

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE UN SENSOR CROMÁTICO QUE DETERMINE LA PRESENCIA DE OXÍGENO EN UN ENVASE

TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNA:

JULIANA RAIMONDO MARTÍNEZ

TUTOR:

RAFAEL GAVARA CLEMENTE

COTUTORAS:

GRACIA LÓPEZ CARBALLO

PILAR HERNÁNDEZ MUÑOZ

CURSO ACADÉMICO 2015/2016

Valencia, julio 2016

Desarrollo y caracterización de un sensor cromático que determine la presencia de oxígeno en un envase

Alumna: Juliana Raimondo Martínez

Tutor: Rafael Gavara Clemente

Cotutoras: Gracia López Carballo; Pilar Hernández Muñoz

Lugar de realización: Instituto de agroquímica y tecnología de los alimentos (IATA-CSIC)

RESUMEN:

El envasado inteligente, es una de las tecnologías más recientes en el envasado de alimentos, que busca informar de algún cambio que se está produciendo en la atmósfera que rodea al alimento y que está relacionado con su calidad y seguridad. Su forma de actuación consiste en proporcionar una respuesta sencilla cuando detecta algún cambio que por lo general se manifiesta como un cambio de color.

En el presente trabajo se plantea el desarrollo de un sensor de oxígeno redox activado con luz UV-Vis que proporcione un cambio de color ante una posible entrada de oxígeno en alimentos envasados, con la finalidad de prevenir reacciones de degradación, en atmósfera modificada (MAP).

Para el desarrollo del sensor, se han estudiado y optimizado diferentes formulaciones para la obtención de películas a base de EVOH como matriz polimérica, dióxido de titanio como agente semiconductor, glicerol como plastificante y donante de electrones y azul de metileno como colorante redox. Se han evaluado, también, las propiedades estructurales de las películas, la funcionalidad de los sensores mediante la respuesta colorimétrica que proporciona ante diferentes concentraciones de oxígeno y, con vista a su aplicación comercial, se ha realizado un ensayo de migración y la aplicación del sensor a un alimento real.

Los resultados obtenidos muestran que las películas proporcionan una respuesta colorimétrica clara e irreversible a partir de una concentración de oxígeno del 1-3% con un tiempo máximo de viraje de 24 horas. Además, su aplicación a un alimento real ha demostrado la capacidad de previsión del fin de la vida útil del alimento en función de la permeanza del envase. Finalmente, en el ensayo de migración, no se obtuvieron valores detectables de migración de azul de metileno por lo que, aparentemente, el sensor cumple con los límites legales de migración y podría ser utilizado como sistema de envasado inteligente de alimentos sensibles a la oxidación.

Palabras clave: Envase inteligente, sensor de oxígeno, azul de metileno, dióxido de titanio, MAP.

Valencia, Julio 2016

ABSTRACT:

Intelligent packaging, is one of the most recent technologies in food packaging, the aim of which is to provide information regarding any change that occurs in which food is enclosed thereby it is directly related to food quality and safety. A colorimetric change is the normal way of providing information when a change is detected.

For this study, an optical UV-activated sensor was developed which will provide a colorimetric reading if oxygen should enter inside the packaging with the aim of preventing degradation reactions in modified atmosphere food packaging (MAP).

In the development of the sensor, different formulations for obtaining films using EVOH as a polymer matrix, titanium dioxide as a semiconductor, glycerol as a plasticizer and electron donor and methylene blue as redox dye. The film's structural properties were evaluated as were the sensor's utility depending on the colorimetric response to different concentrations of oxygen and a migration test was done and application to real food was tested to assess its commercial application.

The results obtained indicate that films can detect oxygen concentration of 1-3% and provide a clear and irreversible colorimetric response after a maximum of 24 hours. In addition, application to real food has established the sensor capacity to detect the end of food life depending on packaging permeability. Finally, the migration test, showed no evidence of migration from methylene blue to food simulant. Therefore, it appears that an optical oxygen sensor, according to legal migration limits, could be used as a system of intelligent packaging for oxidation-sensitive foods.

Keywords: Intelligent packaging, oxygen sensor, methylene blue, titanium dioxide, MAP.

Agradecimientos:

A Rafa y Gracia,

Por darme la oportunidad de trabajar estos meses junto a vosotros, por hacerme sentir a gusto, por el buen ambiente que creáis en el laboratorio, por los ánimos y por todo el tiempo dedicado. Me he dado cuenta de que quiero seguir por el camino de la investigación y eso posiblemente sea lo más importante de todo lo que me habéis enseñado. Para mí siempre vais a ser un ejemplo a seguir.

A Ana Salvador,

Por su buena disposición para ayudarme y haber contribuido también en este trabajo.

A Marco y Lucia,

Por toda su ayuda y por esta nueva amistad.

A mis padres,

Por su amor y por estar incondicionalmente

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 ENVASADO	1
1.2 ENVASADO EN ATMÓSFERA MODIFICADA (MAP)	2
1.2.1 Factores a considerar para el envasado en MAP	2
1.2.2 Inconvenientes del envasado en MAP	3
1.2.3 Nuevos envases	4
1.3 SENSORES DE OXÍGENO	5
1.3.1 Actuales sensores de oxígeno	5
1.4 PRINCIPALES COMPONENTES DEL SENSOR DESARROLLADO	7
1.4.1 Azul de metileno	7
1.4.2 Dióxido de Titanio	7
1.4.3 EVOH	7
1.4.4 Glicerol	8
1.5 MECANISMO DE REACCIÓN DEL SENSOR	8
2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	9
3. MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1 MATERIALES	10
3.2 EQUIPOS	10
3.3 MÉTODOS	11
3.3.1 Preparación de películas de EVOH	11
3.3.2 Estudio reológico	13
3.3.3 Obtención de sensores	14
3.3.4 Propiedades estructurales de los sensores	14
3.3.5 Pruebas de los sensores	14
3.3.5.1 Envasado al vacío	14
3.3.5.2 Envasado en atmósfera modificada (MAP)	14
3.3.6 Activación de los sensores	15
3.3.7 Estudio del porcentaje de oxígeno presente en las bolsas con sensores	15
3.3.8 Propiedades ópticas	15
3.3.10 Cuantificación de la migración de azul de metileno al alimento	16
3.3.9 Aplicación práctica a un alimento	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17

4.1 Caracterización de las disoluciones.....	17
4.2 Obtención de películas.....	21
4.1 Activación de sensores.....	26
4.3 Envasado de sensores	27
4.4 Estudio del cambio colorimétrico de los sensores en presencia de oxígeno.....	29
4.5 Cuantificación de la migración de azul de metileno al alimento	34
4.6 Aplicación práctica a un alimento	35
5. CONCLUSIONES:.....	39
6. BIBLIOGRAFÍA.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS:

