

CAPÍTULO VI

MATERIALES Y MÉTODOS.

6.1 Materia Prima.

Se utiliza aguacate (*Persea Americana*), variedad Hass adquirido en un supermercado de la ciudad de Puebla, con un grado de madurez adecuado para su consumo.

6.2 Elaboración del guacamole.

Al fruto se eliminó el hueso, se separó la pulpa de la cáscara y se mezcló con los siguientes ingrediente:

- Cilantro deshidratado: 1.20% (P/P)
- Cebolla en polvo: 0.45% (P/P)
- Sal 1.09% (P/P)
- Solución de ácido cítrico al 50% para ajustar pH 5.2

El guacamole preparado se colocó en aros de plástico de 15 cm de diámetro por 1 cm de altura, los cuales tuvieron como base una lámina de vidrio de 200 * 200 * 3 mm cubierta con una hoja de polietileno perfectamente ajustada para su posterior congelación.

6.3 Métodos.

6.3.1 Análisis fisicoquímicos del guacamole.

- Humedad: se determina por diferencia de pesos, secando en una estufa a vacío (Cole Parmer, Chicago, Illinois) a 65°C por 8 horas, de acuerdo al método 22.013 del AOAC (1984).
- Grasa: se determina por extracción del extracto etéreo del muestra durante 8 horas de acuerdo al método del AOAC (1984).
- Color: la medición de color se efectua en un colorímetro Colorgard System /05, midiendo los parámetros L, a, b (Hunter), calibrando el equipo con estándar blanco y negro, utilizando una celda de cuarzo con un paso de luz de 1cm. Los valores de tono (H), saturación (C) y cambio neto de color (ΔE), se calculan por:

$$H = \tan^{-1}(b / a) \quad C = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (3), (4)$$

$$\Delta E = \sqrt{\Delta a^2 + \Delta b^2 + \Delta L^2} \quad (5)$$

Donde: $\Delta a = a - a_0$, $\Delta b = b - b_0$ y $\Delta L = L - L_0$; el subíndice “0” indica el color inicial de la muestra fresca. Las mediciones de color del guacamole fresco y rehidratado se realizaron por triplicado.

- La a_w se determina empleando un equipo Aqualab CX-2 Higrómetro punto de rocío (E.U.A).

6. 4. Determinación de la actividad enzimática.

La determinación de la actividad enzimática de polifenoloxidasa se hizo siguiendo el método reportado por Pizzocaro y *et al.*, (1993).

6. 4. 1 Obtención del extracto enzimático.

1 g de guacamole fresco ó rehidratado, se mezcla con 10 mL de buffer fosfato cítrico McIlvaine pH =6.5. Este buffer se preparó mezclando 14.2 ml de una solución 0.2 M de Na_2HPO_4 con 5.8 ml de una solución 0.1 M de ácido cítrico.

La mezcla homogeneizada se centrifuga a 6000 RPM durante 30 min a 4°C en una centrifuga Sorvall RT 6000B (Du Pont Co., Newton, CT) el sobrenadante se filtra a 25°C en papel Whatman No. 1

6. 4. 2 Determinación del número de unidades enzimáticas.

En una celda de cuarzo para espectrofotómetro se colocan 0.5 ml de extracto enzimático, 1 ml de solución 0.175 M de catecol y 2 ml de buffer cítrico – fosfato pH 6.5. Se analiza la actividad de polifenoloxidasas a 420 nm y 25 °C, usando como referencia una muestra igual a la anterior pero que contiene agua en lugar de catecol. Se utiliza un espectrofotómetro Shimadzu UV – 160.

Se registra el cambio de absorbancia con respecto al tiempo utilizando únicamente la porción lineal de la curva obtenida durante los primeros 3 minutos. Una unidad enzimática se define como $0.001\Delta A_{420}\text{min}^{-1}\text{ml}^{-1}$

6. 5 Sistemas para congelación.

El guacamole a ser congelado se dividió en dos porciones: a la primera porción se colocó un termopar de cobre – constantano en el centro del sistema para registrar temperaturas del producto mediante un lector Cole Parmer digisense (Scanning Thermocouple Thermometer EE.UU) .

A la segunda porción se le colocó en el centro del producto el termopar perteneciente al Liofilizador (Labconco Corporation) y así obtener temperatura del centro durante el proceso de liofilización.

La congelación del guacamole se efectuó bajo dos condiciones:

- 1) gabinete a -35°C (REVCO, modelo ULT 2090 – 3 ABA, USA).
- 2) nieve carbónica a -57.5°C , el sistema consiste en colocar las placas de guacamole en medio de placas de hielo seco almacenadas en una hielera Coleman Polylite 48.

La determinación de las curvas de congelación se realizaron en intervalos de media hora, se dio por terminado el proceso de congelación en el momento de que la temperatura del centro permanece constante y tenga una diferencia de $+2^{\circ}\text{C}$ con respecto la temperatura del medio de congelación.

6. 6 Liofilización

Se utiliza un Liofilizador Labconco Corporation, Kansas City, MO, operado a dos temperaturas de liofilización 5°C y 25°C , a un presión de 0.005 mmHg y una temperatura de -54°C en el condensador .

6. 6. 1 Preparación de las muestras a ser liofilizadas.

