

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Fruta

La fruta empleada fue mora azul (*Vaccinium corymbosum*) variedad *rabbit eye* cosechada en Zacatlán, Pue en los meses de julio – septiembre de 2004. Se trabajó con 2 lotes, el primero obtenido en el mes de julio y el segundo en el mes de septiembre.



Figura 6.1. Mora azul (*Vaccinium corymbosum*) variedad *rabbit eye*

6.2 Películas poliméricas plásticas

Se evaluaron seis películas poliméricas plásticas existentes en el mercado nacional: poliolefina (BASF mexicana) de alta permeabilidad, neobar o nybar (Neoplástica, S.A.) de alta barrera, CRYOVAC CP9250 película multicapa de polietileno lineal coextruida no termoformable, CRYOVAC PC7225B película con una capa exterior de nylon y polietileno modificado, CRYOVAC PC7235B estas tres últimas producidas por la compañía Sealed Air de México y Biofresh película con absorbedores de etileno, amonio y sulfuros (sulfides) de hidrógeno de la compañía Agrofite plastics (Israel), comercializada en México por Dolomita Agrícola de México, S.A. de C.V.



Figura 6.2. películas plásticas utilizadas en este estudio

6.3 Análisis de gases

La concentración de CO_2 y O_2 se determinó usando un cromatógrafo de gases SRI 8610 equipado con un detector de conductividad térmica, una columna Alltech CTR1 (Alltech asociados, Deerfield, Ill) y un integrador Beckman 427, las condiciones bajo las cuales se operó el equipo fueron:

- Gas acarreador (He) a un flujo de 60 ml/min.
- Temperatura de la columna 32 °C.
- Corriente del detector baja.



Figura 6.3. Cromatógrafo de gases SRI 8610 e integrador Beckman

Para obtener los valores de concentración de CO_2 y O_2 se realizó una curva estándar para cada gas, en la cual la concentración estuvo expresada en % mol, estos valores se graficaron contra el área bajo la curva obtenida del integrador y a partir de la ecuación obtenida se calcularon las concentraciones de gas de las muestras.

Para realizar la curva estándar de cada gas, se hicieron estándares a diferentes concentraciones expresadas en porcentaje volumen, posteriormente se convirtieron a porcentaje mol. Los estándares se elaboraron haciendo vacío en una celda de sellado hermético y posteriormente llenándola con diferentes volúmenes de CO_2 u O_2 según el caso, basándose en la altura de un brazo de un manómetro de mercurio y completando el volumen total de la celda con N_2 hasta tener los dos brazos del manómetro a la misma altura (figura 6.4), para finalmente cerrar las llaves de la celda y tomar muestras con la jeringa de gases para inyectar en el cromatógrafo de gases, la jeringa para gases usada fue una Hamilton 89510 (Reno, Nevada) con un volumen de $250 \mu\text{l}$



-
- Figura 6.4. Manómetro de mercurio

6.4 Evaluación de la velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA)

Se evaluó la velocidad de transmisión de vapor de agua, a las tres diferentes temperaturas 5, 15 y 25°C. De acuerdo al método ASTM E 96 – 80, VTVA se mide mediante análisis gravimétrico monitoreando la hidratación de sílica gel, esta última se seca previamente en una estufa a 105 °C por 12 h, es importante cuidar que la temperatura de la estufa no sea mayor a 105°C pues la sílica gel se puede quemar.

Se coloca sílica gel dentro de cajas plásticas redondas de 5.5 cm de diámetro, estas cajas se sellan con la película a estudiar por el extremo abierto, asegurándose que la película quede bien adherida a la caja usando cinta aislante de vinil y silicón. El área de la boca de la caja es el área de exposición de la película (23.76 cm^2), estas cajas se pesan (tiempo 0) y se colocan dentro de celdas de vidrio de las siguientes medidas 10x10x13 cm (largo, ancho, alto) de acuerdo a la figura 6.5 con una base de plástico perforada en la parte inferior y con agua (HR= 100%).



Figura 6.5. Celdas de vidrio

Estas celdas se mantienen dentro de la cámara de temperatura controlada , posteriormente se pesan cada cierto periodo de tiempo (figura 6.6). Una vez que se tienen los datos de ganancia en peso, se grafica tiempo vs ganancia de peso, se obtiene

la ecuación correspondiente y a partir de la pendiente se calcula la velocidad de transmisión de vapor de agua a través de la película polimérica con la ecuación:

$$VTVA = (Q /t)A \quad (59)$$

En donde

Q= cantidad de vapor de agua que atraviesa la película (g)

A= área de la película (cm²).

t= tiempo (horas).

Q/t = pendiente de la gráfica tiempo vs. Ganancia en peso.