Figura 1. 1 Fotografía de un secuestrador de oxígeno comercializado por la marca Ageless®	4
Figura 1.2 Mecanismo de la reacción redox.....	9
Figura 4.1 Representación gráfica del esfuerzo cortante respecto a la velocidad para EVOH 2904.....	18
Figura 4.2 Representación gráfica del esfuerzo cortante respecto a la velocidad para EVOH 2908.....	19
Figura 4.3 Representación gráfica del esfuerzo cortante respecto al gradiente de velocidad para 7% de EVOH 2904 y diferentes concentraciones de TiO ₂	20
Figura 4.4 Representación gráfica del esfuerzo cortante respecto al gradiente de velocidad para 7% de EVOH 2908 y diferentes concentraciones de TiO ₂	21
Figura 4.5 Imágenes de la película obtenida por el método general: a) Película 13100GT b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.....	22
Figura 4.6 a) Película 7-25-T b) Microfotografía obtenida por SEM de la película	23
Figura 4.7 a) Película 7-50-T b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.....	23
Figura 4.8 a) Película 7-75-T b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.....	23
Figura 4.9 a) Película 7-100-T b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.....	23
Figura 4.10 a) Fotografía de la película 7-25-G b) Fotografía de la película 7-100-G.....	24
Figura 4.11 a) Película 777-GT obtenida por el método 1.4 b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.....	25
Figura 4.12 a) Película 777-GT obtenida por el método 1.5 b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.....	25
Figura 4.13 a) Película 977-GT obtenida por el método 1.5 b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.....	26
Figura 4.14 a) Película 1172-MB obtenida por el método 1.5 b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.....	26
Figura 4.15 Fotografía de sensores envasado al vacío, y su seguimiento durante 10 días.....	28
Figura 4.16 Fotografía de sensores envasados en MAP durante 7 días.....	29
Figura 4.17 Sensores obtenidos de la película 7-50-T tras ser irradiados(a), sensores cambiando de color después de 6 días (b).....	30
Figura 4.18 Sensores obtenidos de la película 11-77-2-MB tras ser irradiados(a), sensores cambiando de color después de 24h (b).....	30

Figura 4.19 Grafica polar del color (izquierda) y de concentración de oxígeno (derecha) en bolsas con sensores para las muestras control que no fueron pinchadas con aire, durante un seguimiento de 24 horas.....	32
Figura 4.20 Gráfico polar del color (izquierda) y de concentración de oxígeno (derecha) en las bolsas con sensores para las muestras que fueron pinchadas con 2mL aire, durante un seguimiento de 24 horas.....	32
Figura 4.21 Gráfico polar del color (izquierda) y de concentración de oxígeno (derecha) en las bolsas con sensores para las muestras que fueron pinchadas con 5mL aire, durante un seguimiento de 24 horas.....	32
Figura 4.22 Gráfico polar del color (izquierda) y de concentración de oxígeno (derecha) en las bolsas con sensores para las muestras que fueron pinchadas con 10mL aire, durante un seguimiento de 24 horas.....	33
Figura 4.23 Gráfico polar del color (izquierda) y de concentración de oxígeno (derecha) en las bolsas con sensores para las muestras que fueron pinchadas con 20mL aire, durante un seguimiento de 24 horas.....	33
Figura 4.24 Gráfico polar del color (izquierda) y de concentración de oxígeno (derecha) en las bolsas con sensores para las muestras que fueron pinchadas con 40mL aire, durante un seguimiento de 24 horas.....	33
Figura 4.25 Cromatograma para el componente azul de metileno para una concentración de azul de metileno de $1 \cdot 10^{-6}$ g / mL de agua.....	35
Figura 4.26 Cromatograma obtenido de una de las muestras que fue sometida a las peores condiciones de uso (121°C, durante 15 min).....	35
Figura 4.27 Evolución de los sensores incluidos en las 10 muestras a lo largo de los 20 días de almacenamiento: Izquierda, muestras almacenadas por debajo de 0,3% de O ₂ ; central, entre 0,3 y 1%; derecha, almacenadas con elevado contenido de O ₂	35
Figura 4.28 Evolución del color (Chroma) de las 10 muestras frente a la exposición a oxígeno.....	36
Figura 4.29 Evolución del color (Chroma) de las 10 muestras frente a la exposición a oxígeno y evolución teórica mostrada por la ecuación de Langmuir con los parámetros de ajuste indicados.....	37
Figura 4.30 Evolución de la concentración de hexanal (eje izquierdo) en envases de leche maternizada deshidratada y de color del sensor (Chroma en eje derecho) en función de la concentración de oxígeno.....	38
Figura 4.31 Intervalo de tiempo en el que teóricamente se produce el viraje de los sensores en función de la permeanza de los envases.....	39

ÍNDICE DE TABLAS:

Tabla 1.1 Porcentajes de gases recomendados para el envasado en MAP de algunos productos.....	3
Tabla 3.1 Métodos de obtención de películas.....	12
Tabla 3.2 Concentración del EVOH respecto a peso de disolución y del resto de los componentes respecto al peso de EVOH seco.....	13
Tabla 4.1 Viscosidad en segundos medida en copa Ford, para diferentes concentraciones de EVOH 2904 y 2908	18
Tabla 4.2 Valores del índice de consistencia (k) y del índice de comportamiento al flujo (n) para diferentes concentraciones de EVOH 2904 y 2908.....	19
Tabla 4.3 Viscosidad en segundos medida en copa Ford, para la misma concentración de EVOH 2904 y 2908 y diferentes concentraciones de TiO ₂	20
Tabla 4.4 Valores del índice de consistencia (k) y el índice de comportamiento al flujo (n) para diferentes concentraciones de TiO ₂ y de EVOH 2904 y 2908.....	21
Tabla 4.5 Tiempo necesario de irradiación con luz UV de baja intensidad para que las películas se activen y adquieran el color de la forma reducida.....	27

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha podido observar un cambio en los patrones de consumo en nuestra sociedad. La incorporación de la mujer al trabajo fuera del hogar, las largas jornadas laborales, y la reducción del tiempo invertido en las compras han dado lugar a un incremento en la demanda de productos de preparación sencilla y rápida como los platos precocinados, los productos de IV y V gama y otros alimentos “listos para consumir”. Paralelamente a esta demanda, los consumidores presentan un gran interés por los productos frescos y naturales, libres de aditivos y mínimamente procesados sin renunciar a que estos productos sean seguros, de calidad y que conserven sus propiedades nutritivas y organolépticas tras el procesado (García *et al.*, 2006).

Para cumplir con estas necesidades, los alimentos que se comercializan han debido de evolucionar de acuerdo con las nuevas tendencias y garantizar la seguridad y estabilidad antes y durante el almacenamiento. Es por ésta razón, que en los últimos tiempos han ganado importancia los tratamientos previos al envasado, como pueden ser: tratamientos térmicos (esterilización, escaldado, secado), el uso de aditivos y el propio envasado.

Para poder garantizar la seguridad alimentaria y el mantenimiento de la integridad de las características organolépticas del producto, no solo se requiere una buena elección y aplicación de los tratamientos previos, sino que las operaciones de envasado, almacenamiento y conservación adquieren gran importancia puesto que de ellas depende que el producto se encuentre en las condiciones adecuadas de temperatura, composición atmosférica y humedad.

1.1 ENVASADO

Un envase, se define como todo producto fabricado con materiales de cualquier naturaleza y que se utilice para contener, proteger, manipular, distribuir y presentar mercancías, desde materias primas hasta artículos acabados, en cualquier fase de la cadena de fabricación, distribución y consumo. Se considerarán también envases todos los artículos desechables utilizados con este mismo fin tal como presenta la Ley 11/1997 de envases y residuos de envases.

En general, los alimentos requieren para su comercialización un estricto control de las condiciones en que se procesan, distribuyen y almacenan. Los envases, interponiéndose entre el alimento y el entorno, tienen como misión fundamental reducir la incidencia de los factores externos, protegiendo la integridad del producto y evitando o retrasando la pérdida o deterioro de las características nutritivas, sensoriales y sanitarias que definen su calidad y aceptación para el consumo. El envase se configura así como un elemento fundamental del sistema de conservación de los alimentos (Catalá y Gavara, 2011).

Es así que, en respuesta a los nuevos hábitos de consumo, la industria agroalimentaria ha implementado paulatinamente tecnologías de envasado que garantizan la calidad higiénica de los alimentos y prolongan su vida útil minimizando las alteraciones en los mismos. En este grupo se incluyen los sistemas de envasado en atmósfera modificada que se comercializan como envasados bajo atmósferas protectoras (García *et al.*, 2006).

