5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MATERIA PRIMA

Se emplearon como materia prima mangos (*Mangifera indica L)* de la variedad *Ataulfo,* adquiridos de un mismo lote de un supermercado de la ciudad de Puebla, agua, sacarosa y ácido cítrico.

5.2 MÉTODOS

5.2.1 ELABORACIÓN DEL NÉCTAR DE MANGO

Para la obtención del néctar de mango se elaboró primero el puré, se lavaron los mangos, se pelaron y deshuesaron. Para obtener una pulpa más homogénea se utilizó una licuadora (Black & Decker Power Pro 350^{TM}, Watt Blender, México). Posteriormente, el puré obtenido fue almacenado en bolsas de plástico ZIPLOC conteniendo 500 g de muestra cada una, se colocaron en un congelador (REVCO, Scien Temp, EE.UU.) donde se mantuvieron a una temperatura de -45°C hasta su utilización.

Para obtener el néctar se descongeló el puré por inmersión en agua templada a 35 °C y se mezcló la pulpa con jarabe de sacarosa al 10% y ácido cítrico para obtener un néctar con un 30% de fruta y una relación 55:1 °Brix: acidez (Milacatl, 2003).

5.2.2 CARACTERIZACIÓN DEL NÉCTAR

<u>Sólidos solubles.</u> Se determinó por triplicado la cantidad de sólidos solubles del néctar a temperatura ambiente utilizando un refractómetro digital (ATAGO, 2313, México) (Milacatl, 2003).

pH. Para la medición de pH se utilizó un potenciómetro digital (Hanna Instruments, pHep, Marruecos) mediante inmersión directa del electrodo en la muestra realizándose la medición por triplicado (Milacatl, 2003).

Acidez titulable. Para las mediciones de acidez titulable se colocaron 10 mL del néctar de mango y se les añadieron 2 gotas de fenolftaleína como indicador. Posteriormente se tituló con NaOH 0.1N hasta observar el primer tono rosado en el néctar. Se realizó por triplicado. La acidez fue reportada como porcentaje de ácido cítrico según el método 22.059 del A.O.A.C (1984) (Milacatl, 2003).

Para el cálculo de la acidez se utilizó la Ecuación 1:

$$\% \text{ acidez} = \frac{(V_{NaOH})(N_{NaOH})\,(\text{meq}_{\text{ac. cítrico}})(100)}{V_{muestra}} \qquad \text{(Ecuación 1)}$$

El miliequivalente para el ácido cítrico es de: 0.064

Color. Se tomaron muestras de 20 mL del néctar de mango y fueron colocadas en un vaso de precipitado de 50 mL para la medición de los parámetros L, a, b de la escala de Hunter con un colorímetro (Gardner-Colorgard System/05, EE.UU.), utilizando el modo de reflectancia. La medición se hizo 5 veces para cada muestra.

5.2.3 CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Para la determinación de la cantidad de ácido ascórbico en la muestra se empleó el método 43.064 de la A.O.A.C. (1984); para ello se utilizaron tres soluciones: una solución estándar de ácido ascórbico, una solución de 2,6 diclorofenolindofenol y una solución extractora la cual es una mezcla de ácido metafosfórico, ácido acético y agua.

Para preparar la solución estándar de ácido ascórbico se colocaron 50 mg del mismo en una alícuota de 50 mL y se aforó con la solución extractora. Se transfirieron 2 mL de la solución estándar a un matraz Erlemeyer, agregando 5 mL de solución extractora. Se tituló rápidamente con la solución de 2,6 diclorofenolindofenol hasta que se observó la aparición de un tono rosa ligero. Se realizó por triplicado.

Se debe titular un blanco compuesto por 7 mL de la solución extractora más el volumen gastado en la titulación del estándar en agua, y titular con la solución de 2,6 diclorofenolindofenol, hasta el tono rosa. Se realizó por triplicado. Al valor obtenido del estándar se le restó el del blanco.