Se coloca en el centro de las placas de guacamole el termopar del Liofilizador (Labconco Corporation) para registrar las temperaturas durante el proceso de liofilización, por medio de un termómetro de mercurio se obtuvo la temperatura en el interior de la cámara del liofilizador. El peso de las placas de guacamole se registró con una balanza Ohaus (E. U. A) que tiene una sensibilidad de 0.1g, sobre la cual se colocaron las placas congeladas de guacamole mantenidos dentro de una estructura plástica (aros).

6. 6. 2 Ciclo de secado.

Una vez introducido el producto dentro de la cámara de liofilización, se aplicó vacío hasta una presión de 0.005 mmHg, cuando se alcanza dicha presión se registró el peso inicial de las placas, la temperatura del centro del sistema que se está secando, la temperatura y la presión dentro de la cámara y posteriormente en intervalos de una hora se registran todos los parámetros antes mencionados.

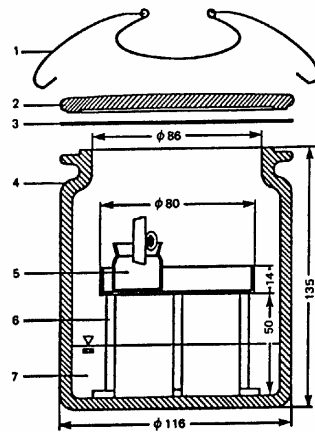
El ciclo de secado se dió por terminado, cuando en un espacio de dos horas seguidas la variación de peso es mínima (± 0.2 g), y la humedad residual se sabe que es del orden del 1%. Una vez finalizado el ciclo de secado, se restableció la presión

atmosférica dentro de la cámara del liofilizador; inmediatamente el producto se trasladó a una caja petri de 20 cm de diámetro, se selló con parafilm y se colocó en un desecador limpio el cual contiene silica con el objetivo de absorber la posible humedad dentro del desecador.

6. 7 Determinación de las isotermas de sorción de humedad.

Para la determinación de las isotermas de sorción a 15°C se utilizó un refrigerador (Torrey Mx); a 25°C una estufa (Thelco, Illinois U.S.A) y a 35°C una estufa (Blue M Illinois U.S.A). Se registró el peso de los pesafiltros con muestra cada tercer día utilizando una balanza analítica (Precisa 180, E.U.A). El método se basa en la medida del incremento de peso de una muestra de aproximadamente un gramo colocada en un pesafiltro y dentro de un sistema de humedad relativa conocida como lo describe Argáiz y López – Malo, (1994).

En la figura 11, se presenta el sistema utilizado para la determinación de las isotermas de adsorción, en el apéndice A se presenta el valor humedad relativa de las soluciones saturadas utilizadas a diferentes temperaturas. Con el fin de corroborar el valor de actividad de agua para cada sistema y temperatura utilizada, se utilizó el equipo Aqualab CX-2 Higrómetro punto de rocío (E. U. A).



Componentes de una celda de sorción:

1. Tapa del frasco de sorción.
2. Empaque de plástico.
3. Boquilla.
4. Frasco de sorción
5. Pesafiltro.
6. Base de acrílico.
7. Solución sobresaturada de sal.

Figura 11. Celda de equilibrio para la determinación de isotermas de adsorción de vapor de agua en alimentos.

6. 8 Determinación de propiedades termofísicas.

Para medir la conductividad térmica k ($Wm^{-1}C^{-1}$) y difusividad térmica α (mm^2s^{-1}), se prepararon placas cilíndricas de 15 cm de diámetro y 1 cm de espesor para el guacamole fresco y para las muestras liofilizadas equilibradas a 5 contenidos de humedad. Se utilizó un medidor de propiedades termofísicas KD2 Decagon Devices, Inc (Pullman, Washington) figura 12. El método consiste en introducir la sonda del analizador en medio del espesor de la placa de guacamole registrando la medición de conductividad térmica y difusividad térmica.



Figura 12. Analizador de Propiedades Termofísicas KD2.

6.9 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Para este tipo de análisis, se pesó aproximadamente 1 mg de muestra de guacamole fresco (a_w 0.982) y guacamole liofilizado acondicionado a las siguientes actividades de agua: 0.113, 0.231, 0.326, 0.436, 0.539, 0.577, 0.689, 0.753, 0.843. Cada muestra se coloca en charolas de aluminio propias para el análisis de DSC, enseguida se sellaron herméticamente para evitar pérdidas de humedad. Previo al ensayo calorimétrico se realizó la calibración de la línea base, por el calentamiento de la celda vacía a través de todo el intervalo de temperaturas, en dos ciclos de calentamiento / enfriamiento desde -80°C hasta 60°C con un incremento en temperatura de $10^{\circ}\text{C} / \text{min}$. Para el ensayo calorimétrico diferencial se utilizó el equipo Netzsch, DSC 200Pc.,

Phox (Berlin Alemania) figura13, el cual utiliza nitrógeno gaseoso como gas de purga y nitrógeno líquido para el ciclo de enfriamiento.

Se determinó la temperatura de transición vítrea utilizando como material de referencia un zafiro de aproximadamente 12.9 mg, y calibrado en el mismo intervalo de temperaturas antes mencionadas; obteniendo la T_{g0} inicial, T_{gm} intermedia, T_{gf} final, mediante el software Netzsch Proteus versión 4.2.



Figura 13. Calorímetro Netzsch, 200Pc Phox