frecuencia ocurre durante la maduración del fruto y bajo condiciones de almacenamiento, por ejemplo, a través de la cubierta con ceras u otras películas, o en atmósfera modificada y atmósferas controladas (Pesis, 2005).

De acuerdo a Pesis (2005) un requerimiento de metabolitos anaerobios en la maduración normal provee la indicación inicial de que la aplicación de tales metabolitos anaerobios puede ser benéfica para postcosecha en calidad de frutos. En algunos frutos encontró que la aplicación de etanol o acetaldehído solo puede afectar la maduración del fruto, por ejemplo, en higos (induce la maduración), plátano y persimonia (remueve la astringencia) y uva (incrementa las antocianinas). En el periodo postcosecha los metabolitos anaerobios pueden ser aplicados para inducir la producción de volátiles y mejorar el aroma del fruto.

En adición a lo anterior, ha sido encontrado que acetaldehído tiene un efecto fungicida y actividad insecticida. Acetaldehído y etanol han mostrado ser capaces de retardar la senescencia e inhibir la producción de etileno en plantas, teniendo menos síntomas de daños por frío en varios frutos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal

Se utilizó huitlacoche fresco proveniente de la región de Ixmiquilpan, Hidalgo, colectado en mazorca entera. El mismo día de la colecta se trasladó al lugar de la investigación, en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo, donde se separaron manualmente y en forma cuidadosa las agallas, las cuales fueron la presentación utilizada en la experimentación (Figura 2).



Figura 2. Mazorca de huitlacoche entero y huitlacoche desgranado.

3.2. Organización experimental de la investigación

Se realizaron dos fases de experimentación. En la primera se exploró el efecto de la intensidad de microperforado sobre las concentraciones de O_2 y CO_2 instaladas dentro de un envase de plástico de polietileno de baja densidad que contuvo lotes de 150 g de agallas de huitlacoche. En la segunda fase se evaluó

el efecto de la intensidad de microperforado sobre la vida de anaquel de agallas de huitlacoche. Ambas fases se realizaron a 20 y 3 °C.

3.3. Fase uno de investigación. Evaluación del efecto del microperforado sobre las condiciones de operación

3.3.1. Desarrollo experimental. Se formaron unidades experimentales en bolsas de polietileno de baja densidad (PBD) con 150 g de material vegetal desgranado (agallas de huitlacoche) con la finalidad de medir las concentraciones de O₂ y CO₂ en el interior del envase a 3 °C por un periodo de 24 h y a 20 °C durante 12 h. Los tratamientos consistieron de bolsa intacta y bolsa con 2, 5, 10 y 20 microperforaciones, las cuales se hicieron con un alfiler de 0.015 mm de diámetro. Dentro de cada unidad de envase se colocaron tubos de 4 mL (Vacutainer ®) abiertos, junto con sus tapones, los cuales se fueron cerrando en forma manual a intervalos de 1 h (Figura 3). Cada tratamiento se aplicó por triplicado y la unidad experimental fue una bolsa con 150 g de producto.



Figura 3. Unidades experimentales en la cámara a 20 °C.

Al término del periodo establecido para cada condición térmica, el contenido de los tubos se analizó mediante cromatografía de gases y se construyeron gráficas de cinética de cambio de concentración de O₂ y CO₂ con el tiempo, cuyos datos se sometieron a rutinas de regresión no lineal para ajustarlos a modelos con la forma de la Ecuación (1):

$$y = y_0 + a[1 - \exp(-bt)] \quad (1)$$

donde y es la concentración (%) de O₂ o CO₂ dentro del envase plástico a un tiempo t (h), y_0 es la concentración inicial (%) de estos gases y a (%) y b (h⁻¹) son constantes características. De acuerdo con Valle-Guadarrama *et al.* (2002) la suma de los parámetros y_0 y a corresponde a la asíntota de la curva que representa la cinética y por tanto proporciona la concentración de O₂ y CO₂ que se instala dentro del envase, la cual se ha denotado como y_x en el presente trabajo.

3.3.2. Análisis de datos. Las variables respuesta de esta fase fueron las concentraciones instaladas de O₂ y CO₂, las cuales se sometieron a un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias (Tukey, 0.05) mediante el programa SAS (SAS Institute, 1989). Esta fase se analizó como un diseño completamente al azar con cinco tratamientos aplicados por triplicado.

3.4. Fase dos de investigación. Evaluación del efecto del microperforado sobre la vida de anaquel de huitlacoche

3.4.1. Desarrollo experimental. Se formaron 270 lotes de 150 g de agallas de huitlacoche, los cuales se repartieron en dos grupos, para asignar uno a la condición térmica de 20 °C y el otro a la de 3 °C. En cada condición térmica se envasaron 45 lotes en bolsas intactas de PBD, otros 45 en bolsas con cinco microperforaciones y los 45 restantes se dejaron sin envasar expuestos a la condición de aire normal. Las unidades se colocaron en cuartos de temperatura controlada en forma respectiva a 20 y 3 °C (Figura 4). En esta organización se consideró como unidad experimental un lote de 150 g, envasado en bolsa plástica o dejado expuesto a la condición de aire normal.



Figura 4. Unidades experimentales en la cámara de 20 y 3 °C.

El día de instalación del experimento se consideró como día cero. Al día 2, de cada ambiente se retiraron tres unidades experimentales de cada tratamiento. Como en cada ambiente había tres tratamientos se retiraron 18 unidades experimentales. En cada unidad se registraron los niveles de O₂ y CO₂ en el

interior de los empaques o en el ambiente inmediato y, al material biológico se le sometió a evaluación de respiración, peso, color, firmeza, pH y contenido de metabolitos anaerobios (acetaldehído y etanol). Este mismo procedimiento se repitió a los 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y 30 d después de iniciado el almacenamiento.

3.4.2. Análisis de datos. En esta fase se tuvieron tres fuentes de variación: la temperatura, con dos niveles (20 y 3 °C), el tipo de envase, con tres niveles (aire natural, bolsa intacta y bolsa con cinco microperforaciones) y el tiempo, con 15 niveles o estaciones de muestreo. Como tal, el experimento se analizó como un diseño factorial 2x3x15 alojado en un diseño completamente al azar con tratamientos por triplicado. Se realizaron un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias mediante el estadístico de Tukey, todo mediante el programa SAS (SAS Institute, 1989).

3.5. Evaluación de variables respuesta

3.5.1. Respiración. Se midió por un método estático (Mendoza-Wilson y Báez-Sañudo, 2000). La unidad experimental se colocó en el interior de un recipiente cerrado de paredes impermeables con volumen de 1.8 L por una hora. La acumulación de CO₂ evaluada en el espacio de cabeza del recipiente al final de este periodo, junto con la masa del producto y el volumen libre, sirvió como base para cuantificar el intercambio del gas (mL kg⁻¹ h⁻¹) entre el producto y el ambiente, lo que se consideró como una medida de la actividad respiratoria.

Debe apuntarse que la medición se realizó inmediatamente después de la apertura del envase plástico.



Figura 5. Unidades experimentales para la toma de muestra en la medición de respiración por el método estático.

3.5.2. Pérdida de peso. Se utilizó una balanza digital portátil (Ohaus, USA). Se calculó el porcentaje acumulado de peso respecto al peso al inicio del almacenamiento, mediante la Ecuación (2), donde %PP fue la pérdida de peso (%), P_i el peso inicial y P_f el peso al momento de la evaluación.

$$\%PP = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \quad (2)$$

3.5.3. Color. Se utilizó un colorímetro Hunter Lab modelo Mini Scan XE Plus No. 45/0-L, usando la escala CIEL*a*b* realizando lecturas sobre la superficie externa de las agallas de huitlacoche. Se calculó el ángulo de tono o matiz (Hue) mediante la expresión $(\tan^{-1} b^* / a^*)$, la pureza de color o cromaticidad $(\sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2})$ y el valor de L^* se tomó como luminosidad (Hutchings, 1999).

3.5.4. Firmeza. Se midió en una muestra de cuatro agallas tomadas al azar de cada unidad experimental y fue expresada, en Newtons (N), como el promedio de las cuatro determinaciones. Se utilizó un analizador de textura (Stable Micro Systems, UK, Modelo TA-xT2i) (Figura 6) con un elemento cónico de punta redondeada de 2.6 cm de diámetro y ángulo de 75° y mediante una rutina de penetrometría, con una distancia de penetración de 5 mm y velocidad de ensayo 5 mm s⁻¹.

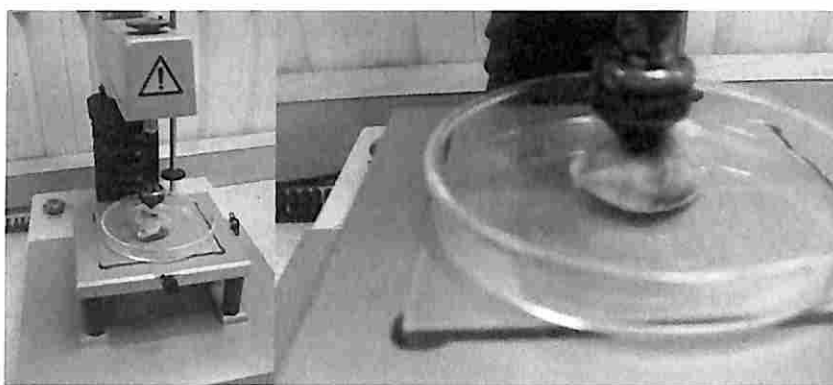


Figura 6. Medición de la firmeza en agallas de huitlacoche.

3.5.5. pH. Se midió con un potenciómetro portátil (Hanna Instruments, USA) en dos agallas de huitlacoche tomadas al azar de cada unidad experimental y maceradas con 15 mL de agua destilada.

3.5.6. Contenido de acetaldehído y etanol. Se utilizó una adaptación del método del espacio de cabeza propuesto por Davis y Chase (1969). Se tomaron muestras de 15 g de huitlacoche las cuales se colocaron en viales de 37 mL y se incubaron a 60 °C por una hora. Se evaluó la concentración de acetaldehído y etanol en el espacio de cabeza de los viales y la producción de cada metabolito fue expresada en $\mu\text{mol } 100\text{mL}^{-1}$. Finalmente las producciones

molares fueron sumadas y los resultados se expresaron como producción de metabolitos anaerobios ($\mu\text{mol } 100\text{mL}^{-1}$).

3.5.7. Medición de concentraciones. El oxígeno, dióxido de carbono, acetaldehído y etanol se determinaron en un cromatógrafo de gases (Varian modelo 3400, USA) con columna capilar Chrompack[®] tipo poraplot Q, detector de conductividad térmica (TCD) y detector por ionización de flama (FID). Para O_2 y CO_2 las condiciones fueron 80 °C, 150 °C y 170 °C en la columna, inyector y detectores respectivamente. Las muestras se tomaron e inyectaron con una jeringa de vidrio (Hamilton[®]) en alícuotas de 100 μL . Para metabolitos anaerobios las condiciones fueron 160 °C, 170 °C y 170 °C en la columna, inyector y detectores respectivamente y, en este caso, las muestras fueron alícuotas de 500 μL .

Como auxilio a la determinación se usó, en el caso de O_2 un estándar primario con 2.01 % de concentración (Praxair de México, S.A. de C.V.). Para CO_2 se construyó una curva tipo diluyendo CO_2 de alta pureza (99.8 %; Praxair de México S.A. de C.V.) en volúmenes medidos de aire, para formar mezclas con 0.03, 2.93, 5.66, 8.24, 10.69, 11.86, 13.01, 15.21, 17.30, 19.29, 20.25, 21.19 y 23.00 %. Para los casos de acetaldehído y etanol se prepararon curvas tipo a partir de mezclas preparadas con concentraciones de estos compuestos y agua destilada de 0.20, 0.40, 0.60, 0.80 y 1 $\text{mg } 100\text{mL}^{-1}$.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Fase uno de investigación. Evaluación del efecto de microperforado sobre las condiciones de operación

En el interior de los envases plásticos con y sin perforaciones las concentraciones de O_2 se modificaron con el tiempo (Figuras 7 y 8), lo cual fue más notorio a 20 °C que a 3 °C. En todos los casos de la condición de 20 °C los cambios de concentración ocurrieron con una tendencia no lineal, independientemente del número de perforaciones en el empaque, específicamente en forma congruente con un modelo logarítmico, por lo cual fue adecuado el manejo de los datos mediante la Ecuación (1) (Cuadro 2 y Figura 7). Las unidades experimentales fueron atmósferas modificadas pasivas, por lo que las concentraciones de O_2 y CO_2 en el interior de los envases plásticos variaron a lo largo del periodo de 12 h que duró la evaluación. En contraste, para la condición de 3 °C, que se condujo por 24 h, este comportamiento logarítmico sólo fue evidente en los casos de bolsa intacta y bolsa con dos y cinco perforaciones, pero con 10 y 20 perforaciones no se registro variación importante, lo cual enmascaró la tendencia mencionada (Cuadro 2 y Figura 8).