1.2 ENVASADO EN ATMÓSFERA MODIFICADA (MAP)

El envasado en atmósfera modificada (MAP), se define como una técnica de envasado en la cual se reemplaza el aire atmosférico en un envase por una mezcla de gases diferente, fijándose la proporción de cada componente cuando se introduce la mezcla durante el envasado, pero sin ejercer ningún control posterior durante el almacenamiento. Para cada producto se puede encontrar una composición gaseosa adecuada con diferentes gases y proporciones. No obstante, para muchos productos, se recurre usualmente a la reducción del oxígeno y aumento del dióxido de carbono y/o nitrógeno. La reducción o eliminación de oxígeno se fundamenta en que su presencia es una de las mayores causas del deterioro en alimentos, ya que favorece el crecimiento de microorganismos aerobios, participa en reacciones enzimáticas como el pardeamiento en frutas y verduras, destruye vitaminas como el ácido ascórbico, y participa en las reacciones no enzimáticas de oxidación de lípidos alterando las propiedades organolépticas de numerosos alimentos (Catalá y Gavara, 2011; Brody *et al.*, 2001).

Esta técnica tiene como objetivo mantener la calidad sensorial de alimentos frescos o elaborados y prolongar su vida comercial, que llega a duplicarse e incluso triplicarse con respecto al envasado tradicional en aire sin aditivos y sin prácticamente tratamiento, mediante la regulación de la atmósfera de envasado y la refrigeración (García *et al.*, 2006).

1.2.1 Factores a considerar para el envasado en MAP

Aunque la técnica presenta una aplicación sencilla, existen algunos factores a controlar que plantean ciertas dificultades, ya que el efecto de la composición atmosférica no es igual para todos los productos y condiciones de trabajo (Catalá y Gavara, 2011). En este sentido se deben de considerar los siguientes parámetros:

- Composición, características y estado sanitario del alimento a conservar
- Composición de la atmósfera
- Temperatura de conservación
- Materiales y diseño del envase
- Tecnología de envasado

Todos estos factores están interrelacionados entre sí, puesto que el efecto de los gases atmosféricos sobre los alimentos varía muy significativamente según la naturaleza del alimento, por lo que en la práctica debe estudiarse específicamente cada alimento a envasar, para una selección adecuada de la atmósfera de envasado, como se ejemplifica en la **Tabla 1.1** y establecer así el porcentaje adecuado de cada gas presente en la atmósfera protectora. Asimismo, la temperatura de conservación es muy importante, ya que la velocidad de las reacciones de degradación y el crecimiento de microorganismos se aceleran con la temperatura por lo que en la práctica muchos productos combinan MAP con comercialización bajo refrigeración

Tabla 1.1 Porcentajes de gases recomendados para el envasado en MAP de algunos productos.

Producto	%O₂	% CO₂	% N₂
<i>Productos de panificación</i>	-	50	50
<i>Carnes rojas frescas</i>	40-60	10-20	Resto
<i>Pollo fresco</i>	-	20-30	70-80
<i>Productos de charcutería</i>	-	20-30	70-80
<i>Pescados grasos frescos</i>	-	40-60	40-60
<i>Pescados blancos frescos</i>	10-20	30-40	Resto
<i>Pastas frescas</i>	-	-	100
<i>Quesos frescos</i>	-	30-40	60-70
<i>Manzanas</i>	1-3	1-5	Resto
<i>Aguacates</i>	2-5	3-10	75-80
<i>Fresas</i>	5-10	15-20	50-70
<i>Mezclas de hortalizas</i>	2-4	2-4	Resto
<i>Alcachofas</i>	2-3	4-7	Resto

Las tecnologías desarrolladas para la aplicación de los gases pueden variar según las necesidades del producto y tecnología de conservación aplicada. El método general consiste en la generación de un vacío en el envase previo a la inyección de los gases, y al cierre hermético con una ligera depresión denominado vacío compensado, cuya principal ventaja es la reducción del oxígeno remanente dentro del paquete, gracias al vacío inicial. Los niveles obtenidos son inferiores al 1%.

Cuando los alimentos que se envasan poseen una textura blanda o frágil, como productos de panadería y snacks, se recurre a la técnica de **barrido** que consiste en desplazar el aire alojado en el espacio de cabeza del paquete mediante una corriente continua del gas o gases de interés y cerrar herméticamente cuando se ha sustituido la mayor parte del aire. Este método, sin embargo, presenta una concentración de oxígeno residual superior que puede llegar a valores del 2-5%, por lo que no se recomienda para productos fácilmente oxidables (García *et al.*, 2006).

Otras posibilidades para conseguir una modificación activa de la atmósfera interna del envase son la incorporación de sustancias capaces de eliminar o emitir ciertos gases como absorbedores de oxígeno, absorbedores de humedad, generadores/absorbedores de dióxido de carbono, etc. (<http://www.carbuos.com/industries/FoodBeverage.aspx>, acceso 4/6/2016).

1.2.2 Inconvenientes del envasado en MAP

A pesar de las numerosas ventajas que presenta el envasado en atmósfera modificada con respecto al alargamiento de la vida útil, también presenta algunos inconvenientes que se han de considerar, entre ellos se encuentran (García *et al.*, 2006):

- Una buena elección de la atmósfera interna para garantizar la conservación del producto.
- La atmósfera que rodea al alimento no puede controlarse una vez que se ha cerrado el envase, por lo que no hay control del intercambio de gases a través del material de envasado, ni de los cambios que se producen en la atmósfera por el metabolismo del propio alimento.
- Se requiere más espacio para el transporte y exposición del envase puesto que tienen un volumen mayor.
- Pueden producirse problemas de colapso en el envase.
- El coste de los gases y la inversión inicial son elevados.
- Los métodos analíticos para el control de fugas son muy costosos y específicos.

1.2.3 Nuevos envases

Con el objetivo de dar solución a los inconvenientes presentados en el epígrafe anterior, se han desarrollado opciones más innovadoras para compensarlos como son el envasado activo y el envasado inteligente.

El **envasado activo**, es un envase que actúa como un sistema coordinado con el alimento para mejorar la seguridad y la calidad del mismo, al que se le han adicionado componentes deliberadamente para mejorar el comportamiento del sistema envase/alimento, realizando un efecto deseado sobre el contenido, y/o actuando para corregir los defectos propios de un envase. En este grupo se incluyen algunos sistemas de control de la oxidación en alimentos que corresponden a sistemas activos que retienen o eliminan este componente del espacio de cabeza o que incorporan antioxidantes para controlar los procesos oxidativos en el alimento envasado. Los agentes activos secuestradores de oxígeno son generalmente metales y óxidos (-Fe, FeO, Mn, Zn...), antioxidantes naturales (ác. ascórbico), enzimas y levaduras inmovilizadas. Un ejemplo que se comercializa actualmente es el Ageless® (**Figura 1.1**) que actúa consumiendo oxígeno y por tanto reduciendo la concentración del gas remanente en el espacio de cabeza de alimentos envasados sensibles a la oxidación hasta valores del orden del 0,01%.



Figura 1.1 Fotografía de un secuestrador de oxígeno comercializado por la marca Ageless®

Este tipo de productos, a pesar de ser muy útiles porque actúan de forma controlada durante el almacenamiento, presentan algunos inconvenientes como es su aplicación, puesto que normalmente se presentan en pequeñas bolsas junto al alimento lo cual tiene connotaciones negativas para el consumidor ya que es un elemento extraño, además de suponer algunas veces un coste añadido al envase.

Paralelamente, se están desarrollando otras formas de envasado más innovadoras, que corresponden a los **envases inteligentes**. Según el Reglamento (CE) Nº 450/2009, los materiales y objetos inteligentes son “aquellos que controlan el estado de los alimentos envasados o de su entorno”. Su objetivo principal es facilitar la información y comunicación con la finalidad de tomar las decisiones adecuadas para mantener la calidad, seguridad y vida útil. Ejemplos representativos de estos envases son biosensores, indicadores de tiempo y temperatura e indicadores de gases. En este último grupo se encuentra el objeto de desarrollo de este trabajo.