Para determinar el contenido de ácido ascórbico en la muestra, se tomó 1 mL de la misma y se transfirió a un matraz Erlemeyer, se adicionaron 6 mL de la solución extractora y se mezcló perfectamente, se tituló con la solución de 2,6 diclorofenolindofenol hasta el vire rosa. Se realizó por triplicado. Al volumen registrado de titulación se le restó el gastado en el blanco. La cantidad de ácido ascórbico presente en la muestra se determinó con la Ecuación 2 (García, 2005):

$$\frac{\text{mg. de ácido ascórbico}}{\text{mL de muestra}} = \frac{\text{volumen titulante en la muestra} * 2 \text{ mg ácido ascórbico}}{\text{volumen titulante en la solución estándar}}$$

(Ecuación 2)

5.2.3 TRATAMIENTO CON ULTRASONIDO

Se empleó un homogeneizador ultrasónico (Cole-Parmer Instrumental Company, CPX-400, EE.UU.) con una punta de 25.4 mm, que opera a una amplitud máxima de 120 µm; para este estudio se utilizó una amplitud de 90 micrones que es el 75% de la capacidad del equipo (Fig. 1). El tratamiento se aplicó colocando 500 mL de néctar de mango en un vaso de doble pared de 1000 mL esterilizado, con el fin de mantener una temperatura máxima de 15°C en el interior del mismo, mediante un baño con circulación de agua (Polystat, 1268-24, México), utilizando un termómetro de mercurio para monitorear constantemente la temperatura. Se colocó una parrilla con agitación debajo del vaso de doble pared con un agitador magnético para mantener la muestra homogeneizada. Se introdujo la punta de 25.4 mm del homogeneizador ultrasónico durante 30 min (Palou y López-Malo, 2004). Se tomaron muestras de 1 mL de néctar cada 5 min de tratamiento.

Fig. 1. Arreglo del equipo de ultrasonido.

5.2.4 TRATAMIENTO CON LUZ ULTRAVIOLETA

Se empleó una lámpara de luz ultravioleta (Philips, EE.UU.) de 70 cm de longitud y diámetro de 1.49 cm con una intensidad de 1780 µ W/cm^2, siendo el área de contacto de 328.9 cm^2 y el volumen de la muestra a tratar igual a 140 cm^3 (García, 2005). El tratamiento se realizó mediante la recirculación del néctar colocado en un vaso de doble pared (Fig. 2).

El sistema para mantener la temperatura del néctar a un máximo de 15°C fue un baño con circulación de agua (Polystat, 1268-24, México), y la temperatura se monitoreó por medio de un termómetro de mercurio. La recirculación se realizó usando una bomba peristáltica (Master Flex, 7553-71, EE.UU.).

El néctar se colocó en un vaso refrigerante de doble pared de 1000 mL, esterilizado previamente. Se colocó una parrilla con agitación debajo del vaso de doble pared con un agitador magnético para mantener la muestra homogeneizada.

Se introdujo la manguera que conecta la entrada del esterilizador UV en el fondo del vaso para hacer recircular el néctar con la bomba peristáltica a una velocidad de flujo de 6 mL/s, teniendo contacto con la lámpara de luz ultravioleta (Palou y López-Malo, 2004) y se tomaron muestras de 1 mL del néctar cada 5 min de tratamiento a lo largo de 30 minutos.