El Cuadro 3 muestra los resultados del proceso de comparación de medias de las concentraciones instaladas de O_2 y CO_2 , considerando los dos factores de variación (temperatura y número de perforaciones). En ambas especies

gaseosas la temperatura afectó en forma significativa ($P \leq 0.05$) las concentraciones instaladas para todos los niveles de perforado.

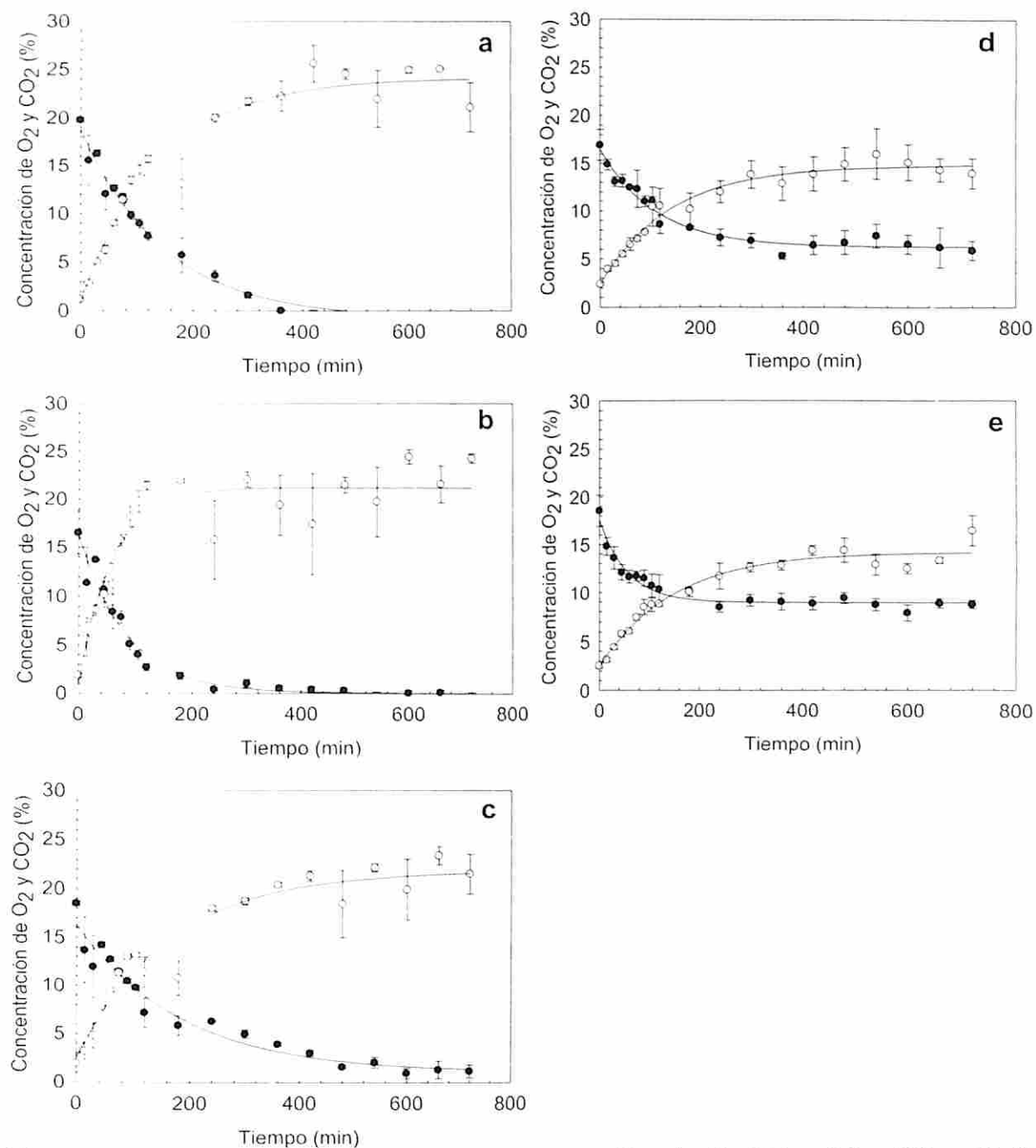


Figura 7. Cinética de cambio en la concentración de O_2 (●) y CO_2 (○) a 20 °C en bolsa de polietileno de baja densidad intacta (a), dos microperforaciones (b), cinco microperforaciones (c), diez microperforaciones (d) y veinte microperforaciones (e). Los símbolos puntuales representan la media de tres repeticiones, las barras indican el error estándar correspondiente y las líneas el ajuste de los mismos utilizando un procedimiento de regresión no lineal.

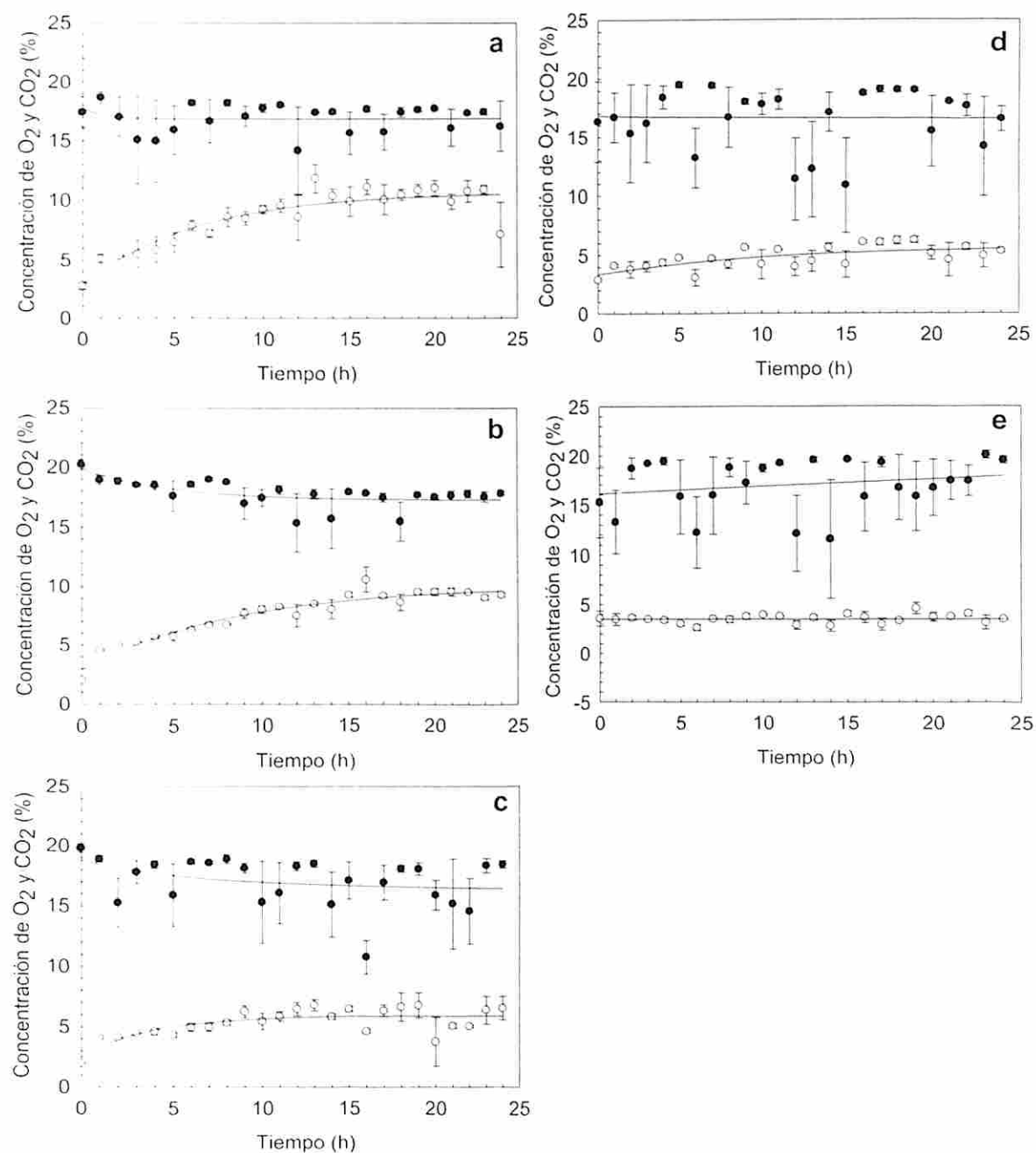


Figura 8. Cinética de cambio en la concentración de O_2 (●) y CO_2 (○) a 3 °C en bolsa de polietileno de baja densidad intacta (a), dos microperforaciones (b), cinco microperforaciones (c), diez microperforaciones (d) y veinte microperforaciones (e). Los símbolos puntuales representan la media de tres repeticiones, las barras indican el error estándar correspondiente y las líneas el ajuste de los mismos utilizando un procedimiento de regresión no lineal.

Cuadro 2. Constantes de regresión asociadas a la Ecuación (1) para la representación de la variación de O₂ y CO₂ a 20 °C y 3 °C en el interior de las bolsas de polietileno de baja densidad con 150 g de agallas de huitlacoche.

Tratamiento	$Y_{O_2}^o$ (%)	a_o (%)	b_o (h ⁻¹)	R_o^2	$Y_{CO_2}^o$ (%)	a_c (%)	b_c (h ⁻¹)	R_c^2
20 °C								
0	18.8877	-19.6026	0.0068	0.9538	0.8624	23.2178	0.0073	0.9092
2	16.4485	-16.4350	0.0118	0.8831	0.9434	20.2775	0.0171	0.7131
5	16.3852	-15.3039	0.0055	0.8634	2.4831	19.2729	0.0063	0.8654
10	16.5498	-10.2765	0.0091	0.8115	2.4262	12.4780	0.0070	0.7872
20	17.5938	-8.6478	0.0174	0.7736	2.4423	11.7874	0.0067	0.8986
3 °C								
0	17.8388	-0.9724	0.9001	0.0063	3.0350	7.6137	0.1601	0.6064
2	19.9116	-2.6566	0.2083	0.1819	2.9476	7.1098	0.1181	0.8558
5	18.8157	-2.4154	0.1492	0.0474	2.5020	3.3655	0.2840	0.3431
10	16.8167	-0.4048	0.0705	0.0006	3.3877	2.2869	0.0949	0.2347
20	16.6795	-0.0742	0.0062	0.0189	3.3876	-0.0020	0.0006	0.0191

*Número de perforaciones en bolsa de polietileno de baja densidad.

Cuadro 3. Comparación de medias de concentraciones instaladas de O₂ y CO₂ en los envases de AM afectadas por temperatura y número de perforaciones.

Factor T	Factor Envase (número de perforaciones)					[†] DSH
	0	2	5	10	20	
<u>Oxígeno</u>						
20 °C	0	0	1.08	6.27	8.94	2.60
	(B) (c)	(B) (c)	(B) (b)	(B) (a)	(B) (a)	
3 °C	16.86	17.25	16.40	16.40	16.60	1.50
	(A)(a)	(A) (a)	(A) (a)	(A) (a)	(A) (a)	
[†] DSH			1.4			
[‡] C.V. (%)			32.02			
<u>Dióxido de carbono</u>						
20 °C	24.08	21.22	21.75	14.9	14.22	3.27
	(A)(a)	(A) (a)	(A) (a)	(A) (b)	(A) (b)	
3 °C	10.62	10.05	5.86	5.67	3.38	0.80
	(B) (a)	(B) (a)	(B) (b)	(B) (b)	(B) (c)	
[†] DSH			1.47			
[‡] C.V. (%)			47.84			
Interacción TxEnvase			Significativa para ambos gases			

[†]C.V. Coeficiente de variación (%); [†]DSH. Diferencia significativa honesta (Tukey; 0.05). Letras mayúsculas iguales significan diferencia no significativa entre valores de una misma columna y letras minúsculas iguales indican diferencia no significativa entre valores de una misma hilera (Tukey, 0.05).

Así, a 20 °C las concentraciones alcanzadas fueron menores para O₂ y mayores para CO₂, en comparación con la condición de 3 °C, lo que indicó que los procesos metabólicos ocurrieron más lentamente a la temperatura más baja. Por otro lado, el efecto del número de perforaciones fue distinto en las dos temperaturas y por esto el análisis estadístico reportó interacción significativa ($P \leq 0.05$) entre los dos factores temperatura y número de perforaciones (Cuadro 3). Este comportamiento fue congruente con lo señalado por Renault *et al.* (1994), respecto a que el equilibrio de las concentraciones es dependiente del número de perforaciones y de la temperatura, y de acuerdo con estos autores, también afecta el diámetro de las perforaciones y el espesor de la película. En el mismo sentido, Fonseca *et al.* (2002) señalaron que la temperatura es considerada el factor externo que afecta de manera más importante la actividad respiratoria y por tal razón la refrigeración constituye la estrategia más importante en la conservación de productos hortofrutícolas (Do Nascimento y Emond, 2003).