1.3 SENSORES DE OXÍGENO

Como se ha explicado anteriormente, a pesar de reducir la concentración de oxígeno con un gas inerte, en el envasado en MAP la concentración de oxígeno remanente en el espacio de cabeza de los envases continúa siendo significativa (2%). Este nivel de oxígeno residual puede también incrementarse con el tiempo debido a causas como son un sellado insuficiente o la permeación de oxígeno atmosférico a través del material de envasado. Con el objetivo de reducir dichos problemas y asegurar una cantidad mínima de oxígeno residual, se han desarrollado complementos para el envase con el fin de dar solución a dicho problema.

Los **envases inteligentes**, cuya finalidad es informar de algún cambio que se está produciendo en la atmósfera que rodea al alimento y que está relacionado con su calidad y seguridad, poseen una forma de actuación que consiste en proporcionar una respuesta sencilla cuando detectan algún cambio que por lo general se manifiesta como un cambio de color. Los indicadores o sensores presentan la ventaja de que no interactúan con el alimento, sino que indican que el envase y el producto contenido están o no en condiciones. En este sentido un sensor de oxígeno debe detectar fugas, discontinuidades o fallos de diseños que conlleven un incremento no previsto del oxígeno presente en el espacio que rodea al alimento, garantizando la calidad e integridad del alimento en el momento del consumo.

Este sistema, además, supone un gran ahorro económico para la industria si funciona eficazmente, puesto que las técnicas para el control de calidad en MAP son costosas y requieren equipos analíticos sofisticados como son los Cromatógrafos de Gases o bien Espectroscopia infrarroja (FTIR), además de un operario entrenado para realizarlas. Por ello, se les exige a los sensores de oxígeno unos requisitos específicos que son los siguientes (Mills, 2005):

- Debe ser económico y no suponer un coste adicional al envase.
- No debe requerir técnicas analíticas para su interpretación, puesto que debe ser interpretada por una persona sin formación específica.
- No debe ser tóxico ni presentar un posible riesgo de migración al alimento.
- Debe ser fácilmente ajustable con respecto a la sensibilidad de oxígeno de 0,1 -2% según el alimento.
- Debe presentar una vida útil larga en condiciones ambientales.
- Debe presentar una reacción irreversible al oxígeno.
- Debe ser fácilmente incorporado al envase.

1.3.1 Actuales sensores de oxígeno

Las variantes existentes en el desarrollo de sensores son muy amplias puesto que pueden variar en el formato del sensor, el tipo de respuesta, el mecanismo de reacción, y la formulación. Pero para este caso, se distinguen dos tipos claros según la respuesta que proporcionan: sensores basados en luminiscencia y sensores colorimétricos.

a) Luminiscencia:

Basados en el fenómeno Quenching fluorescente o desactivación fluorescente, en el cual el oxígeno molecular actúa como desactivador químico provocando la pérdida de intensidad fluorescente que emite una especie luminófora excitada electrónicamente. Las ventajas de este tipo de sensor son que cumplen el requisito de ajustar la respuesta a la concentración de oxígeno. Pero presentan el

inconveniente de que requieren de instrumentos analíticos para interpretar la respuesta del sensor y no del ojo humano. Además, son reversibles (Papkovsky *et al.*, 2000); (Mills,2005).

b) Colorimétricos:

b.1) Complejos de oxígeno:

Se basan en complejos de oxígeno ya existentes que cambian de color con la presencia de oxígeno, como por ejemplo el paso de deoximioglobina (rojo púrpura) a oximioglobina (rojo vivo). Este tipo de sensor presenta como ventaja que el colorante es un biocomponente de fácil obtención, pero por ello también es sensible a los cambios de temperatura por lo que para que funcione correctamente debe almacenarse a temperaturas de refrigeración, ya que la respuesta que proporciona se ve fácilmente alterada por la temperatura. Por otra parte, la reacción es reversible (Zhujun y Zeits, 1968); (Chung *et al.*,1995).

b.2) Redox:

Los sensores redox están basados en un colorante redox colorimétrico. Un ejemplo que se comercializa en la actualidad es el Agelesseye® basado en azul de metileno como colorante redox, glucosa en solución alcalina como agente reductor y un colorante no redox, Acid Red 52, que proporciona un color rosa base al indicador. Este indicador se comercializa en forma de pastilla junto con un secuestrador de oxígeno que actúa previamente reduciendo la concentración de oxígeno en el espacio de cabeza del envase, de modo que el sensor actúa como garantía de que la atmósfera que rodea al alimento permanece con ausencia de oxígeno. Este indicador posee una sensibilidad muy elevada y su tiempo de reacción es relativamente corto, cambiando de color cuando la concentración supera el 0,1% de oxígeno en 2-3 horas y en 5 minutos cuando se supera la concentración de 0,5% O₂. Su mayor inconveniente es el coste que supone (0,77 € c/u), también lo son las condiciones de almacenamiento puesto que es sensible a la humedad y ha de conservarse en condiciones anaerobias y, finalmente, la reversibilidad (Mills, 2005); (<http://www.mgc.co.jp/eng/products/abc/ageless/eye.html>, acceso 1/06/2016).

b.3) Redox con activación por luz

Estos sensores se basan en la reducción de un colorante fotoexcitado por parte de un donante de electrones de sacrificio y su posterior recuperación de color cuando el colorante se oxida. Los colorantes más utilizados para estos casos han sido la proflavina, porfirinas y riboflavina. Ésta última, por ejemplo, es altamente fluorescente en su estado oxidado, y no fluorescente en su estado reducido, haciendo que el sistema indicador proporcione una respuesta muy clara sobre la presencia de oxígeno y aún más eficaz cuando se utiliza técnicas fluorimétricas para detectar la respuesta del sensor. Otros colorantes con los que se ha trabajado ha sido el colorante redox azul de metileno que se activa por luz UV-Vis a color blanco siempre que no haya oxígeno, y recupera su color azul al ser expuesto a la presencia de oxígeno. Este último desarrollo presenta muchas características atractivas incluyendo: capacidad de almacenamiento (no es un indicador hasta que no se activa con luz y no tiene componentes que reaccionen fácilmente con el oxígeno), cambio de color óptico, irreversibilidad y reutilización. Por esta razón se ha escogido como colorante para el desarrollo de este trabajo.

1.4 PRINCIPALES COMPONENTES DEL SENSOR DESARROLLADO

1.4.1 Azul de metileno

El azul de metileno o cloruro de metiltionina ($C_{16}H_{18}ClN_3S$), es un colorante orgánico cuyo estado sólido se encuentra en forma de cristales o polvo cristalino. Presenta un color azul oscuro, con brillo bronceado. Sus características se fundamentan en que es inodoro y estable al aire, y cuando se encuentra en disolución en agua o en etanol ésta adquiere una coloración azul intensa. Es soluble en agua y cloroformo y moderadamente soluble en etanol (Bautista Suárez, 2011).

Este compuesto tiene una amplia gama de aplicaciones, en otros tiempos fue utilizado como colorante para la seda y algodón. Además, presenta una afinidad para diferentes bacterias a las que colorea selectivamente en los tejidos normales, de ahí su uso en microbiología para el reconocimiento de infecciones bacterianas. Pero, además, posee también débiles propiedades antisépticas, por lo que se utiliza como producto farmacéutico. Finalmente, y a causa de la facilidad con la que se reduce formando una leucocombinación (incolora), se puede utilizar como aceptor de hidrógeno que se reconoce fácilmente por su decoloración a su forma leuco, en las reacciones bioquímicas de óxido-reducción o redox (Klages, 2005).