Figura 6.6. Determinación de VTVA

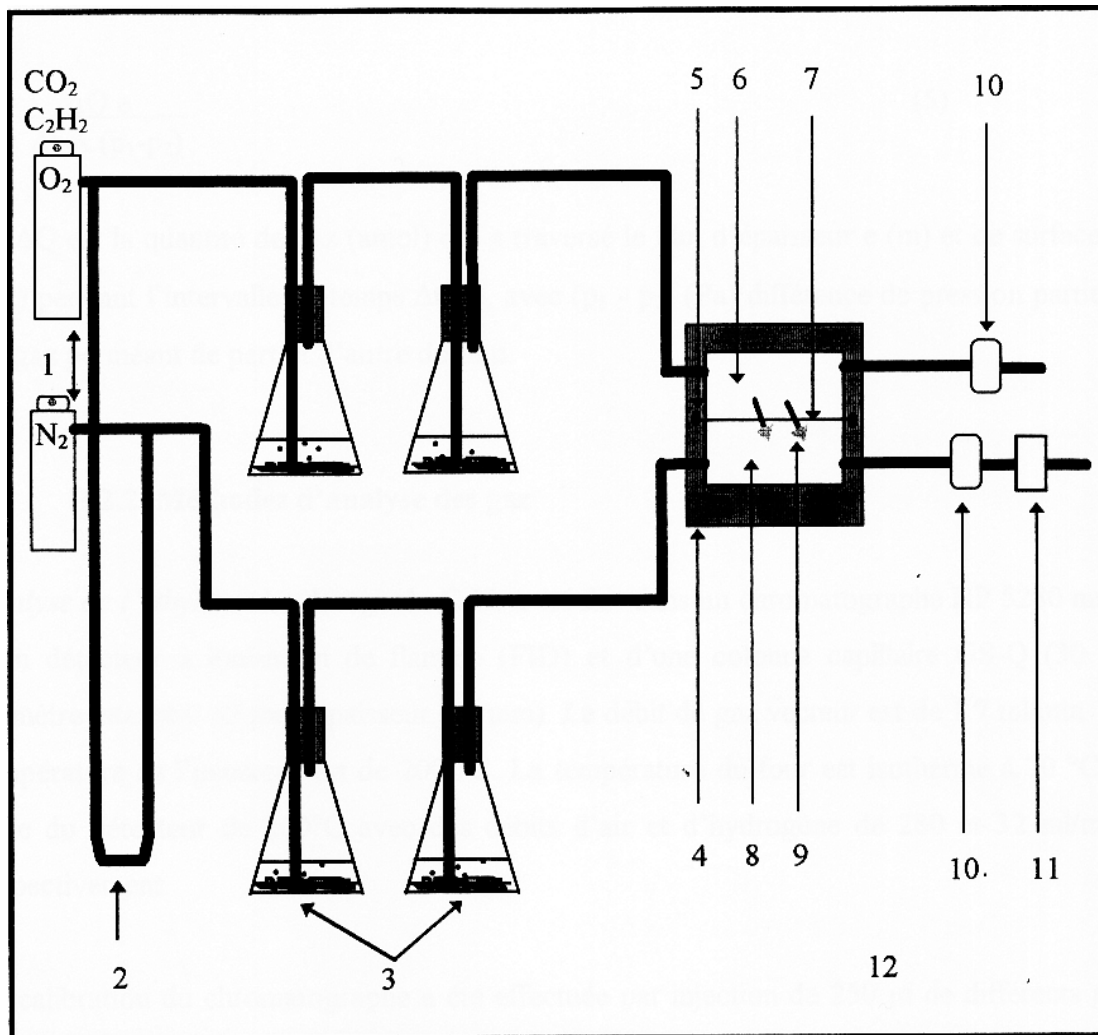
Para mantener la temperatura de análisis a 5, 15 y 25°C se empleó una cámara de temperatura controlada (Lab – line Instruments modelo Ambi Hi – Lo Chamber, USA), que posee un sistema de refrigeración – calefacción (figura 6.7).



Figura 6.7. Cámara de temperatura controlada

6.5 Evaluación de la permeabilidad al CO₂ y O₂

Para la película poliolefina se evaluó la permeabilidad al bióxido de carbono (CO₂) y oxígeno (O₂). La evaluación se efectuó a dos diferentes temperaturas (5 y 25 °C), el método utilizado fue el de permeación diferencial, montando el sistema que aparece en la figura 6.8 según reporta Mujica-Paz (1998).