En el caso de 20 °C, dentro del tratamiento de bolsa intacta (Figura 7a) la caída de oxígeno se dio a las 7 h llegando a niveles de 0 %, es decir, que hubo una rápida reducción de O₂ y acumulación de CO₂ en el interior. Esto mismo ocurrió en el caso de bolsas con dos microperforaciones (Figura 7b), donde el O₂ resultó también totalmente depurado. Estos hechos sugirieron que ninguno de estos esquemas constituye una alternativa aceptable debido a que, ante la falta de O₂, la provisión de energía para las distintas actividades metabólicas provendría de un mecanismo fermentativo (Taiz y Zeiger, 1998), cuyos

productos principales, acetaldehído y etanol, pueden resultar perjudiciales al tejido (Podd y Van Staden, 1998).

Para los envases con 5, 10 y 20 microperforaciones (Figuras 7c, 7d y 7e respectivamente) los niveles promedio de O_2 alcanzados fueron 1.17 %, 5.90 % y 8.77%, en promedio, respectivamente, lo cual sugiere que el número de perforaciones permitió un control de la concentración instalada del gas en el interior de los envases. Es importante reconocer que los niveles extremadamente bajos de O_2 o excesivamente altos de CO_2 pueden inducir fermentación, lo cual puede resultar en la generación de malos sabores o daño visible a los tejidos. Según Rodríguez-Félix *et al.* (2005), la atmósfera óptima para un producto determinado es aquella que reduce al mínimo la actividad respiratoria y los procesos de deterioro e incrementa al máximo la vida de anaquel. Al respecto, para frutos de aguacate 'Hass' Valle-Guadarrama *et al.* (2004) mostraron que un manejo apenas por arriba de la tolerancia de O_2 es recomendable para minimizar tanto la actividad respiratoria como el eventual desarrollo fermentativo que puede desarrollarse por la exposición a baja disponibilidad de este gas.

Cliffe-Byrnes y O'Beirne (2007), señalaron que los hongos pueden soportar niveles muy bajos de O_2 sin llegar a la anaerobiosis, además de que algunas setas toleran concentraciones hasta de 50 % de CO_2 conservando aún buenas características organolépticas. Para el caso de setas estos autores señalaron que pueden usarse valores mínimos de 1 % de O_2 y de 15 % para CO_2 como

máximo. Por esta razón y con apoyo de las sugerencias de Valle-Guadarrama *et al.* (2004) para frutos de aguacate 'Hass', para la condición de 20 °C se consideró adecuado probar un manejo en bolsa con cinco perforaciones con la cual, aunque la concentración de O₂ fue cercana al límite sugerido por Cliffe-Byrnes y O'Beirne (2007) se espera minimizar la actividad respiratoria, lo cual puede maximizar la vida útil en postcosecha del hongo.

En la condición de 3 °C la concentración de O₂ instalada en todos los tratamientos resultó cercana a la del ambiente y la de CO₂ fue de 10.62, 10.05, 5.86, 5.67 y 3.48 % para bolsa intacta, 2, 5, 10 y 20 microperforaciones, respectivamente (Cuadro 3). Está documentado que durante el desarrollo de una atmósfera modificada se desarrollan dos interacciones, una entre el interior del tejido y el ambiente dentro del envase y la otra entre este último y el ambiente externo (Rodríguez-Félix *et al.*, 2005), y que cuando se igualan las velocidades correspondientes a las que ocurren estas interacciones, las concentraciones dentro del envase se hacen constantes, lo que se reconoce como una condición de régimen estacionario (Cameron *et al.*, 1995). Es evidente que, con baja temperatura, las velocidades mencionadas resultaron iguales cuando la concentración de O₂ no había disminuido en forma importante y la de CO₂ se había instalado en valores moderados. Por esta razón se concluyó que, para la condición de 3 °C, la mejor alternativa es el envasado de huitlacoche en forma intacta, en la cual sería conveniente, incluso, explorar alguna estrategia para limitar más la permeabilidad a gases del plástico de envase, con objeto de conseguir un abatimiento mayor en la concentración de

O₂ y conseguir con ello un mayor abatimiento de la actividad fisiológica para maximizar el alargamiento de la vida útil, lo cual constituye el objetivo de la atmósfera modificada.

4.2. Fase dos de investigación. Efecto del microperforado sobre la vida de anaquel del huitlacoche

Con base a los resultados de la primera fase experimental se instaló un experimento para explorar, a 20 y 3 °C, el efecto de un manejo en atmósfera modificada (AM) sobre el comportamiento postcosecha del huitlacoche. Para ello se usaron como tratamientos manejo en aire normal (AN) y manejo en AM con dos modalidades: bolsa intacta (B0) y bolsa con cinco perforaciones (B5), con unidades experimentales de 150 g de agallas de hongo.

4.2.1. Calidad de la cosecha. Los atributos de color de las agallas usadas en el experimento tuvieron valores de 54.42 % (± 1.95) en luminosidad, 87.13° (± 0.72) en ángulo de tono y 6.92 (± 0.37) en cromaticidad. Estos datos indican que el material tenía una tonalidad amarillo pálida, con pureza de color baja, y los valores fueron congruentes con los reportados por Martínez-Flores *et al.* (2008). Por otro lado se encontraron valores de firmeza de 5.56 (± 0.33) N y un pH de 4.28 (± 0.11). Si se considera que un fruto de aguacate 'Hass' presenta a la cosecha firmeza de pulpa superior a los 30 N y en madurez de consumo esta variable varía entre 1 y 5 N (Valle-Guadarrama *et al.*, 2002), se desprende por comparación que el huitlacoche es un material de firmeza relativamente baja. Después de un periodo de temperización de 3 h, la actividad respiratoria fue de

26.89 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a 3 °C y de 75.73 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a 20 °C. Estos valores contrastaron con los de Martínez-Flores *et al.* (2008), quienes reportaron que a 3 °C la actividad respiratoria del huitlacoche desgranado fue de 164 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ y que a 20 °C fue superior a 350 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ y se cree que la diferencia en la actividad respiratoria podría deberse a una diferencia en el estado de desarrollo del hongo, pero una explicación más clara podría obtenerse sólo con más trabajo experimental al respecto.

4.2.2. Concentraciones de O₂ y CO₂ instaladas en envases y ambiente

El Cuadro 4 muestra el análisis de varianza realizado para las concentraciones instaladas de O₂ y CO₂ en el ambiente inmediato al hongo durante la fase experimental. Se encontró un efecto significativo ($P \leq 0.05$) causado tanto por la temperatura, como por el tipo de envase y el tiempo de almacenamiento, aunque en este último caso las variaciones no permitieron identificar una tendencia clara. A la condición de 3 °C la concentración de O₂ se instaló a un valor mayor en relación con la de 20 °C. En el caso de CO₂, la situación fue inversa y los mayores valores resultaron presentes en la temperatura más alta. En cuanto al tipo de envase, a las dos temperaturas el O₂ en bolsa intacta resultó significativamente menor ($P \leq 0.05$) que en bolsa perforada y en éste fue menor que en la condición de aire y, al igual al caso de la temperatura, el CO₂ presentó también diferencias significativas con un comportamiento inverso.

Sin embargo, se encontró interacción significativa entre los factores evaluados, cuya estructura se presenta desglosada por medio de la Figura 9. En ésta se

muestra la variación de O₂ y CO₂ en el ambiente AN y en el interior de los envases plásticos de los tratamientos B0 y B5, a las dos condiciones térmicas. De acuerdo con Tano *et al.* (1999), la creación y mantenimiento de una mezcla gaseosa óptima dentro de un almacenamiento en AM depende de la velocidad de respiración del producto, de la permeabilidad de la película al oxígeno y dióxido de carbono, los cuales son afectados directamente por la temperatura, por lo cual se consideró normal la interacción entre factores encontrada en el presente trabajo.

Cuadro 4. Comparación de medias entre niveles de los factores de variación de O₂ y CO₂ en el ambiente inmediato al hongo huitlacoche durante la fase experimental de AM.

Factor T	Factor envase			[†] DSH
	AN	B5	B0	
		<u>Oxígeno</u>		
20 °C	19.05	1.65	0	1.03
	(A) (a)	(B) (b)	(B) (c)	
3 °C	20.31	16.08	8.00	1.19
	(A) (a)	(A) (b)	(A) (c)	
[†] DSH		0.89		
[‡] C.V. (%)		16.9		
		<u>Dióxido de carbono</u>		
20 °C	0.43	21.45	21.87	2.40
	(A) (b)	(A) (a)	(A) (a)	
3 °C	0.37	5.65	12.04	1.28
	(A) (c)	(B) (b)	(B) (a)	
[†] DSH		1.12		
[‡] C.V. (%)		31.42		
Interacción TxEnvase		Significativa para ambos gases		

[‡]C.V. Coeficiente de variación (%); [†]DSH. Diferencia significativa honesta (Tukey; 0.05). Letras mayúsculas iguales significan diferencia no significativa entre valores de una misma columna y letras minúsculas iguales indican diferencia no significativa entre valores de una misma hilera (Tukey, 0.05).

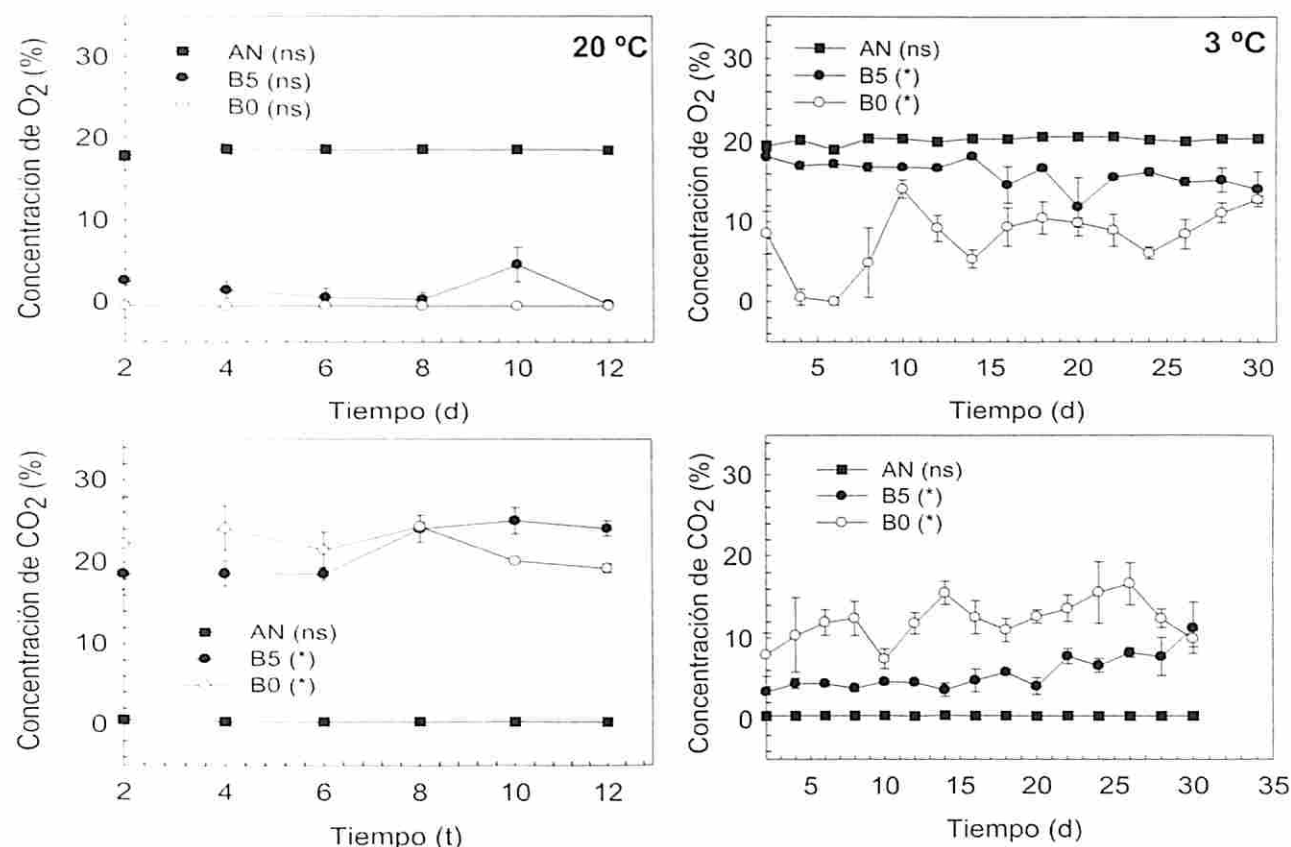


Figura 9. Cinética de cambio en la concentración de O₂ y CO₂ en aire normal (AN), bolsa perforada (B5) y bolsa de polietileno de baja densidad intacta (B0) a 20 °C y 3 °C. Significativa (DSH; 0.05); ns no significativo. Cada valor representa la media de tres repeticiones y las barras indican el error estándar correspondiente.