Esta última propiedad es la que determina su capacidad para su participación en el desarrollo de sensores colorimétricos de oxígeno.

1.4.2 Dióxido de Titanio

Se define el dióxido de titanio (TiO_2) como un óxido de metal de transición que forma diferentes polimorfos en el que el tamaño de los cristales y la morfología juega un papel importante en el comportamiento de dicho material. El TiO_2 presenta dos polimorfos muy importantes, el rutilo (estable) y la anatasa (metaestable), cada uno de ellos con diferentes propiedades.

Sus aplicaciones derivan de su elevada blancura, se utiliza como colorante alimentario, pasta de dientes o fabricación de cosméticos. La causa de su blancura se debe al elevado índice de refracción de las fases anatasa y rutilo, lo cual resulta en una alta reflectividad en las superficies (Andrés León, 2004). Pero su mayor aplicación es como fotocatalizador, es decir, posee la propiedad de promover reacciones químicas en presencia de luz ultravioleta, que de otro modo serían imposibles o muy lentas (Tuesta y Gutarra, 2004).

Esta propiedad se debe a que es capaz de producir transiciones electrónicas por absorción de luz en el ultravioleta cercano, debido a que su salto de banda es de 3.23 eV (Domènech *et al.*, 2001); (Thurnauer *et al.*, 2001).

1.4.3 EVOH

El copolímero de etileno y alcohol vinílico, EVOH, es un polímero que se caracteriza principalmente por su baja permeabilidad a gases, grasas, aceites y aromas y sus excelentes propiedades físicas y ópticas, aunque debido a su carácter hidrófilo, es muy sensible al agua y sus propiedades barrera se ven muy afectadas por la humedad.

Este polímero se obtiene mediante hidrólisis del copolímero de etileno y acetato de vinilo (EVA). Las cadenas de EVA están formadas por las unidades constitucionales de ambos monómeros distribuidas estadísticamente. Los copolímeros EVOH se clasifican según su fracción molar de etileno, siendo las formulaciones más comúnmente utilizadas las que contienen una fracción molar de etileno de 26 a 48%.

Estos copolímeros combinan el carácter hidrofóbico del etileno y el comportamiento hidrofílico del alcohol vinílico. Las excelentes propiedades barrera de este copolímero se derivan de la presencia en su estructura de grupos hidroxilo que le confieren una elevada cohesión intermolecular, reduciendo el volumen libre entre las cadenas disponibles para el intercambio de gases. Sin embargo, los grupos -OH también son responsables de la naturaleza hidrofílica del polímero, de manera que, a mayor porcentaje de monómero alcohol vinílico, mayor influencia de la humedad en las propiedades barrera y peor procesabilidad tendrá el copolímero. Por otra parte, altos contenidos de etileno disminuyen su temperatura de procesamiento (López de Dicastillo, 2011).

El EVOH suele utilizarse en el envasado de alimentos por sus bajos valores de permeabilidad al oxígeno, pero debido a su sensibilidad a la humedad, en la mayoría de aplicaciones se utilizan estructuras multicapa en las cuales el EVOH se encuentra franqueado entre dos láminas de materiales hidrofobos, como por ejemplo en el material coextruido PP//EVOH//PP. Recientemente, se está empleando en numerosas aplicaciones como matriz para el desarrollo de envases activos gracias a su solubilidad en mezclas hidroalcohólicas y a su carácter hidrófilo (Catalá et al., 2015).

1.4.4 Glicerol

El glicerol o propanotriol ($C_3H_8O_3$) es un compuesto alcohólico al que, por su composición estructural, se le atribuyen propiedades higroscópicas y plastificantes. Estas características se deben a que disminuye la temperatura de transición vítrea de polímeros hidrófilos (entre ellos los hidrocoloides), cambiando su comportamiento reológico debido a que logra movilizar moléculas, dando plasticidad al material.

Los plastificantes solubles en agua como el glicerol son efectivos agentes suavizantes para películas, ya que mejoran la flexibilidad de las películas resultantes. Cuanto más se incluye una sustancia plastificante en una matriz polimérica, la elongación y la deformación se incrementan mientras que el esfuerzo de ruptura disminuye (Enríquez et al., 2012).

Para este caso, el glicerol cumple una doble función ya que además de actuar como plastificante y fomentar el carácter hidrófilo del polímero, actúa por su capacidad de oxidarse a gliceraldehído y facilitar el paso del azul de metileno a la forma leuco como se explica en el siguiente apartado.

1.5 MECANISMO DE REACCIÓN DEL SENSOR

La naturaleza de la reacción que provoca el cambio de color en los sensores es una fotocatalisis, que según la IUPAC, "es una reacción catalítica la cual involucra la absorción de luz por parte de un catalizador o sustrato". Este proceso se basa en la absorción directa o indirecta de energía radiante, visible o UV, por un sólido semiconductor de banda ancha, es decir, un material con valor de energía de activación mayor respecto a otros materiales; el cual modifica la velocidad de reacción química sin ser involucrado. Se debe mencionar la presencia fundamental de O_2 , debido a que sin su presencia se produce una supresión casi total de la actividad fotocatalítica (Martínez Hernández, 2010).

Para que la fotocatalisis se produzca es necesaria la activación (excitación) del material semiconductor mediante radiación, que para el dióxido de titanio (TiO_2) esta excitación se lleva a cabo por absorción de los fotones de la radiación UV, generándose pares electrón-hueco. Los huecos se rellenan mediante un donante de electrones de sacrificio que es el glicerol que se oxida a gliceraldehído. De esta manera, el TiO_2 se queda cargado negativamente y ese exceso de electrones son los responsables de reducir el azul de metileno (azul) a su forma leuco (blanca). Esta reacción se revierte en presencia de oxígeno, que oxida el leuco-azul de metileno a su forma oxidada azul de metileno. Este mecanismo se encuentra sintetizado en el esquema de la **Figura 1.2**.

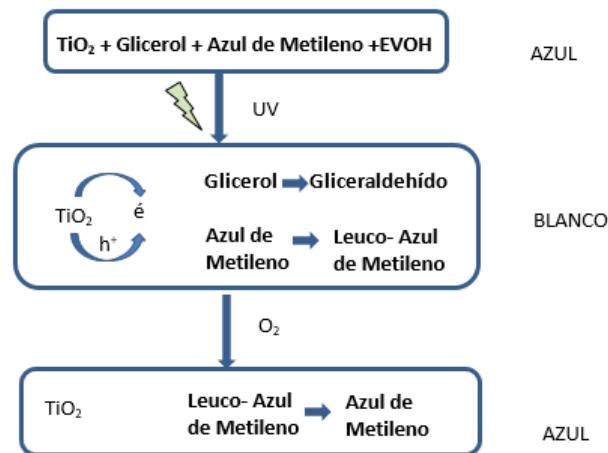


Figura 1.2 Mecanismo de la reacción redox.

2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

El objetivo general del presente trabajo es desarrollar y caracterizar un sensor colorimétrico de oxígeno, para el diseño de envases inteligentes para alimentos.