- | | |
|--|---|
| 1- tanques de gas | 2- Manómetro |
| 3- Frascos burbujeadores | 4- Celda de permeación |
| 5- Empaques o juntas | 6- Cámara de gas permeante |
| 7- Película | 8- Cámara del gas vector (N ₂) |
| 9- Gas permeante que atraviesa la película | 10- Septa para muestreo de gas (O ₂ , CO ₂ o etileno) |
| 11- Medidor de flujo | 12- ambiente |

Tomada de Mujica, (1998)

Figura 6.8. Representación esquemática del sistema de medición de la permeabilidad a O₂, CO₂ o etileno de la película a estudiar

El método de permeación diferencial consistió en colocar una película en medio de la celda de aluminio con un área de intercambio de gases de $5.54 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ (figura 6.9) para separarla en dos cámaras, la celda se cierra perfectamente para evitar fugas de gas y se hace circular en cada cámara una corriente gaseosa a flujo constante (5

ml/min). Una de estas corrientes es del gas analizado o gas permeante (CO_2 , O_2), mientras que la segunda corriente contiene un gas vector (N_2), ambos a presión atmosférica. La humedad relativa (HR) de ambos flujos de gas se ajusta haciéndolos pasar a través de unos vasos burbujeadores que contienen soluciones salinas de cierta HR (figura 6.10).



Figura 6.9. celdas de permeación de aluminio



Figura 6.10. Sistema usado para determinar la permeabilidad a los gases de las películas estudiadas.

El gas permeante que atraviesa la película es arrastrado de su superficie por el gas vector y esta corriente se analiza por cromatografía de gases para determinar la cantidad de gas permeante que atraviesa la membrana. La toma de muestras se efectúa a través de una septa colocada a la salida del gas vector de la celda de permeación. Las determinaciones se efectuaron a 5 y 25 °C.

Las concentraciones de los gases permeantes (CO₂, O₂) se miden con el cromatógrafo de gases. Para cada una de las determinaciones de permeabilidad se toman muestras de 250 µl empleando la jeringa para gases. Las unidades de permeabilidad son ml/cm seg Pa y se calcula de la siguiente manera:

$$P = (\Delta Q * I) / (\Delta t * A * (\Delta P)) \quad (61)$$

Donde

P= permeabilidad (ml cm/cm² seg Pa)

$\Delta Q/\Delta t$ = (% gas O₂ o CO₂)*(flujo en ml/seg)

I= espesor de la película (3.5 x 10⁻³ cm)

A= 55.4 cm² (area de transferencia de la película en la celda)

ΔP = 1 atm o 1x 10⁵ Pa

En este caso ΔP se considera constante, pero su valor varía conforme varía la concentración de O₂ o CO₂ (apéndice B).

6.6 Determinación de la velocidad de respiración (r) de mora azul

La velocidad de respiración se midió con el método del sistema cerrado (Song 1992, Lozada 2001), usando celdas plásticas de sellado hermético con un volumen de 1 450 ml (13.5 cm x 12.5 cm de diámetro) para la determinación de la velocidad de respiración de la fruta y por cuestiones técnicas para la elaboración de los estándares de CO₂, O₂ se usaron celdas de un volumen mayor (5036.36 ml). Las celdas están provistas de una entrada y una salida de gas sellada con silicón y una septa para la toma de muestras con jeringas para gases (figura 6.11).



Figura 6.11. Celdas de sellado hermético

Este método consistió en colocar 250 g de mora azul dentro de las celdas plásticas, sellarlas perfectamente para evitar la entrada de aire y monitorear cada cierto tiempo la concentración de CO_2 y O_2 en el interior de las mismas usando la jeringa para gases y haciendo las determinaciones con el cromatógrafo de gases. Las celdas se mantuvieron a 5, 15 y 25 °C, dentro de la cámara de temperatura controlada. Las muestras se tomaron cada hora hasta alcanzar una concentración de CO_2 de 10% y de O_2 de 0.5% de manera simultánea (figura 6.12).



Figura 6.12. Determinación de la velocidad de respiración de mora azul usando el método del sistema cerrado.

A partir del área obtenida para cada gas (CO_2 y O_2) en el cromatógrafo de gases, se calcula el % mol correspondiente con las curvas estándar, posteriormente se

grafica la producción de CO_2 y el consumo de O_2 vs. tiempo, se obtiene la ecuación de estos datos aplicando una regresión lineal y la pendiente será el % mol de CO_2 producidos y % mol de O_2 consumidos por kilogramo de fruta por hora (ml CO_2 , O_2/kg mora azul h).

6.7 Empacado de mora azul bajo atmósfera modificada (EAM)

El empacado se realizó en una planta empacadora en atmósfera modificada ubicada en Huauchinango, Puebla, se usaron piezas enteras de mora azul, se pesaron 175 g y se colocaron en bandejas termoformadas que posteriormente se sellaron en una máquina para empacar en atmósfera modificada con las películas poliolefina y nybar, con las siguientes variantes de empacado: inyectando una mezcla de gases especial: 85% N_2 , 10% CO_2 , 5% O_2 y sin inyectar gases. Los gases empleados fueron marca INFRA (figura 6.13).