El comportamiento de la concentración de O₂ a 20 °C fue distinto entre tratamientos. En la bolsa intacta (B0) este gas se agotó desde una etapa muy temprana del experimento y registraron valores de 0 % durante todo el almacenamiento. Por su parte, en la bolsa con cinco perforaciones (B5) el gas se mantuvo en un rango de 0.5 a 3.0 % con un valor promedio de 1.7 %, en tanto que en aire normal (AN) el registro varió en un rango de 19 a 20 %. Este comportamiento fue congruente con la fase uno de investigación del presente trabajo, desde la cual se vio que a 20 °C la condición de bolsa intacta impone

una resistencia muy grande para el ingreso del O_2 e impide una mínima provisión del gas acorde con el requerimiento del producto para realizar la actividad metabólica. La situación se ha tipificado como uno de los principales riesgos del manejo de productos en AM. Pues con mucha frecuencia las características de permeabilidad del plástico de envase propician reducciones excesivas en la concentración de O_2 que resulta instalada en el interior y se ha señalado que el diseño de la AM debe ser tal que evite dicho riesgo (Cameron *et al.*, 1995; Kader y Salveit, 2003; Valle-Guadarrama *et al.*, 2005). Por otro lado, los resultados hallados para la bolsa con cinco perforaciones muestran que precisamente el perforado constituye una estrategia viable para conseguirlo, como lo apuntaron Cliffe-Birnes y O' Beirne (2007) y como se demostró en el presente trabajo donde el O_2 , aunque se instaló en concentración baja, se mantuvo aproximadamente constante y nunca se agotó completamente. Al respecto, se ha apuntado que una mínima concentración de oxígeno de 1 a 2 % (dependiendo de la concentración de CO_2) ha sido sugerida para prevenir la fermentación en hongos (López-Briones *et al.*, 1992).

Para el caso de CO_2 los tratamientos de bolsa intacta y bolsa perforada propiciaron concentraciones promedio de 21.87 % y 21.45 %, respectivamente, sin diferencia significativa entre ellas. Sin embargo, si hubo diferencia respecto a la condición de aire normal, donde el CO_2 se mantuvo en valores incipientes (0.43 % en promedio). De acuerdo con Cameron *et al.* (1995) y Raj y Paul (2007) el polietileno de baja densidad exhibe una permeabilidad a CO_2 mayor que a O_2 .

Debido a esto se cree que la película permitió mayor intercambio de CO_2 que de O_2 a través de sus paredes y, por tal razón, el comportamiento con bolsa intacta y con bolsa perforada resultó semejante para CO_2 y distinto para O_2 . Sin embargo, en una AM resulta más importante el control del O_2 que del CO_2 , debido a que si el primero se abate más allá de la tolerancia del producto se puede inducir actividad fermentativa cuyos productos pueden ser nocivos al tejido (Podd y Van Staden, 1998).

En el caso de 3 °C hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$). En el tratamiento de bolsa intacta (B0) el promedio de O_2 llegó a aproximadamente 8 %, en tanto que en el tratamiento de bolsa perforada (B5) el valor promedio alcanzado fue de 16.08 % y en el de aire (AN) la concentración fue similar a la del ambiente. Respecto a los niveles de CO_2 las diferencias entre tratamientos también fueron significativas, pues en bolsa intacta el nivel promedio fue de 12.04 %, con cinco microperforaciones llegó a 5.65 % y al ambiente los niveles fueron relativamente bajos al mantenerse en 0.37 % durante un periodo de 30 días.

Fue evidente que el contraste entre tratamientos hallado para la condición de 20 °C no resultó igual para la condición de 3 °C, por lo cual el análisis estadístico reportó interacción entre factores. Debido a esto, es que la recomendación para temperatura alta puede resultar distinta que para la temperatura de refrigeración, tal cual se apuntó al final de los resultados de la fase uno, donde, en forma congruente con la segunda fase, se puede recomendar para 20 °C el uso de bolsa con cinco perforaciones, pero a 3°C puede resultar mejor el uso de

bolsa intacta. Sin embargo, la confirmación de estas sugerencias se tendrá que confirmar con base en el análisis de otras variedades fisiológicas.

4.2.3. Tasa respiratoria

El Cuadro 5 muestra los resultados del análisis estadístico realizado para la variable respiración y en la Figura 10 se desglosa el cambio que ocurrió en esta variable al interior de cada tratamiento a lo largo del tiempo.

Cuadro 5. Comparación de medias entre niveles de los factores de variación de concentración de CO₂ en las unidades experimentales de huitlacoche en AM.

Factor T	Factor envase			[†] DSH
	AN	B5	B0	
	Respiración (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)			
20 °C	55.26 (A) (c)	80.11 (A) (a)	68.13 (A) (a)	7.03
3 °C	21.72 (B) (c)	26.10 (B) (b)	33.95 (B) (a)	2.42
[†] DSH		2.67		
[†] C.V. (%)		16.76		
Interacción TxEnvase		Significativa		

[†]C.V. Coeficiente de variación (%); [†]DSH. Diferencia significativa honesta (Tukey; 0.05). Letras mayúsculas iguales significan diferencia no significativa entre valores de una misma columna y letras minúsculas iguales indican diferencia no significativa entre valores de una misma hilera (Tukey, 0.05).

En los tres tratamientos se encontró un efecto significativo de la condición térmica y a 3 °C se tuvo la menor actividad respiratoria en todos los casos. Por otro lado, a 20 °C la mayor actividad respiratoria se encontró en los materiales embolsados, sin diferencia entre éstos, y la menor en la condición de aire. Por su parte, a 3 °C los materiales manejados en bolsa intacta (B0) fueron los de mayor respiración, seguidos por los manejados en bolsa con cinco perforaciones (B5) y finalmente los de más baja actividad respiratoria fueron los

manejados en aire normal (AN) (Cuadro 5). Esta variación entre los comportamientos a 20 y a 3 °C causó que el análisis estadístico reportara interacción significativa entre los factores de temperatura y tipo de envase. Al igual a como ocurrió con los datos de la caracterización inicial, los resultados de esta fase contrastaron de manera importante con los reportados por Martínez-Flores *et al.* (2008), quienes encontraron actividad respiratoria a temperatura ambiente del orden de 372.80 mL CO₂ kg⁻¹h⁻¹ para 20 °C y de 164.10 mL CO₂ kg⁻¹h⁻¹ para 3 °C, lo cual se ha tomado como evidencia de que el huitlacoche puede tener alta variabilidad en su comportamiento fisiológico y justifica que se realicen más trabajos que permitan identificar en forma más clara los factores que lo causan.

El tercer factor de variación fue el tiempo de almacenamiento, cuyo efecto se describe por medio de la Figura 10. En la condición de 20 °C hubo una disminución significativa en la respiración con el tiempo de almacenamiento bajo los tres tratamientos, lo cual puede ser atribuido al deterioro del hongo. En contraste, en la condición de 3 °C la actividad de todos los materiales se mantuvo en niveles aproximadamente constantes, pero siempre con mayores valores en la bolsa intacta, valores intermedios en la bolsa perforada y valores menores en aire normal. Estos contrastes en el comportamiento entre niveles de temperatura explicaron la razón de una interacción significativa entre los factores tiempo y temperatura, pues en tanto la respiración de los materiales a 20 °C variaron con el tiempo, en los de 3 °C la actividad se mantuvo en valores aproximadamente constantes.

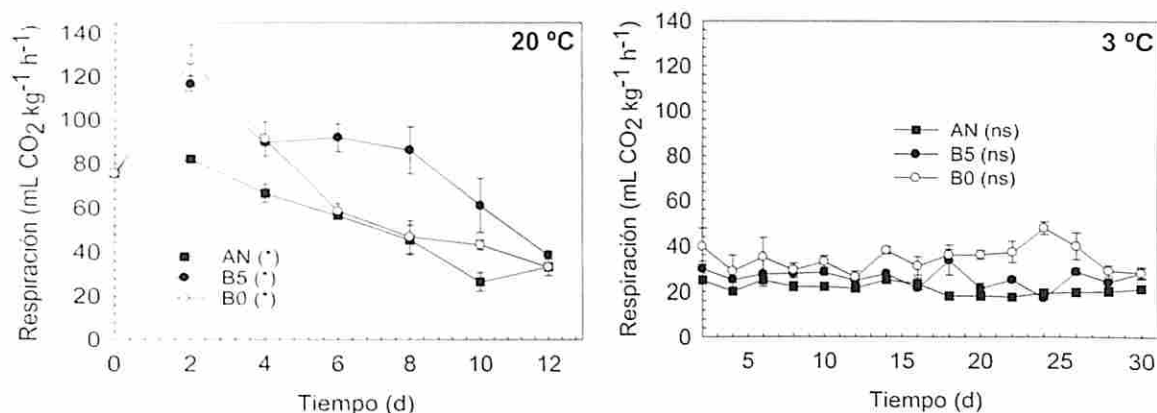


Figura 10. Velocidad de respiración (expresada como velocidad de producción de CO_2) en aire normal (AN), bolsa perforada (B5) y bolsa intacta (B0) a 20 °C y 3 °C. Significativa (DSH; 0.05); ns no significativo. Cada valor representa la media de tres repeticiones y las barras indican el error estándar correspondiente.

Esta bien documentado que la exposición de frutas y hortalizas a ambientes con bajo O_2 y elevado CO_2 causa la reducción de la actividad respiratoria de estos productos (Kader y Salveit, 2003). Sin embargo, los resultados del presente trabajo muestran una aparente contradicción a este planteamiento, pues los materiales manejados en atmósfera modificada registraron mayor actividad respiratoria que los frutos mantenidos en aire.

Un resultado similar, pero con atmósferas controladas con O_2 en concentración de 5 % y CO_2 a 5 y 10 %, además de exposición a aire como testigo, fue encontrado en frutos de litchi por Valle-Guadarrama *et al.* (2008), donde la respiración encontrada exactamente al término de tratamientos fue mayor en cuanto mayor fue el CO_2 del ambiente. Estos autores explicaron que durante la exposición de los frutos a elevadas concentraciones de CO_2 el gas difunde hacia el interior del tejido y se instala con concentración cercana a la ambiental,

estableciendo un equilibrio cuya concentración depende del nivel de CO_2 externo. Al transferir a atmósfera normal (aire), la concentración a nivel de tejido transita a una nueva condición de equilibrio mediante liberación de CO_2 , lo que explica la mayor velocidad de evolución de este gas en el hongo de huitlacoche expuesto a atmósferas modificadas en comparación con el hongo manejado en aire normal. También sobre este aspecto se ha documentado que lo que se reconoce como actividad respiratoria consiste de manera estricta en un proceso de intercambio gaseoso entre el tejido del producto y el ambiente externo, inducido por un gradiente de concentración entre ambas regiones (Valle-Guadarrama *et al.*, 2002).

4.2.4. Producción de metabolitos anaerobios: etanol y acetaldehído

El Cuadro 6 y la Figura 11 muestran las producciones de acetaldehído y etanol acumulado en el tejido de las agallas de huitlacoche de los distintos tratamientos. Se encontró que el primero se acumuló en cantidades pequeñas en relación al segundo, de tal forma que en la cuenta total de metabolitos de la anaerobiosis del huitlacoche el etanol fue el más representativo. Si se considera la ruta de la fermentación alcohólica, se encontrará que el proceso ocurre en una secuencia donde el piruvato se convierte en acetaldehído mediante la participación de la enzima piruvato descarboxilasa (PDC) y luego este compuesto intermedio se transforma en etanol mediante la acción de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) y la oxidación de NADH (Taiz y Zeiger, 1998). Si en este proceso no hay suficiente NADH para reducir todo el acetaldehído en etanol el resultado será una acumulación del compuesto intermedio (Tano *et al.*,

1999). Dado que las cantidades de acetaldehído encontradas fueron pequeñas en relación con las de etanol, se deduce que tal situación no ocurrió.

Cuadro 6. Comparación de medias entre los niveles de producción de acetaldehído y etanol (acetaldehído y etanol) en las unidades experimentales de huitlacoche durante la fase experimental de AM.