Para conseguir este objetivo básico, se proponen los siguientes objetivos específicos:

- Desarrollo de un sensor en base al copolimero EVOH y azul de metileno
- Caracterización de las propiedades del sensor y de su capacidad de detección
- Validación de su viabilidad como sistema de envasado inteligente

Para llevar a cabo estos objetivos, se establece un plan de trabajo que abarca las siguientes actividades:

1. Obtener películas de EVOH aptas para formar sensores
2. Caracterizar las películas
3. Obtener sensores a partir de las películas
4. Estudiar las propiedades estructurales de los sensores
5. Evaluar el cambio colorimétrico de los sensores
6. Determinar el límite de detección de los sensores

7. Estudiar la migración de azul de metileno del sensor
8. Aplicar los sensores en un alimento real

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

- 1-Propanol. Panreac Química S.L.U (Barcelona, España)
- Ácido Acético Glaciar. Scharlau (Barcelona, España)
- Ácido poliláctico (PLA). Q4 Packaging System S.L (Valencia, España)
- Agua des ionizada Milli-Q Plus. Millipore (Molsheim, Francia)
- Azul de Metileno. Sigma- Aldrich (Barcelona, España)
- Copolímero etileno-alcohol vinílico con porcentaje molar de etileno de 29 (EVOH). The Nippon Synthetic Chemical Company (Osaka, Japón)
- Copolímero PET/SiOx/PET de 30 μm de espesor. Tetra laval food
- Dióxido de Titanio micronizado. Guinama (Valencia, España)
- Etanol Absoluto. Sharlau (Barcelona, España)
- Glicerol. VWR International S.A.S. (Barcelona, España)
- Metanol Absoluto HPLC. Scharlau (Barcelona, España)
- Polipropileno biorientado de 30 μm de espesor. Envaflex S.A. (Zaragoza, España)
- Sacabocados
- Sensores medidores de oxígeno. MOCON OpTech®-O2 Platinum. MOCON Inc. (Minnesota, EEUU).
- Sílice pirogénico hidrófilo. Wacker (Burghausen, Alemania)
- Varillas de extensión 100 μm , 150 μm

3.2 EQUIPOS

- Agitador magnético con placa calefactora, de temperatura y velocidad de agitación regulables, modelo RTC basic; IKA-Werke GmbH y Co. KG (Staufen, Alemania).
- Balanza analítica modelo Voyager V11140 precisión 0,1 mg. Ohaus Corp. (Pine Brook, NJ, EEUU)
- Baño de ultrasonidos modelo Ultrasons. J.P. Selecta S.A. (Barcelona, España).
- Colorímetro Konica Minolta CM-3500. Minolta Camera Co (Osaka, Japón)

- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) Agilent 1200 Series, equipado con un detector UV-Vis DAD modelo G1315A y columna de fase reversa Phenomenex Gemini 5 μm , c6-Phenyl de 150 x 4,6 mm. Micron Analítica (Madrid, España)
- Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas (GC-MS), modelo 5972 de Agilent con columna capilar de 30 m, 0.32 mm, 0.25 μm TRB-5MS (Teknokroma, Barcelona).
- Espectrofotómetro UV-Visible Agilent 8453 Spectroscopy con software Agilent ChemStation for UV-Visible Spectroscopy Agilent Technologies (Barcelona, España).
- Estufa calefactora 80°C. J.P Selecta (Barcelona, España)
- Generador de descargas eléctricas de efecto corona modelo BD-20AC. Electro-Technic Products, Inc. (Chicago, IL, EEUU).
- Lámpara de halógenos de diseño propio dotada de 5 bombillas (50.000 luxes) y un ventilador.
- Máquina envasadora a vacío. Multivac C-350. (Barcelona, España)
- Medidor de oxígeno en espacio de cabeza MOCON OpTech®-O2 Platinum. MOCON Inc. (Minnesota, EEUU).
- Micrómetro digital modelo ABSOLUTE Digimatic Indicator ID-C Series 543, montado sobre un stand de acero modelo 7002-10. Mitutoyo America Cor. (Aurora, IL, EEUU).
- Microscopio electrónico de barrido (SEM) modelo S-4100. Hitachi Ltd. (Tokio, Japón).
- Reómetro Rheostress 1 ThermoHaake. Thermo Electron (Karlsruhe) GmbH (Vigo, España)
- Termoselladora Sealboy Magneta 420 SBM. Audition Elektro (Netherlands).
- Ultraturrax T25. IKA Works Inc. (Staufen, Alemania)

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Preparación de películas de EVOH

Para la preparación de los sensores se ha elegido el copolímero etileno-alcohol vinílico con porcentaje molar etileno de 29. Inicialmente se prepara una disolución de EVOH 29 utilizándose como solventes 1-propanol y agua en proporción 1:1. La mezcla se calienta a 75°C con agitación magnética y reflujo para evitar un exceso de pérdidas por evaporación durante un tiempo aproximado de tres horas hasta completar la disolución del polímero.

A continuación, se adiciona un porcentaje en peso con respecto al polímero del resto de componentes: glicerol, dióxido de titanio y azul de metileno y se mantiene en agitación durante 15 minutos. Las proporciones y el momento en el que se adicionan cada uno de estos componentes vienen determinadas por el método elegido según las **Tablas 3.1 y 3.2**. Una vez transcurrido ese tiempo la mezcla se lleva a un baño de ultrasonidos durante 30 minutos para facilitar la homogenización y posterior agitación durante otros 15 minutos para optimizar la homogeneidad de la mezcla.

Tabla 3.1. Métodos de obtención de películas.

NOMBRE DEL MÉTODO	PROCEDIMIENTO
MÉTODO GENERAL	<ul style="list-style-type: none"> - Disolución de EVOH - Adición de componentes - Agitación 15 min - Ultrasonidos 15 min - Agitación 15 min - Extensión
MÉTODO 1.2	<ul style="list-style-type: none"> - Disolución de EVOH - Mezcla por separado TiO_2 + Agua + Propanol y EVOH + Agua + propanol - Mezcla de ambas disoluciones - Agitación 15 min - Ultrasonidos 15 min - Adición de azul de metileno y glicerol - Agitación 15 min - Extensión
MÉTODO 1.3	<ul style="list-style-type: none"> - Disolución de EVOH - Mezcla en Ultraturrax de la disolución de EVOH + TiO_2 3 min - Agitación 15 minutos - Ultrasonidos (30 min) - Adición Azul de metileno - Agitación (15 min) - Adición glicerol - Agitación (15 min) - Ultrasonidos (30 min) - Extensión
MÉTODO 1.4	<ul style="list-style-type: none"> - Disolución de EVOH - Mezcla de agua + TiO_2 + glicerol - Agitación 15 minutos - Ultrasonidos 30 minutos - Adición azul de metileno - Agitación 15 minutos - Ultrasonidos 15 minutos - Adición 1-Propanol - Agitación - Adición disolución de EVOH - Agitación 15 minutos - Ultrasonidos 30 minutos
MÉTODO 1.5	<ul style="list-style-type: none"> -Disolución de EVOH - Mezcla de TiO_2 + Glicerol + 1-propanol - Mezcla de Agua + Azul de Metileno - Agitación 15 minutos de ambas mezclas - Ultrasonidos 30 minutos de ambas mezclas - Mezcla de las dos disoluciones y adición de la disolución de EVOH - Agitación 15 minutos - Ultrasonidos 30 minutos - Extensión

La obtención de las películas se realiza mediante el método de extensión y evaporación del solvente o *casting*. Para ello, películas de PLA (28x40 cm) se sujetan con una cinta adhesiva sobre una placa de vidrio y se efectúa un tratamiento corona con un generador de descargas eléctricas por toda la superficie de la película de PLA primero en sentido vertical y luego horizontal para facilitar la adhesión del polímero EVOH al PLA. A continuación, se vierten 5 ml de la disolución de EVOH y se extienden homogéneamente con la ayuda de una varilla de extensión de 100 μm sobre la película y se introduce en un túnel de secado a 100°C durante 3 minutos para favorecer la evaporación del solvente.

Finalmente, la película se deja atemperar a temperatura ambiente, se despega del (PLA) con la ayuda de unas pinzas, y se almacenan en placas Petri en oscuridad hasta su posterior utilización.