Figura 6.13. Mezclas de gases utilizadas para el empacado en atmósfera modificada

El volumen libre del empaque (volumen gaseoso) se determinó agregando agua a 3 charolas con el producto en su interior, para establecer un volumen promedio.

Se almacenó la fruta a dos temperaturas 5 y 25°C por 38 días, se colocó el número suficiente de bandejas para seguir los cambios en °Bx, pH, acidez, color, textura, humedad, aw y calidad microbiana.

En cuanto a la evolución de la composición gaseosa esta se monitoreó por duplicado a las mismas bandejas durante los 38 días del almacenamiento, para esto se les colocó un septo de silicón para tomar las muestras con la jeringa de gases (figura 6.14).



Figura 6.14. Muestreo de la composición gaseosa de los EAM

Al mismo tiempo se monitorearon los cambios en °Bx, pH, acidez, color, textura, humedad, aw y calidad microbiana, a fruta almacenada a 5, 25°C y sin ningún tipo de empaque.

6.8 Actividad de agua (aw)

La aw de la fruta se determinó usando el higrómetro de punto de rocío Decagon CX-1 calibrado y operado como lo describe López – Malo et al. (1993).

6.9 Sólidos solubles

Los °Brix de la fruta se determinaron usando el refractómetro digital ATAGO, modelo IR – 1 a 25 °C.

6.10 pH

El pH se determinó usando el potenciómetro Orion modelo 420 (Orion Research, Inc., Boston MA.) por inmersión del electrodo en el puré de mora azul, previa calibración con soluciones buffer de pH 4 y 7.

6.11 Acidez titulable

La acidez de la fruta se obtuvo usando el método 942.15 (37.1.37) del AOAC (1996), el método se basa en la titulación de aprox. 3 g de puré de mora azul, con solución de NaOH 0.1 N valorada previamente y usando un potenciómetro, hasta alcanzar un valor de pH de 8.0 ± 0.2 . El resultado de la titulación se expresa como kg de ácido cítrico / kg de muestra.

6.12 Índice de madurez

Se expresa como el cociente de sólidos solubles y acidez titulable de la fruta.

6.13 Humedad

La humedad de la fruta se determinó por secado y diferencia de pesos de acuerdo al método 934.06 (37.1.10) del AOAC (1996). El contenido de humedad en la muestra se expresa como porcentaje en base húmeda.

6.14 Textura

Se determinó la textura de la mora azul con un texturómetro TA- TX2 haciendo una prueba de compresión para la cual se usó un dispositivo consistente en un cilindro hueco dentro del cual se colocaron 10 – 12 frutas de modo que cubrieran la base del mismo y un embolo que bajaba dentro del cilindro comprimiendo la fruta (figura 6.15). Las condiciones de la prueba son velocidad de 1 mm/s y una distancia de 7.5 mm; se cuantificó el pico máximo o fuerza máxima expresado en g y la fuerza por tiempo requerida para deformar la fruta expresada en g.s. La prueba se hizo por triplicado.



Figura 6.15. Texturómetro TA – TX2

6.15 Color

Para cuantificar el color de la mora azul se ocupó el colorímetro color Gard System 05, usando los parámetros L (luminosidad), a (+ rojo, – verde) y b (+ amarillo, – azul) de la escala de Hunter. Se selecciona en el equipo la medición de color por la escala de L, a y b; se calibra a cero con el Cero Reference Estándar y con el color blanco con valor de L=92.89, a=-1.05 y b=0.82. Se realizó por triplicado la medición. Se calculo la diferencia neta de color (ΔE) con la siguiente fórmula.

$$\Delta E = (L_o - L)^2 + (a_o - a)^2 + (b_o - b)^2 \quad (62)$$

Donde L_o , a_o , b_o son los valores de mora azul fresca y L, a, b corresponden a la fruta empacada en atmósfera modificada.

6.16 Análisis microbiológico

La determinación de la carga microbiana se realizó por duplicado, se tomo 1 g de puré de fruta y se adicionó a 9 ml de agua peptonada estéril en un tubo de dilución, se hicieron diluciones 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} ; se sembró en profundidad, las cajas se incuban (Incubadora, Imperial III, Illinois, EUA) a 35°C, durante 2 días, en agar nutritivo para determinar mesófilos y para hongos y levaduras la incubación es a 25°C, por 3 días, en agar PDA acidificado con 1.4 ml de ácido tartárico por cada 100 ml de agar.

6.17 Espesor

El espesor de las películas se midió con un micrómetro Mitutoyo 2412F (figura 6.16).



Figura 6.16. micrómetro Mitutoyo 2412F