Factor T	Factor envase			[†] DSH
	AN	B5	B0	
<u>Acetaldehído (μmol 100mL⁻¹)</u>				
20 °C	3.83 (B) (b)	14.09 (A) (b)	214.05 (A) (a)	54.03
3 °C	8.80 (A) (b)	10.73 (B) (a)	11.98 (B) (a)	1.84
[†] DSH			15.03	
[‡] C.V. (%)			120.21	
<u>Etanol (μmol 100mL⁻¹)</u>				
20 °C	161.5 (A) (b)	164.4 (A) (b)	2116.9 (A) (a)	333.06
3 °C	43.67 (B) (c)	96.47 (B) (b)	175.03 (B) (a)	37.98
[†] DSH			96.20	
[‡] C.V. (%)			73.98	
Interacción TxEnvase	Significativa para ambos compuestos			

[‡]C.V. Coeficiente de variación (%); [†]DSH. Diferencia significativa honesta (Tukey; 0.05). Letras mayúsculas iguales significan diferencia no significativa entre valores de una misma columna y letras minúsculas iguales indican diferencia no significativa entre valores de una misma hilera (Tukey, 0.05).

Ahora bien, el principal mecanismo productor de NADH es el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA) y en una condición aeróbica este compuesto se canaliza hacia la cadena terminal respiratoria para la producción de ATP (Taiz y Zeiger, 1998), sin embargo, en condición de bajo O₂, la rápida conversión de acetaldehído a etanol en hongo huitlacoche sugiere que este paso constituye un sumidero de NADH, lo cual podría también sugerir que en condición anaeróbica el TCA no resulta inhabilitado.

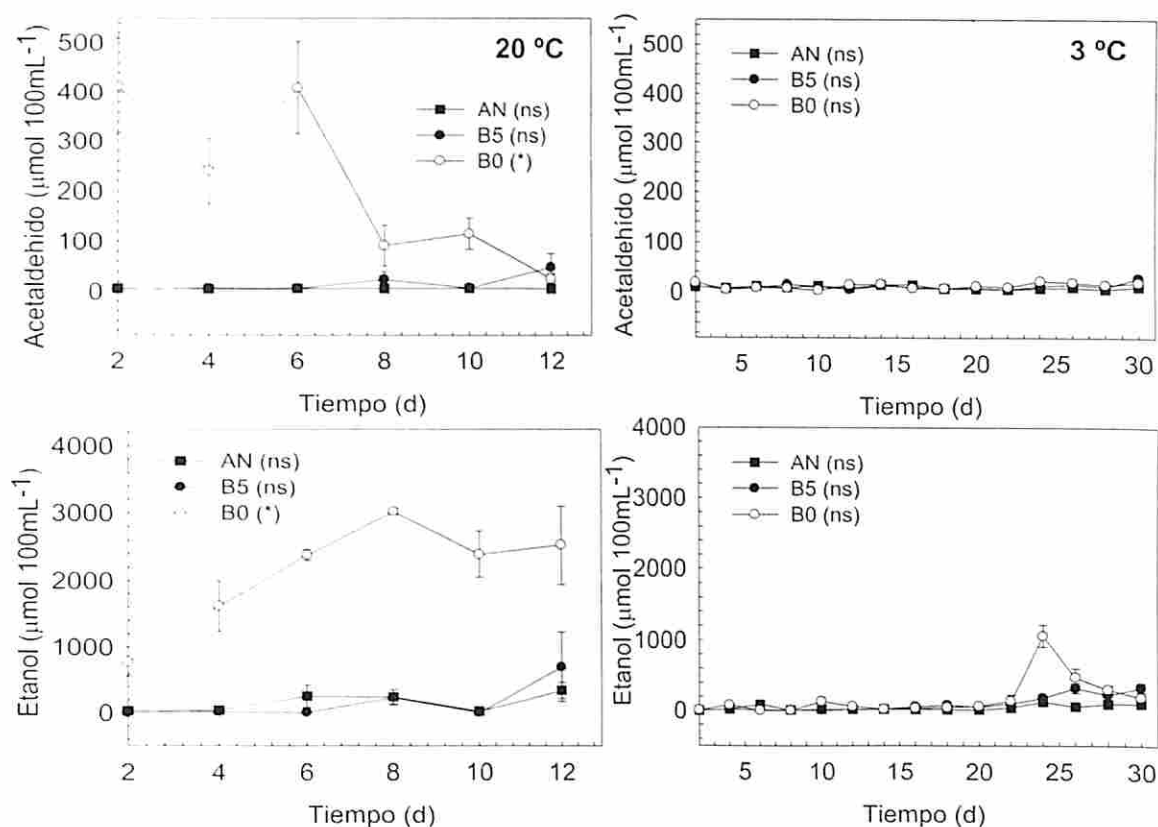


Figura 11. Producción de metabolitos anaerobios (acetaldehído y etanol) en huitlacoche almacenado en aire normal (AN), bolsa perforada (B5) y bolsa intacta (B0) a 20 °C y 3 °C. *Significativa (DSH; 0.05); ns no significativo. Cada valor representa la media de tres repeticiones y las barras indican el error estándar correspondiente.

Cuadro 7. Comparación de medias entre niveles de los factores de variación de producción de metabolitos anaerobios (acetaldehído y etanol) en las unidades experimentales de huitlacoche durante la fase experimental de AM.

Factor T	Factor envase			[†] DSH
	AN	B5	B0	
	Metabolitos anaerobios ($\mu\text{mol } 100\text{mL}^{-1}$)			
20 °C	165.30	178.50	2331.00	49.29
	(A) (a)	(A) (b)	(A) (a)	
3 °C	52.48	107.20	187.01	38.72
	(B) (c)	(B) (b)	(B) (b)	
[†] DSH			103.2	
[†] C.V.(%)			72.27	
Interacción TxEnvase			Significativa	

[†]C.V. Coeficiente de variación (%); [†]DSH. Diferencia significativa honesta (Tukey; 0.05). Letras mayúsculas iguales significan diferencia no significativa entre valores de una misma columna y letras minúsculas iguales indican diferencia no significativa entre valores de una misma hilera (Tukey, 0.05).

En términos prácticos, en una AM no resulta relevante si uno u otro de los compuestos de la anaerobiosis se desarrollan en mayor cantidad, sino de qué magnitud fue el proceso fermentativo derivado de la baja disponibilidad de O_2 . Por esto en el presente trabajo se tomó en cuenta la estequiometría de las reacciones de esta ruta bioquímica y las producciones de ambos compuestos se sumaron y se expresaron como metabolitos anaerobios en general, en la forma como lo describen el Cuadro 7 y la Figura 12.

^a Se encontró que en las dos temperaturas el tratamiento B0 (bolsa intacta) causó la mayor producción de metabolitos anaerobios. En la comparación de los otros dos tratamientos (B5 y AN), a 20 °C no presentaron diferencia significativa, pero a 3 °C la bolsa perforada causó mayor fermentación. Por otro lado, el análisis estadístico reportó interacción significativa entre los factores temperatura y tipo de envase, la cual se pudo explicar con los mismos datos del Cuadro 7 y de la Figura 12, pues la magnitud de la diferencia entre el tratamiento B0 y los otros dos (B5 y AN) tuvo un contraste importante de una temperatura a otra. Así, a 20 °C este tratamiento tuvo un desarrollo fermentativo muy importante a 20 °C en relación a los otros dos, pero a 3 °C la presencia de metabolitos anaerobios tuvo el mismo orden de magnitud en los tres tratamientos, no obstante que el análisis estadístico señaló diferencia significativa. Aunado a esto, cabe mencionar que según Tano *et al.* (1999), la presencia de CO_2 en altas concentraciones puede tener un papel en la inducción de la respiración anaeróbica y la producción de etanol y que el efecto

tanto de las bajas concentraciones de O_2 , como de las altas concentraciones de CO_2 en la inducción de la respiración anaeróbica son aditivas.

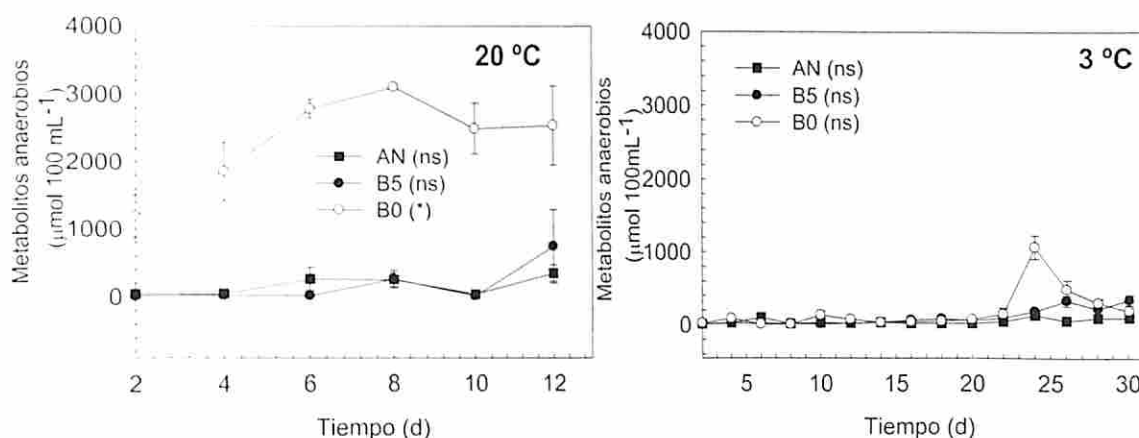


Figura 12. Producción de metabolitos anaerobios en huitlacoche almacenado en aire normal (AN), bolsa perforada (B5) y bolsa intacta (B0) a 20 °C y 3 °C. Significativa (DSH; 0.05); ns no significativo. Cada valor representa la media de tres repeticiones y las barras indican el error estándar correspondiente.

Estos resultados fueron congruentes con la presencia de O_2 y CO_2 en el entorno inmediato del hongo pues a 20 °C en el tratamiento B0 el O_2 se agotó completamente y las cantidades de etanol y acetaldehído halladas resultaron de una actividad metabólica fermentativa realizada por el producto como único medio de generación de energía. En el mismo sentido, la mayor producción de CO_2 fue resultado de este mismo hecho, pues está demostrado que cuando un producto cambia de un metabolismo oxidativo a uno fermentativo, la producción de CO_2 se eleva en forma desmedida (Boersig *et al.*, 1988; Valle-Guadarrama *et al.*, 2004). En contraste, en el resto de los tratamientos la condición fue evidentemente aeróbica y entre ellos la concentración más baja de O_2 fue de 8 % y ocurrió en el tratamiento de bolsa intacta a 3 °C. Estos hechos sugieren que la presencia de metabolitos anaerobios, con excepción del caso de bolsa

intacta a 20 °C, fue el resultado de una actividad combinada de los metabolismos aeróbico y anaeróbico.

Esta situación de presencia de metabolitos anaerobios en condiciones evidentemente aeróbicas se ha reportado antes para frutos de litchi (Pesis *et al.*, 2002; Valle-Guadarrama *et al.*, 2008) y para aguacate (Valle-Guadarrama *et al.*, 2004) y la ocurrencia ahora en hongo huitlacoche sugiere que puede ser una situación general para muchos productos. De hecho Valle-Guadarrama *et al.* (2005) sugirieron que al interior de un producto puede haber simultáneamente regiones aeróbicas y anaeróbicas y Pesis *et al.* (2002) postularon, para litchi, que el fruto recurre a ambos mecanismos para conseguir una provisión energética adecuada.

Por otro lado, el grado de metabolismo anaeróbico tuvo un efecto negativo en la calidad del producto almacenado a 20 °C dado que solo conservó sus atributos de calidad durante 12 d, a diferencia del de 3 °C que tuvo un periodo de almacenamiento de 30 d. Se cree que la acumulación de CO₂, acetaldehído y etanol, que son percibidos como malos sabores, aceleraron el rompimiento del tejido y los procesos debidos al deterioro postcosecha, en la forma como lo señaló Cliffe-Byrnes y O' Beirne (2007).

4.2.5. Pérdida de peso

Los porcentajes de pérdida de peso presentaron diferencias significativas entre el tratamiento al aire normal (29.38 %), comparado con el de bolsa intacta (3.59

%) y el de bolsa perforada (2.93 %) a 20 °C (Cuadro 8), sin diferencia entre éstos últimos. En todos los casos hubo efecto significativo del tiempo en relación a la pérdida de peso (Figura 13) y, asimismo, el análisis estadístico reportó interacción significativa entre el factor temperatura y el factor tipo de envase.

De acuerdo con Martínez-Flores *et al.* (2008), la pérdida de peso del huitlacoche desgranado y conservado a temperatura ambiente es mayor y ocurre a velocidad alta, alcanzando hasta un 80 % a los siete días a 20 °C, en contraste con un almacenamiento a 3 °C, en el que la pérdida fue del 20 %, por lo que puede notarse claramente el beneficio obtenido con refrigeración. En la presente investigación el huitlacoche con tratamiento de aire normal a 20 °C alcanzó el 50 % de pérdida de peso a los 12 días, en tanto que cuando se maneja a 3 °C este porcentaje de pérdida se alcanzó sólo después de 20 días.

Cuadro 8. Comparación de medias entre niveles de los factores de variación de porcentaje de pérdida de peso en las unidades experimentales de huitlacoche durante la fase experimental de AM.