El método expuesto anteriormente es el método general de obtención de películas de EVOH, pero puesto que este trabajo consiste en la optimización y caracterización de sensores de oxígeno, se realizaron numerosas modificaciones en las concentraciones de todos los componentes, así como del propio método. Dichas modificaciones se exponen en las **Tablas 3.1 y 3.2**:

Tabla 3.2. Concentración del EVOH respecto a peso de disolución y del resto de los componentes respecto al peso de EVOH seco.

NOMBRE DE PÉLICULA	EVOH	GLICEROL	DIÓXIDO DE TITANIO	AZUL DE METILENO
13100-GT	13%	100%	100%	0,35%
7-100-GT	7%	100%	100%	2,65%
7-75-T	7%	100%	75%	2,65%
7-50-T	7%	100%	50%	2,65%
7-25-T	7%	100%	25%	2,65%
7-75-G	7%	75%	100%	2,65%
7-50-G	7%	50%	100%	2,65%
7-25-G	7%	25%	100%	2,65%
777-GT	7%	7%	7%	0,178%
977-GT	9%	7%	7%	0,178%
1177-GT	11%	7%	7%	0,178%
11772-MB	11%	7%	7%	0,356%
11774-MB	11%	7%	7%	0,712%

3.3.2 Estudio reológico

Con el objetivo de definir la concentración óptima de polímero y de los componentes para la obtención de películas y que la formulación sea procesable por técnicas de impresión industrial, se optó por realizar un estudio para caracterizar el comportamiento reológico de las disoluciones.

Para definir la viscosidad de las disoluciones, se utilizó una copa Ford con una capacidad de 25 mL y un cronómetro para medir el tiempo en segundos. El procedimiento consistió en medir el tiempo que transcurre desde que se llena la copa al ras hasta que se vacía por acción de la gravedad.

Las medidas se realizaron por triplicado empleando muestras con diferentes concentraciones de polímero EVOH 2904 y 2908 al 7%, 9%, 11% y 13% de peso de polímero seco.

Para complementar la caracterización reológica de los fluidos, se utilizó un reómetro Rheostress 1 ThermoHaake de tipo cono-placa que se utiliza para productos de alta viscosidad, en el cual la placa superior gira a una velocidad definida y esta rotación es la que fuerza al líquido a fluir. La resistencia

que opone el fluido es la que registra el equipo. Obteniendo una curva de flujo o reograma (curva esfuerzo cortante – gradiente de velocidad) que indica la viscosidad de la disolución. El experimento se realizó por triplicado.

3.3.3 Obtención de sensores

Para la obtención de sensores, las películas obtenidas mediante el método *casting* se extendieron en una plancha de corte y con la ayuda de un sacabocados y un martillo, se perforaron las películas. Con este método se obtuvieron sensores o botones de 10 mm de diámetro, que se almacenaron en placas Petri protegidos de la luz hasta su posterior uso.

3.3.4 Propiedades estructurales de los sensores

Se estudió la estructura interna de las películas sensores, para lo cual se realizó un tratamiento previo de muestra consistente en una rotura criogénica con nitrógeno líquido. A continuación, las muestras fueron fotografiadas en un microscopio electrónico de barrido SEM en la zona de fractura.

El estudio se realizó para muestras con distintas concentraciones de EVOH, dióxido de titanio y glicerol (**Tabla 3.2**).

3.3.5 Pruebas de los sensores

3.3.5.1 Envasado al vacío

Para probar la capacidad de viraje del sensor, fue necesario aislarlo del oxígeno. Para ello se realizaron varias pruebas, incluido su envasado al vacío. Para el envasado al vacío de sensores se fabricaron bolsas de PET/SiOx/PE, para ello se cortaron láminas de PET/SiOx/PE de 20x10 que se doblaron por la mitad y se termosellaron por tres lados, obteniendo así una bolsa de tres selladuras abierta. Se introdujeron 4 sensores de manera simétrica y un sensor para la medida de la concentración de oxígeno (OpTech®-O2 Platinum). A continuación, se utilizó un programa de vacío que reduce la presión interna del envase a 2 mmHg, y cierra la bolsa por termosellado durante 1.5 segundos para el PET/SiOx/PE (tiempos que fueron optimizados previamente para conseguir un cierre hermético). Estos envases de alta barrera aseguran ausencia de oxígeno en el interior del envase. También se realizó el mismo proceso con films de PP, si bien en este caso el tiempo de soldadura fue de 1 s. Con esta bolsa, se hace vacío, pero al ser permeable al oxígeno, el sensor queda expuesto a la concentración de oxígeno existente en el ambiente exterior.

3.3.5.2 Envasado en atmósfera modificada (MAP)

Para el envasado MAP se fabricaron bolsas de PP de 10 cm² mediante el mismo método mediante el cual se obtuvieron las bolsas de vacío. En ellas se introdujeron 4 sensores y un medidor de oxígeno. Las bolsas se envasaron a vacío y se introdujeron en el interior de bolsas de PET/SiOx/PET de 20 cm². Se envasaron con atmósfera modificada MAP, y para ello se utilizó un programa que reduce la presión interna del envase a 2 mmHg y a continuación llena con N₂ gas a 500 mmHg y cierra por termosellado durante 1.5 s.

3.3.6 Activación de los sensores

Para la activación se utilizó una lámpara de diseño propio dotada de 5 lámparas halógenas de 500 w equivalentes a 50.000 luxes y un ventilador. Tras varias pruebas con diversas lámparas, éstas fueron las que produjeron el viraje más rápido. Se colocaron 4 sensores envasados al vacío, dependiendo de los requerimientos del experimento, en bolsas de PET/SiOx/PET o PP colocados en una base de 10 cm de altura, las bolsas se inmovilizaron con cinta adhesiva a la base y se irradiaron durante un tiempo determinado durante el cual se produjo un cambio colorimétrico de azul a blanco.

3.3.7 Estudio del porcentaje de oxígeno presente en las bolsas con sensores

Para este ensayo, cuatro sensores se envasaron a vacío en una bolsa de PET/SiOx/PET de aproximadamente 10x10 cm junto con un medidor de oxígeno colocado en el centro de la bolsa. Tras practicar el vacío, los sensores se irradiaron con una lámpara de halógenos de diseño propio (50.000 luxes) durante un tiempo determinado y se midió el oxígeno en el interior del envase con el equipo MOCON OpTech®-O2 Platinum, tras el vacío y después de irradiarlos (tiempo cero). Finalmente se realizó un seguimiento de la concentración del mismo durante un mes realizando una medida diaria. Este experimento se llevó a cabo por triplicado.

Este ensayo se realizó también para sensores envasados en MAP, como se ha explicado anteriormente en el apartado de envasado en MAP (**epígrafe 3.3.5.2**), 4 sensores se envasaron a vacío junto con un medidor de oxígeno colocado en el centro de la bolsa de PP y se cerró herméticamente. A continuación, se irradiaron durante 1 minuto, y se envasaron en MAP en una bolsa de PET/SiOx/PET junto con un medidor de oxígeno en el interior de esta bolsa. Para controlar la eficacia del envasado, se midió la concentración en el interior de la bolsa de PP y en el exterior en contacto con el gas (N₂) utilizando el medidor de oxígeno, se realizó un seguimiento de la concentración del mismo durante las primeras seis horas, y a continuación un seguimiento diario durante un mes realizando una medida diaria. Este experimento se llevó a cabo por triplicado.

3.3.8 Propiedades ópticas

El color de los sensores se determinó mediante el uso de un colorímetro Konica Minolta CM 3500d con la finalidad de observar las diferencias colorimétricas entre sensores con diferentes cantidades de azul de metileno, así como medir la evolución de color que experimentan los mismos cuando tras ser irradiados y envasados se ponen en contacto con oxígeno.

Las medidas se realizaron frente a un blanco estándar, sobre una máscara de medición de 8 mm, obteniendo los resultados en el espacio CIEL*a*b* y utilizando como referencia un observador 10° e iluminante D65.