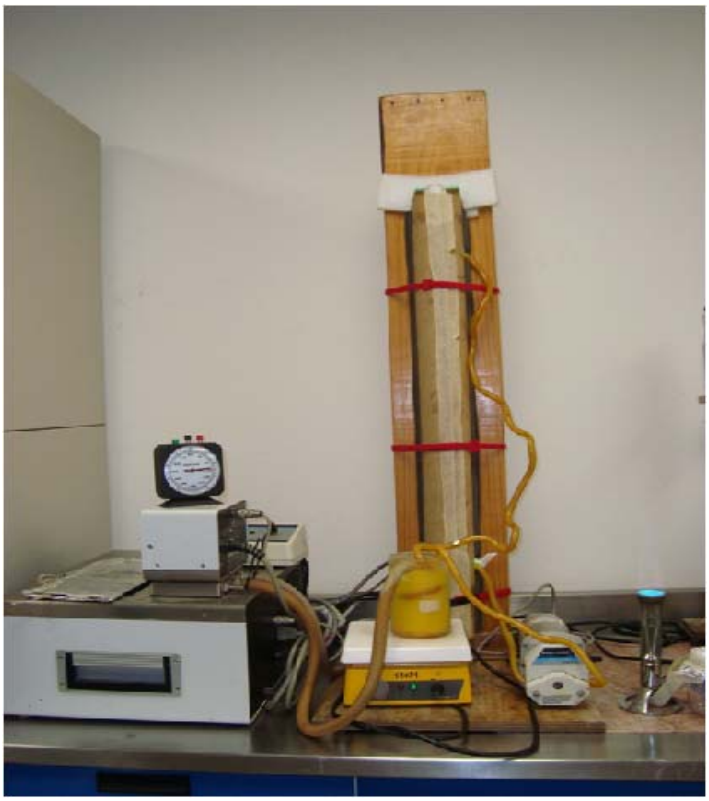

Fig. 2. Arreglo del equipo de luz Ultravioleta.

5.2.5 TRATAMIENTO COMBINADO

El tratamiento se realizó colocando 500 mL el néctar de mango en un vaso de doble pared de 1000 mL con el fin de mantener una temperatura máxima de 15°C en el interior del mismo. Se introdujo la punta de 25.4 mm del homogeneizador ultrasónico con una amplitud de 90 micrones en el vaso con el néctar(Fig. 3).

Simultáneamente, se coloco debajo del vaso de doble pared una parrilla de agitación y dentro del vaso un agitador magnético. Se introdujo la manguera que conecta la entrada del esterilizador de luz ultravioleta en el fondo del vaso para hacer recircular el néctar con

la bomba peristáltica a una velocidad de 6mL/s, teniendo contacto con la lámpara de luz UV y tomándose muestras de 1 mL de néctar cada 5 min de tratamiento a lo largo de 30 min (García, 2005).

Fig. 3. Arreglo del equipo para el tratamiento combinado.

5.2.6 RECUENTO DE FLORA NATIVA

Las muestras se sembraron por duplicado a dos diferentes diluciones en cajas Petri con agar nutritivo (Merck, Darmstadt, Alemania), para mesófilos aerobios, y agar papa dextrosa (PDA, BD Bioxon, México) acidificado con 1.4% de una solución de ácido tartárico al 10%, para mohos y levaduras. La siembra se hizo por la técnica de siembra en profundidad. Una vez sembradas las cajas, se incubaron a una temperatura de 37°C durante 24 horas para mesófilos aerobios, y a 25°C durante un período de 5 días para mohos y levaduras. Posteriormente, se llevó a cabo el conteo de los microorganismos en las cajas Petri (García, 2005).

5.2.7 DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DEL NÉCTAR DE MANGO

Se almacenó el néctar de mango una vez tratado tanto con ultrasonido, como con luz ultravioleta, y con una combinación de ambos tratamientos.

Para el néctar tratado con ultrasonido se almacenaron muestras tratados a 15 y 30 min, en el caso del néctar tratado con luz ultravioleta se almacenaron muestras tratadas a 20 y 30 min, y por último, para el tratamiento combinado se almacenaron néctares tratados a 20 y 30 min.

Las muestras se mantuvieron en refrigeración a una temperatura de 4°C en recipientes de vidrio, esterilizados, de 500 mL. La toma de muestras se realizó en una campana de extracción (Labconco, 36208-04, Kansas), para evitar contaminación y se hizo cada 2 días para medir la cantidad de ácido ascórbico presente en la muestra por. Así mismo se realizó la medición de flora nativa y de los parámetros de color *L, a* y *b* de la escala de Hunter. Lo anterior se realizó a los largo de 12 días de almacenamiento.

5.2.8 EVALUACIÓN SENSORIAL

Se realizaron evaluaciones de color, sabor, consistencia y aceptabilidad general del néctar de mango sin tratamiento, tratado con ultrasonido, con luz ultravioleta y con el tratamiento combinado después de almacenamiento refrigerado durante un día, utilizando una prueba de preferencia con escala hedónica de 9 puntos, en la cual se asigna la mayor puntuación a “me gusta muchísimo“ y la menor puntuación a “me disgusta muchísimo“. Esta evaluación se aplicó con 15 jueces no entrenados (García, 2005).

5.2.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con los resultados obtenidos de las evaluaciones de color, contenido de ácido ascórbico y evaluación sensorial, se realizó un análisis estadístico haciendo uso del programa estadístico Statgaphics Plus versión 5.1 (Statistical Gaphics Cop., 1994-2001).