Factor T	Factor envase			[†] DSH
	AN	B5	B0	
		<u>Pérdida de peso (%)</u>		
20 °C	29.38 (B) (a)	2.93 (A) (b)	3.59 (B) (a)	1.94
3 °C	38.68 (A) (a)	3.85 (A) (c)	5.62 (A) (b)	0.53
[†] DSH		0.68		
[†] C.V.(%)		11.50		
Interacción TxEnvase		Significativa		

[†]C.V. Coeficiente de variación (%); [†]DSH. Diferencia significativa honesta (Tukey; 0.05). Letras mayúsculas iguales significan diferencia no significativa entre valores de una misma columna y letras minúsculas iguales indican diferencia no significativa entre valores de una misma hilera (Tukey, 0.05).

Por otro lado, en los tratamientos con bolsa intacta y perforada el porcentaje perdido fue de 5.49 % y 5.51 % a 20 °C respectivamente y de 13.36 % y 9.07 % a 3 °C respectivamente, al final del almacenamiento. Según Villaescusa y Gil (2003), es común que en muchos productos ocurran pérdidas entre 3 y 6 % de peso fresco, aunque en el caso de hongos resulta aceptable una pérdida de solo 2 %. Al igual a como ocurre con una diversidad de productos, la pérdida de peso en hongos es causada principalmente por la transpiración de agua y la velocidad a la que esto ocurre se afecta por temperatura y la humedad relativa dentro del envase, lo que a su vez depende de la velocidad de transmisión de vapor de agua de la película (Simón *et al.*, 2005).

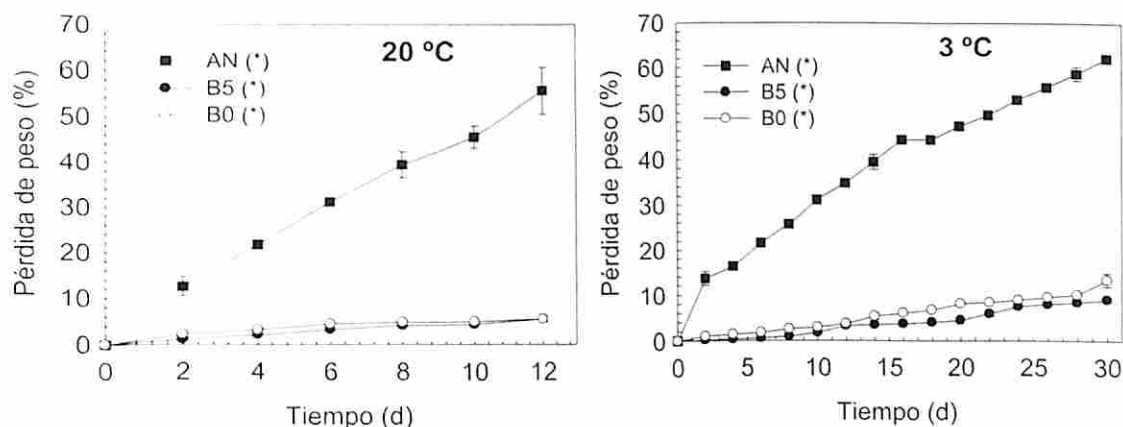


Figura 13. Pérdida de peso de huitlacoche almacenado en aire normal (AN), bolsa perforada (B5) y bolsa intacta (B0) a 20 °C y 3 °C. * Significativa (DSH; 0.05); ns no significativo. Cada valor representa la media de tres repeticiones y las barras indican el error estándar correspondiente.

4.2.6. Color

La variación en los factores de temperatura y tipo de envase no tuvieron un efecto consistente sobre los atributos de color de las agallas de huitlacoche (Cuadro 9). Sin embargo, el análisis estadístico reportó interacción significativa

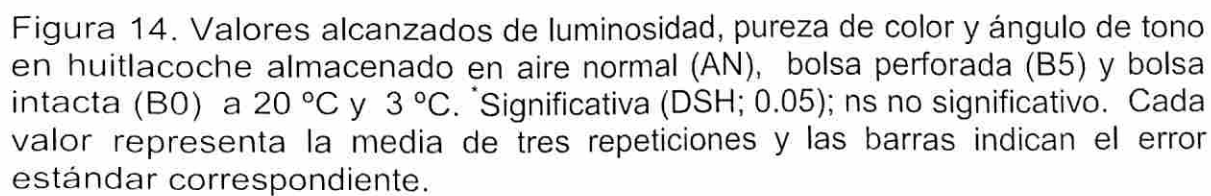
entre los dos factores, la cual se puede desglosar con apoyo de la Figura 14 que describe los cambios en función del tiempo.

Al inicio el huitlacoche registró luminosidad promedio de 54.42 % y durante el experimento se produjo, a la condición de 20 °C, una pérdida gradual de la luminosidad en todos los casos, pero la velocidad a la que esto ocurrió fue significativamente menor en el tratamiento de bolsa perforada (B5) en relación a los casos de aire normal (AN) y de bolsa intacta (B0), sin diferencia entre éstos últimos (Cuadro 9).

Cuadro 9. Comparación de medias entre niveles de los factores de variación de la intensidad de color en las unidades experimentales de huitlacoche durante la fase experimental de AM.

Factor T	Factor envase			†DSH
	AN	B5	B0	
<u>Luminosidad</u>				
20 °C	33.98	43.69	37.47	3.68
	(B) (b)	(A) (a)	(A) (b)	
3 °C	42.68	39.06	39.23	2.85
	(A) (a)	(B) (b)	(A) (b)	
†DSH			2.25	
†C.V.(%)			14.07	
<u>Pureza de color</u>				
20 °C	5.97	6.76	7.18	1.06
	(B) (b)	(A) (a)	(A) (a)	
3 °C	6.17	5.65	5.39	0.51
	(A) (a)	(A) (b)	(B) (b)	
†DSH			0.47	
†C.V.(%)			19.6	
<u>Ángulo de tono</u>				
20 °C	77.02	81.38	77.89	1.54
	(B) (b)	(A) (a)	(B) (b)	
3 °C	83.70	80.93	81.93	1.27
	(A) (a)	(A) (a)	(A) (b)	
†DSH			0.99	
†C.V.(%)			3.04	
Interacción TxEnvase			Significativa	

[†]C.V. Coeficiente de variación (%); [†]DSH. Diferencia significativa honesta (Tukey; 0.05). Letras mayúsculas iguales significan diferencia no significativa entre valores de una misma columna y letras minúsculas iguales indican diferencia no significativa entre valores de una misma hilera (Tukey, 0.05).



68

material manejado en aire natural registró un valor aún significativamente más bajo, alrededor de 14 % (Figura 14). Estos valores fueron similares a los de Martínez-Flores *et al.* (2008), quienes reportaron que la disminución de la brillantez indicaba un oscurecimiento. Estos autores también indicaron que a temperatura ambiente sólo fue posible determinar la luminosidad por un periodo de 11 días, debido a la avanzada alteración de las muestras, las cuales presentaban deshidratación, rompimiento de agallas y exposición de micelio.

En el caso del ángulo de tono ocurrió una situación similar y, partiendo de valores promedio de 87° se produjo una disminución de la tonalidad, con velocidad semejante en los tratamientos de aire normal y bolsa intacta y velocidad significativamente menor a la de éstos en el tratamiento de bolsa perforada (Figura 14). En el caso de la cromaticidad o pureza de color ocurrió también una pérdida de esta propiedad, sin diferencia significativa entre tratamientos y valores promedio de 7.18, 6.76 y 5.97° para bolsa intacta, perforada y aire normal (Figura 14).

Los resultados a 3 °C (Cuadro 9) indicaron que el mayor porcentaje de luminosidad alcanzado se dio en el tratamiento al aire normal (42.68 %) y entre los tratamientos con bolsa intacta (39.23 %) y bolsa perforada (39.06 %) no existió diferencia significativa. De acuerdo con Martínez-Flores *et al.* (2008) la refrigeración retarda la pérdida de luminosidad de forma significativa y tras probar condiciones de 20, 10 y 3 °C, estos autores concluyeron que la mejor

temperatura fue la más baja, con la cual observaron a los 11 días la mayor luminosidad.

En el Cuadro 9 se observa que el ángulo de tono fue mayor en el tratamiento al aire normal (83.70°), a diferencia de los tratamientos con bolsa intacta y perforada (81.93 y 80.93° respectivamente) en los que no hubo diferencias significativas. Por otro lado, la pureza de color tuvo valores promedio de 6.17 , 5.65 y 5.39° para tratamiento al aire normal, bolsa perforada e intacta respectivamente, sin diferencia significativa entre estos dos últimos. En relación a estos parámetros los resultados obtenidos fueron similares a los del trabajo de Martínez-Flores *et al.* (2008), donde mencionan que el ángulo de tono se mantuvo alrededor de los 90° y que la pureza de color se mantuvo sin cambios importantes, por lo que la luminosidad puede ser considerada el parámetro más importante para explicar el cambio de color en huitlacoche.

Es común que el huitlacoche sea consumido en forma de antojito mexicano combinado con tortilla y algunos otros ingredientes como salsa. En esta presentación es común observar el producto con coloración prácticamente negra y es durante el manejo en postcosecha cuando ocurre esta transición en los atributos de color. Al respecto, Martínez-Flores *et al.* (2008) señalaron que dicha coloración es sintomática de deterioro del producto junto con otras características como deshidratado de las agallas.

temperatura fue la más baja, con la cual observaron a los 11 días la mayor luminosidad.

En el Cuadro 9 se observa que el ángulo de tono fue mayor en el tratamiento al aire normal (83.70°), a diferencia de los tratamientos con bolsa intacta y perforada (81.93 y 80.93° respectivamente) en los que no hubo diferencias significativas. Por otro lado, la pureza de color tuvo valores promedio de 6.17 , 5.65 y 5.39° para tratamiento al aire normal, bolsa perforada e intacta respectivamente, sin diferencia significativa entre estos dos últimos. En relación a estos parámetros los resultados obtenidos fueron similares a los del trabajo de Martínez-Flores *et al.* (2008), donde mencionan que el ángulo de tono se mantuvo alrededor de los 90° y que la pureza de color se mantuvo sin cambios importantes, por lo que la luminosidad puede ser considerada el parámetro más importante para explicar el cambio de color en huitlacoche.

Es común que el huitlacoche sea consumido en forma de antojito mexicano combinado con tortilla y algunos otros ingredientes como salsa. En esta presentación es común observar el producto con coloración prácticamente negra y es durante el manejo en postcosecha cuando ocurre esta transición en los atributos de color. Al respecto, Martínez-Flores *et al.* (2008) señalaron que dicha coloración es sintomática de deterioro del producto junto con otras características como deshidratado de las agallas.

La pérdida gradual de luminosidad de huitlacoche en ambas temperaturas (3 y 20 °C) podría ser atribuida a la senescencia de los tejidos y al oscurecimiento enzimático que está asociado con frecuencia con el daño en la membrana celular en el tejido exterior, el cual es un cambio atribuido a altas concentraciones de CO₂. Algunas veces la integridad de la membrana es pérdida, los componentes fenólicos normalmente presentes en compartimentos celulares son expuestos a O₂ y oxidados por la actividad catalizadora de la polifenol oxidasa liberada por la degradación de la membrana (Tano *et al.*, 2007).

4.2.7. Firmeza

La firmeza de las agallas de huitlacoche se redujo en forma significativa en ambas temperaturas (Figura 15). Esta documentado que la firmeza de productos hortofrutícolas es un parámetro que depende del tiempo y que cambia durante la vida postcosecha. En el caso de frutos, el ablandamiento es un evento característico de la maduración, pero la pérdida de firmeza es un fenómeno que continúa durante la senescencia, como resultado de la degradación de la pared celular (Tucker, 1993; Smith *et al.*, 2003).

En la condición de 20 °C, los cambios más rápidos de firmeza ocurrieron en el tratamiento de aire normal (AN) y los más lentos en materiales embolsados. En promedio, estos últimos tuvieron los valores mayores y los menores se hallaron en el tratamiento AN. Sin embargo, a 3 °C, la velocidad de ablandamiento fue semejante en los tres tratamientos, aunque el tratamiento de bolsa perforada

mantuvo en promedio los mayores valores (Cuadro 10). Así, el envase perforado propició valores promedio de firmeza de 3.35 N, siendo este valor distinto significativamente al material del tratamiento con bolsa intacta (2.68 N) y al del material manejado en aire normal (2.62 N), entre los cuales no hubo diferencia estadística (Cuadro 10)

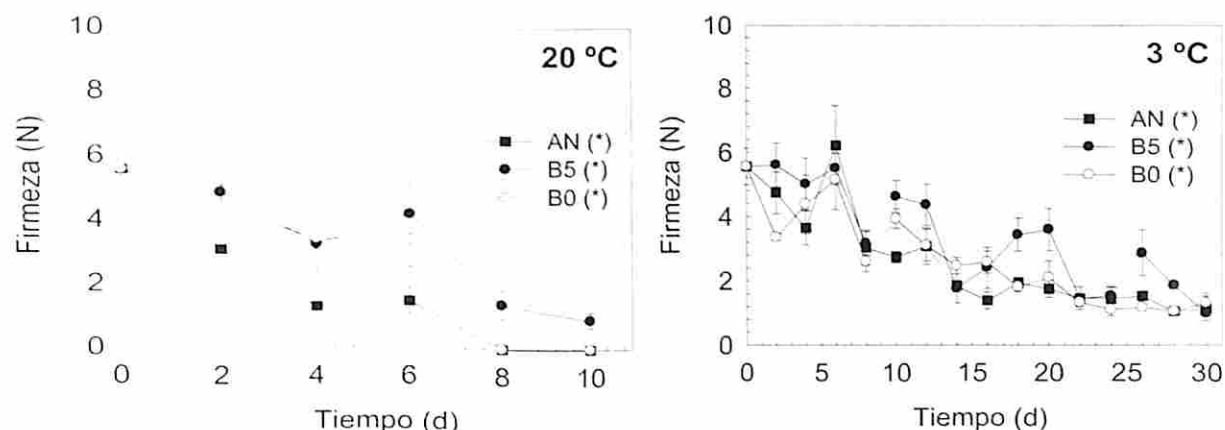


Figura 15. Variación de la firmeza (N) en huitlacoche almacenado a 20 °C y a 3 °C. Significativa (DSH; 0.05); ns no significativo. Cada valor representa la media de cuatro agallas tomadas al azar por tratamiento y las barras indican el error estándar correspondiente. Letras distintas indican diferencias significativas con $\alpha = 0.05$.

La velocidad de ablandamiento fue mayor a la condición de 20 °C que a la de 3 °C, lo que pudo deberse al mayor metabolismo del huitlacoche a la condición térmica más alta. El efecto de la temperatura, el tipo de tratamiento y el tiempo de almacenamiento estuvieron directamente correlacionados. Cabe mencionar que a 3 °C se conservó mejor la firmeza del hongo y por un tiempo de almacenamiento mayor, pero en ambas condiciones el microperforado resultó ser el mejor tratamiento.

Cuadro 10. Comparación de medias entre niveles de los factores de variación de firmeza en las unidades experimentales de huitlacoche durante la fase experimental de AM.

Factor T	Factor envase			[†] DSH
	AN	B5	B0	
		Firmeza (N)		
20 °C	1.91 (B) (b)	3.37 (A) (a)	2.80 (A) (a)	0.71
3 °C	2.62 (A) (b)	3.35 (A) (a)	2.68 (A) (b)	0.41
[†] DSH		0.35		
[†] C.V.(%)		30.36		
Interacción TxEnvase		Significativa		

[†]C.V. Coeficiente de variación (%); [†]DSH. Diferencia significativa honesta (Tukey; 0.05). Letras mayúsculas iguales significan diferencia no significativa entre valores de una misma columna y letras minúsculas iguales indican diferencia no significativa entre valores de una misma hilera (Tukey, 0.05).

4.2.8. pH

El comportamiento del pH fue distinto entre tratamientos. A 20 °C se registraron los menores valores de pH en el tratamiento de bolsa intacta, los cuales variaron entre 4.28 y 3.56 y fueron significativamente distintos a los del tratamiento de bolsa perforada y del tratamiento de aire natural, que variaron entre 4.28-4.04 y 4.28-7.28, respectivamente. Fue notorio que entre las unidades de bolsa perforada y las de aire natural no hubo diferencia significativa durante los primeros 10 días de almacenamiento (Cuadro 11), pero a partir de ese momento el pH se elevó en el tratamiento de aire natural (Figura 16).

A 3 °C el tratamiento al ambiente tuvo valores promedio de 4.28-3.81 siendo significativamente diferente a los tratamientos de bolsa intacta (pH entre 4.28 y 3.01) y bolsa con cinco microperforaciones (pH entre 4.28 y 3.03) y entre estos últimos (Figura 16).

Cuadro 11. Comparación de medias entre los niveles de los factores de variación de pH en las unidades experimentales de huitlacoche durante la fase experimental de AM.

Factor T	Factor envase			[†] DSH
	AN	B5	B0	
	<u>pH</u>			
20 °C	4.91	4.44	3.68	0.42
	(A) (a)	(A) (b)	(A) (c)	
3 °C	4.16	3.78	3.93	0.21
	(A) (a)	(B) (b)	(A) (b)	
[†] DSH		0.19		
[†] C.V.(%)		11.69		
Interacción TxEnvase		Significativa		

[†]C.V. Coeficiente de variación (%); [†]DSH. Diferencia significativa honesta (Tukey; 0.05). Letras mayúsculas iguales significan diferencia no significativa entre valores de una misma columna y letras minúsculas iguales indican diferencia no significativa entre valores de una misma hilera (Tukey, 0.05).

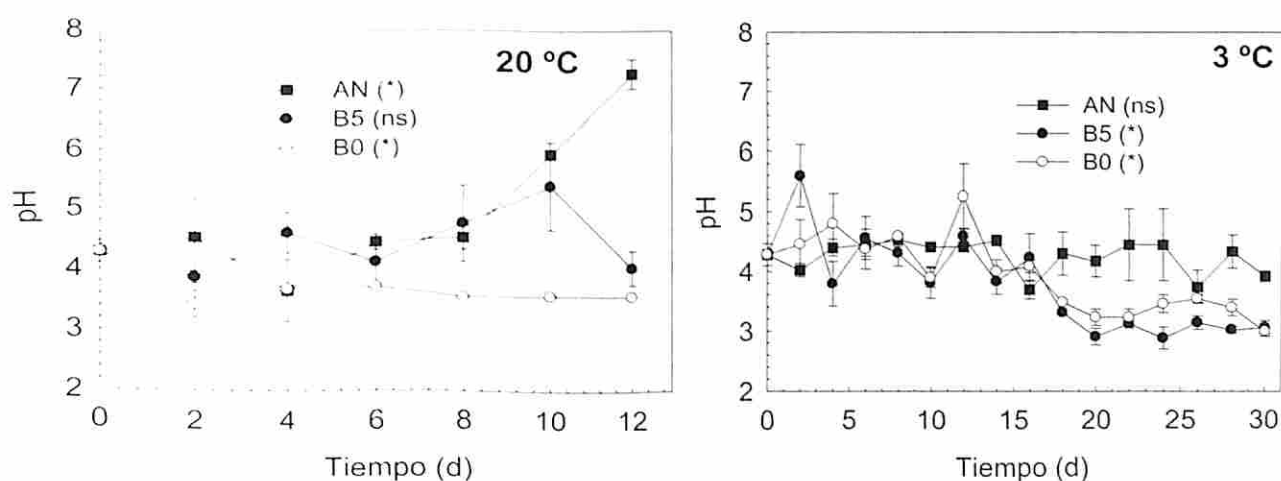


Figura 16. Variación del pH en huitlacoche almacenado a 20 °C y a 3 °C. *Significativa (DSH; 0.05); ns no significativo. Cada valor representa la media de tres repeticiones y las barras indican el error estándar correspondiente.

Para muchos productos los valores de pH están relacionados con la disponibilidad de ácidos orgánicos (Tucker, 1993). Sin embargo, en el presente trabajo, los comportamientos observados pueden tener una causa distinta. Ya desde 1942 Claypool y Keefer mostraron que el CO₂ puede fijarse en fase acuosa como ácido carbónico (HCO₃⁻) y Lange y Kader (1997) demostraron,

para el caso de frutos de aguacate 'Hass', que el CO₂ puede modificar el pH del tejido, precisamente porque se fija como ácido carbónico en fase acuosa.

El análisis de la respiración a 20 °C mostró que los materiales almacenados en bolsa perforada presentaron en promedio las mayores velocidades de emisión de CO₂, seguido por la bolsa intacta y luego por los materiales al ambiente, es decir, que estos últimos presentaron la menor actividad respiratoria. Por otro lado, a 3 °C el comportamiento fue un poco distinto, pues los materiales de bolsas intactas tuvieron la mayor actividad respiratoria, seguidos por los de bolsa perforada y los valores de actividad más baja se observaron también en el tratamiento de aire normal. Dado que el fenómeno de emisión de CO₂ es un proceso de intercambio gaseoso entre la región interna del producto y su ambiente externo, derivado de un gradiente de concentración entre las mismas (Valle-Guadarrama *et al.* 2002), el comportamiento respiratorio refleja la concentración de CO₂ en el interior de las agallas de huitlacoche, de tal manera que a 20 °C las mayores concentraciones de CO₂ dentro de las agallas se tuvieron en el tratamiento de bolsa perforada, seguidos por los de bolsa intacta y luego por los de aire natural y, por otro lado, en la condición de 3 °C la mayor concentración del gas dentro del producto ocurrió en los materiales de bolsa intacta, seguido por los de bolsa perforada y los más bajos valores se manifestaron en el tratamiento de aire natural. Al respecto, Valle-Guadarrama *et al.* (2008), encontraron una situación similar en el caso del fruto de litchi y se confirma que esta es una situación común en materiales recién sometidos a la acción de atmósferas controladas o modificadas.

Estos planteamientos permiten entender por qué el pH en los materiales mantenidos en aire normal tuvieron el pH más alto que los sometidos a la acción de atmósferas modificadas, ya sea con bolsa intacta o bolsa perforada que tuvieron los valores más bajos, causado esto por la mayor cantidad de CO_2 presente a nivel de tejido en las agallas de huitlacoche.

5. CONCLUSIONES

El uso de atmósferas modificadas en la condición térmica de 20 °C causó una alteración en la composición de la atmósfera circundante en las unidades experimentales de huitlacoche, dada por una reducción de O₂ e incremento de la concentración de CO₂ a diferencia de la condición térmica de 3 °C en la que dichos niveles se mantuvieron constantes.

En la condición térmica de 20 °C las concentraciones instaladas de O₂ fueron de 0 % para envase intacto y con dos microperforaciones, y de 1.08 %, 6.27 % y 8.94 % para envase con 5, 10 y 20 microperforaciones respectivamente. Las concentraciones de CO₂ fueron de 24.08 %, 21.22 %, 21.75 %, 14.90 % y 14.22 % para bolsa intacta, 2, 5, 10 y 20 microperforaciones respectivamente.

Durante el almacenamiento a 3 °C los procesos metabólicos fueron menores manteniendo las concentraciones de O₂ cercanas a las ambientales y las de CO₂ en niveles bajos de 10.62 %, 10.05 %, 5.86 %, 5.67 % y 3.48 % para bolsa intacta, 2, 5 10 y 20 microperforaciones respectivamente.

Las condiciones elegidas para evaluar la vida de anaquel de huitlacoche fueron: bolsa intacta (B0), bolsa perforada (B5) y aire normal (AN) a dos temperaturas (3 y 20 °C) por un periodo de 30 días. Bajo condiciones de 20 °C el almacenamiento fue conducido por un periodo de 12 días, las condiciones alcanzadas de atmósfera modificada fueron mejores en relación a la condición

de 3 °C, aunque a ésta temperatura el materia vegetal tuvo una vida de anaquel de 30 días. A 20 °C el mejor tratamiento fue el de bolsa perforada alcanzando niveles promedio de 1.65 % y 21.45 % de O₂ y CO₂ respectivamente. A 3 °C el efecto del microperforado no fue significativo

Las ventajas con el uso del almacenamiento microperforado para huitlacoche fueron: la reducción significativa de la pérdida de peso, conservación del color y la firmeza de las agallas, así como una considerable disminución en la respiración y menor producción de metabolitos anaerobios.

6. LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. (1998). Fitopatología. Ed. Limusa S.A. de C.V. México. 838 p.
- Ares, G., Parentelli C., Gámbaro C.L. and Lema P. (2006). Sensory shelf life of shiitake mushrooms stored under pasive modified atmosphere. Postharvest Biology and Technology. 41 (2):191-197.
- Beaudry, R.M. (1993). Effect of carbón dioxide partial pressure on blueberry fruit respiration and respiratory quotient. Postharvest Biology and Technology. 3:249-258.
- Beaudry, R.M. (1999). Effect of O₂ y CO₂ partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. Postharvest Biology and Technology. 15:293-303.
- Beaudry, R.M., Cameron A.C., Shirazi A. and Dostal-Lange D.L. (1992). Modified-atmosphere packaging of blueberry fruit: effect of temperature on package O₂ and CO₂. Journal of the American Society for Horticultural Science 117 (3):436-441.
- Berrios, J.J. (2002). Development of a dynamically modified atmosphere storage system applied to avocados. Food Science Technology International. 8 (3):155-162.
- Boersig M.R., Kader A.A. and Romani R.J.(1988). Aerobic-anaerobic respiratory transition in pear fruit and cultured pear fruit cells. Journal of the American Society for Horticultural Science. 113:869-873.

- Brencht, J.K. Chau K.V., Fonseca S.C., Oliveira F.A.R., Silva F.M., Nunes M.C.N. and Bender R.J. (2002). Maintaining optimal atmosphere conditions for fruits and vegetables throughout the postharvest handling chain. *Postharvest Biology and Technology*. 27:87-101.
- Cameron, A.C., Talasalia P.C. and Joles D.J. (1995). Predicting the film permeability needs for modified-atmosphere packaging of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience* 30:25-34.
- Carroll, J.E. (1998). Cornell University in Cooperation with the National Association of Biology Teachers. Recuperado el 5 de mayo de 2008 de <http://carroll1.cc.edu/jclausz/msamanual/smut.html>.
- Castro-Espinoza, L. y Ruíz-Hernández I. (2003). Huitlacoche: una delicadeza alimenticia que se puede producir en el Valle del Yaqui, (en línea). Insituto Tecnológico de Sonora. Recuperado el 6 de mayo de 2008 de www.itson.mx/Sr/perspectiva/PDF/Numero%202/huitlacoche.pdf#search=%22huitlacoche%22.
- Claypool, L.L. and Keefer R.M. (1942). A colorimetric method for CO₂ determination in respiration studies. *American Society for Horticultural Science*. 40:177-186.
- Cliffe-Byrnes, V. and O' Beirne D. (2007). Effects of gas atmosphere and temperature on the respiration rates of whole and slice mushrooms (*Agaricus bisporus*) implications for film permeability in modified atmosphere packages. *Journal of Food Science*. 72:197-204.
- Davis, P.L. and Chase W.G. (1969). Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of head space. *HortScience*. 4:117-119.

- De Oliveira-Silva E., Gutiérrez-Carnelossi M.A., Pedro-Jacomino A., Puschmann R., Ferreira-Soares N.F., Elesbão-Alves R., Luiz-Mosca J., Cunha-Filgueiras H.A., Rocha-Bastos M.S., Dussán-Sarria S., Yagui P. (2005). Formas de presentación. En González-Aguilar G.A. (Ed.). Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados. México: CIAD-CYTED-CONACYT-COFUPRO. pp. 37-57.
- Del-Valle, V., Almenar J.M., Catalá R.L. and Gavara R. (2003). Modelling permeation through porous polymeric films for modified atmosphere packaging. *Food additives and Contaminant*. 20 (2):170-179.
- Do Nascimento y Emond J.P. (2003). Storage temperature. In: Bartz J.A. (eds.). *Postharvest physiology and Patology of vegetables*. Marcel Dekker Inc New York. pp. 209-228.
- Fonseca, C.S., Oliveira F.A.R. and Brencht K.J. (2002). Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmospheres packages: a review. *Journal of Food Engineering*. 52:99-119.
- González-Fandos, E., Giménez M., Olarte C., Sanz S. and Simón A. (2000). Effect of packaging conditions on the growth of micro-organisms and the quality characteristics of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*) stored at inadequate temperatures. *Journal of Applied Microbiology*. 89:624-632.
- Guzmán, G. (1997). Los nombres de los hongos y lo relacionado con ellos en América Latina. Introducción a la etnomicobiotica y micología aplicada a la región. Sinonimia vulgar y científica. CONABIO. Instituto de Ecología A.C. Xalapa, Ver. México. p. 56.

- Herrera, T. y Ulloa, M. (1998). El reino de los hongos. Micología básica y aplicada. UNAM. 2ª Ed. Fondo de cultura económica. México D.F. pp. 295-296.
- Hutchings, B.J. (1999). Food color and appearance. Second edition. Ed. Aspen Publishers. USA. pp. 610.
- Joles, D.W., Cameron A.C., Shirazi A., Petrcek P.D. and Beaudry R.M. (1994). Modified-atmosphere packaging of 'Heritage' red raspberry fruit: respiratory response to reduced oxygen, enhanced carbon dioxide and temperature. Journal American Society Horticultural Science. 119:540-545.
- Kader A.A. and Salveit M.E. (2003). Respiration and gas exchange. In: Postharvest physiology and pathology of vegetables. J.A. Bartz, J.K. Brencht (eds). University of Florida, Gainesville. Florida. pp. 7-29.
- Kader, A.A. (2002). Modified atmospheres during transport and storage. En: Kader A.A. (ed.), Postharvest technology of horticultural crops. University of California Agriculture and Natural Resources, Davis. pp. 134-144.
- Lange D. L. and Kader A. A. 1997. Elevated carbon dioxide exposure alters intracellular pH and energy charge in avocado fruit tissue. Journal of the American Society for Horticultural Science. 122(2), 253-257.
- Leal-Chapa, M.A. (1996). Evaluación de metodologías para la inducción artificial de huitlacoche. Tesis para obtener el grado de maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Agronomía. Nuevo León, México.

- Lee, D.S., Hagggar P.E., Lee J. and Yam K.L. (1991). Model for fresh produce respiration in modified atmospheres based on principles of enzyme kinetics. *Journal of Food Science*. 56: 1580-1585.
- León-Guzmán, M., Silva I. and López G. M. (1997). Proximate chemical composition, free amino acid contents and free fatty acid contents of some wild edible mushrooms from Queretaro, México. *J. Agric. Food Chem*. 45:4329-4332.
- López-Briones, G., Varoquaux p., Yves C., B.J., Buerau G. and Pascat B. (1992). Storage of common mushroom under controlled atmospheres. *Int. Journal of Food Science Technology*. 27:493-505.
- Martínez-Flores, A., Corrales-García J.J., Espinoza-Solares T., García-Gatica P.G. y Villanueva-Verduzco C. (2008). Cambios postcosecha del hongo comestible huitlacoche (*Ustilago maydis* (D.C.) Corda). *Revista Chapingo Serie Horticultura*. En prensa 2008.
- Martínez-Morales A., Tejacal-Alia I., Valle-Guadarrama S., Colinas-León Ma. T., López-Martínez V., Bautista-Baños S., Andrade-Rodríguez M., Villegas-Torres O. G. y Guillén-Sánchez D. (2008). Comportamiento de frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota*) en atmósferas con bajo O₂ y moderado CO₂. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 31 (3):53-59.
- Martínez-Pelayo, M. (2000). Uso alimenticio del huitlacoche (*Ustilago maydis* D.C.). Recuperado el 13 de abril de 2008 de http://cucba.udg.mx/new/informacionacademica/coaxican/el_hongo.

- Mendoza-Wilson A. M., R. Báez-Sañudo. 2000. Medición de la tasa respiratoria por sistema cerrado en melón cantaloupe. *Horticultura Mexicana*. 8(2):158-163.
- Montanez, J., Oliveira A.R.F., Frías J., Pinelo M., Mahajan V.P., Cunha M.L. and Manso C.M. (2005). Design of perforation-mediated modified atmosphere packaging for shredded carrots: mathematical modelling and experimental validation. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*. 118:423-428.
- Paredes-López, O. (2000). Tecnologías para la producción masiva de huitlacoche. SEP-CONACYT. Querétaro.
- Pesis E., Dvir O., Feygenberg O., Ben A. R., Ackerman M. and Lichter A. (2002). Production of acetaldehyde and ethanol during maturation and modified atmosphere storage of litchi fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 26:157-165.
- 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.
- Petracek, P.D., Joles D.W., Shirazi A. and Cameron A.C. (2002). Modified atmosphere packaging of sweet cherry (*Prunus avium* L., cv 'Sams') fruit: metabolic responses to oxygen, carbon dioxide and temperature. *Postharvest Biology and Technology*. 24:259-270.
- Podd, L.A., J. Van Staden. 1998. The role of ethanol and acetaldehyde in flower senescence and fruit ripening-A review. *Plant Growth and Regulation*. 26:183-189.

- Raj R. D. and Paul S. (2007). Transient state in-pack respiration rates of mushroom under modified atmosphere packaging based on enzyme kinetics. *Biosystems Engineering*. 98:319-326.
- Renault, P., Souty M and Chambroy Y. (1994). Gas exchange in modified atmosphere packaging. 1: A new theoretical approach for micro-perforated packs. *International Journal of Food Science and Technology*. 29:365-378.
- Rodríguez-Felix, A. Rivera-Domínguez M. y González-Aguilar G.A. (2005). Uso de atmósferas modificadas y controladas. En González-Aguilar G.A. (ed.). *Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados*. México: CIAD-CYTED-CONACYT-COFUPRO. pp. 447-471.
- Ruíz-Herrera, J. and Martínez-Espinoza A.D. (1998). The fungus *Ustilago maydis*, from the aztec cuisine to the research laboratory. *International microbiology*. 1:149-158.
- Salvador, M. L., Jaime P. and Oria R. (2002). Modeling of O₂ y CO₂ exchange dynamics in modified atmosphere packaging of Burlat cherries. *Journal of Food Science*. 67:231-235.
- SAS Institute Inc. (1989). *SAS/STAT® User's Guide*. Versión 6, Cary, NC:SAS Institute Inc. pp. 209-243.
- Simón, A., González-Fandos E. and Tovar V. (2005). The sensory and microbiological quality of fresh sliced mushrooms (*Agaricus bisporus*) packaged in modified atmospheres. *International Journal of Food Science and Technology*. 40:943-952.

- Smith A.C.; Waldron K.W.; Maness N.; Perkins-Veazie. (2003). Vegetable texture: measurement and structural implications. In: Bartz J.A. (eds.). Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables. Marcel Dekker Inc New York. pp. 297-329.
- SPSS Inc. (2000). *Sigma Plot® 2000 User's Guide*. Chicago: SPSS Inc.
- Taiz, L. and E. Zeiger. (1998). Plant physiology. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., Publishers. 792 p.
- Talasila P.C., Cameron A.C. and Joles D.W. (1994). Frequency distribution of steady-state oxygen partial pressures in modified-atmosphere packages of cut broccoli. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 119:556-562.
- Tano, K., Oulé K.M., Doyon G. and Castaigne F. (1999). Atmospheric composition and quality of fresh mushrooms in modified atmosphere packages as affected by storage temperature abuse. *Journal of Food Science*. 64 (6):1073-1077.
- Tano, K., Oulé K.M., Doyon G., Lencki W.R. and Arul J. (2007). Comparative evaluation of the effect storage temperature fluctuation on modified atmosphere packages of selected fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*. 46:212-221.
- Tucker, G.A. (1993). Introduction. In: Biochemistry of Fruit Ripening. Seymour G., Taylor J.E. and Tucker G. (eds.). Chapman & Hall, London. pp:1-51.
- Valle-Guadarrama S., Alonso-Campos A., Alia-Tejacal I. 2008. Atmósferas con bajo O₂ y alto CO₂ para la conservación de frutos de litchi. *Revista Fitotecnia Mexicana* 31(2):157-164.

- Valle-Guadarrama S., Espinosa-Solares T., Saucedo-Veloz C y Peña-Valdivia C. B. 2005. Oxygen Diffusivity in Avocado Fruit Tissue. *Postharvest Biology and Technology* 92(2), 197-206.
- Valle-Guadarrama S., Saucedo-Veloz C., Peña-Valdivia C.B., Corrales-García J.J.E. y Chávez-Franco S.H. 2004. Aerobic-anaerobic metabolic transition in 'Hass' avocado fruits. *Food Science and Technology International* 10(6), 391-398.
- Valle-Guadarrama S., Saucedo-Veloz C., Peña-Valdivia C.B., Corrales-García J.J.E., Chávez-Franco S.H. and Espinosa-Solares T. (2002). Skin permeance and internal gas composition in "Hass" avocado (*Persea americana* Mill.) fruits. *Food Science and Technology International*. 119:556-562.
- Villaescusa, R. and Gil M.I. (2003). Quality improvement of *Pleurotus* mushrooms by modified atmosphere packaging and moisture absorbers. *Postharvest Biology and Technology*. 28:169-179.
- Villanueva, V.C. (1995). Estudios de la reacción del maíz al huitlacoche (*Ustilago maydis*). Tesis de Doctorado en Ciencias, Colegio de Postgraduados. Programa de genética. México.
- Villanueva, V.C. (1997). "Huitlacoche" (*Ustilago maydis*) as a food in Mexico. *Micol. Neotrop. Apli.* 10:73-81.
- Villanueva-Verduzco, C., Sánchez-Ramírez E. y Villanueva-Sánchez E. (2007). El huitlacoche y su cultivo. Mundi-prensa México. S.A. de C.V. México D.F. 96 pp.

Villanueva-Verduzco, J. (2006). Producción de caviar azteca en invernadero, (en línea). Revista Teorema ambiental. Recuperado el 5 de mayo de 2008 de http://www.teorema.com.mx/articulos.php?id_sec=45&id_art=2927&id_ejemplar=86.