Los parámetros que se midieron fueron L* (luminosidad L*=0 [negro] y L*=100 [blanco], a* (-a*= contenido de verde, +a*= contenido de rojo), b* (-b*=contenido en azul, +b*=contenido en amarillo).

También se cuantificó la saturación (*chroma*, $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$) y el tono ($h = \arctg [b^*/a^*]$) a partir de las coordenadas de color a* y b*. Las medidas de color, se realizaron por triplicado.

3.3.10 Cuantificación de la migración de azul de metileno al alimento

Con la finalidad de estudiar la migración del componente azul de metileno al alimento envasado, se realizaron tres ensayos para simular la migración del mismo. El primer experimento consistió en someter a los sensores a un programa de esterilización. Para ello se envasaron a vacío cuatro sensores en bolsas de PP y se introdujeron en un frasco de vidrio con 100 mL de agua. A continuación, se autoclavaron los frascos a 121 °C durante 15 min. El experimento se realizó por triplicado.

Así mismo, también se realizaron otros dos experimentos más utilizando simulantes alimentarios. Para ello, cuatro sensores envasados en bolsas de PP se introdujeron en el interior de un frasco de vidrio herméticamente cerrado con 100 mL de una disolución de ácido acético al 3 % (v/v) simulante de alimentos ácidos con pH inferior a 4.5 y/o 100 mL de una disolución de etanol al 10% (v/v) simulante de alimentos de carácter hidrófilo (Reglamento (UE) N° 10/2011). Los frascos fueron almacenados en oscuridad en una estufa con temperatura fija de 40 °C durante un tiempo limitado de 10 días. Estos experimentos se llevaron a cabo por triplicado.

Para cuantificar la migración de azul de metileno al líquido de gobierno, se recurrió al uso de técnicas espectrofotométricas y cromatográficas. Para poder cuantificar las muestras se hizo previamente un calibrado con cantidades conocidas de azul de metileno realizando un blanco con el correspondiente líquido de gobierno en cada caso. La medida se realizó por triplicado con un espectrofotómetro UV-Visible Agilent 8453 a una longitud de onda fija de 660 nm obteniendo datos de absorbancia. Dado que la sensibilidad del espectrofotómetro era insuficiente para la determinación de azul de metileno, se realizó también la determinación de azul de metileno mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), mediante un cromatógrafo Agilent 1200 Series equipado con un detector UV-Visible, utilizando como fase móvil ácido al 10 % (v/v) (solución A) y metanol al 100% (v/v) (Solución B) en forma de gradiente desde 0 a 15% de la solución A con un caudal de 1.0 mL/min, la temperatura de columna fue prefijada a 25°C. Se utilizó como fase estacionaria una columna C6 de fase reversa cuyas medidas son 250 mm x 4,6 mm con un tamaño de partícula de 5 µm. La longitud de onda elegida para la detección de azul de metileno fue de 664 nm.

3.3.9 Aplicación práctica a un alimento

Con el objetivo de aplicar el sensor a un alimento real y comprobar su funcionalidad, se eligió leche deshidratada maternizada para realizar el experimento porque es un alimento graso sensible a la oxidación.

Para ello, se envasaron por MAP 20 g de leche en bolsas de 200 cm² de PET/SiOX/PET, en cada una se colocaron dos sensores y un medidor de oxígeno. Los sensores se colocaron entre 2 capas de polímero una permeable a gases, en contacto con el alimento (LDPE blanco), y la otra barrera en contacto con el exterior de PET/SiOX/PET. Para su aplicación en la bolsa se realizaron dos orificios en los que se introdujo el área multicapa y se pegaron con cinta de aluminio autoadhesiva. También se introdujo un sensor OpTech®-O2 Platinum para medir la evolución de oxígeno en el interior del envase junto a la leche.

Los sensores se activaron después del envasado en MAP con luz UV- VIS (**ver epígrafe 3.3.6**), y se realizó un seguimiento de color y oxígeno utilizando las mismas condiciones que en el **epígrafe 3.3.7 y 3.3.8**. Se realizó un seguimiento de ambos parámetros durante las primeras seis horas seguidas a la activación, y a continuación un seguimiento diario durante un mes realizando una medida diaria. El experimento se realizó por duplicado, para 10 muestras.

Para comprobar la evolución de la leche en los envases anteriores, se realizó un análisis del contenido de hexanal, como parámetro indicador de la oxidación producida en el producto. Para su cuantificación, se utilizó la técnica de GC-MS/SPME. Concretamente, la extracción del hexanal, se realizó mediante el uso de una fibra de microextracción en fase sólida (SPME) de tipo CAR-PDMS (Supelco, Sigma, Barcelona) y se introdujo en la bolsa a través de un septum autoadhesivo. Se expuso la fibra de extracción durante 60 min para posteriormente introducirla en el inyector y exponerla durante 5 min. Las condiciones del CG-MS modelo 5972 de Agilent Technologies (Barcelona) fueron: temperatura de inyector 210°C, inyección *splitless*, columna capilar de 30 m, 0.32 mm, 0.25 µm TRB-5MS (Teknokroma, Barcelona), con las siguientes condiciones cromatográficas: Helio como gas portador, rampa de 5 min at 40 °C, hasta 60 °C a 3 °C/min, hasta 200°C a 10 °C/min, y 5 min a 200 °C. El hexanal fue identificado por comparación con el espectro de masas de la base de datos de referencia (NIST 98), y por comparación con la inyección del compuesto puro. No se realiza calibrado por lo que se comparan áreas de integración del pico correspondiente.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS DISOLUCIONES

El conocimiento de las características y parámetros reológicos de los productos es necesario en ingeniería de procesos para el diseño o la elección de equipos, o bien como en este caso, para adecuar el producto a los equipos con los que cuenta la industria. Para poder escalar la producción de sensores a nivel industrial es muy importante controlar la viscosidad de las disoluciones formadoras de las películas dentro de los parámetros válidos para el uso de sistemas de impresión flexográfica o por huecograbado para que la cantidad de material que se transfiere sea adecuada. Por esta razón, se procedió a realizar un estudio reológico con dos polímeros EVOH 2904 y 2908 consistente en establecer la relación entre la concentración de polímero y la viscosidad del mismo y así elegir la concentración que mejor se adecúe a los requerimientos del proceso. En este caso, la viscosidad media que se utiliza en los sistemas de impresión de películas es de 25 s en copa Ford.

Tabla 4.1 Viscosidad en segundos medida en copa Ford, para diferentes concentraciones de EVOH 2904 y 2908.

Concentración (m/m)	EVOH 2904	EVOH 2908
	t_m (s)	t_m (s)
7%	22,00 ± 1,00	22,00 ± 0,00
9%	34,33 ± 1,15 ^a	37,00 ± 0,00 ^b
11%	59,67 ± 0,58 ^b	55,33 ± 0,58 ^a
13%	107,0 ± 0,0 ^b	94,67 ± 1,15 ^a

^{a,b}: letras diferentes en una fila indican diferencias significativas en la viscosidad de los dos EVOH

Para comenzar, se compararon las viscosidades en copa Ford de ambos polímeros a diferentes concentraciones (**Tabla 4.1**). Los resultados obtenidos reflejaron que a medida que aumenta la concentración de polímero, aumenta también la viscosidad de las disoluciones y que la concentración

que mejor se adapta es la de 7% siendo su viscosidad de 22 s. Comparando ambos polímeros, se observa que a partir de una concentración > 9%, la viscosidad del EVOH 2904 es significativamente superior a la del 2908 llegando a ser esta diferencia de hasta diez segundos.

A su vez, también se realizó un estudio reológico para las mismas concentraciones usando un reómetro de estrés controlado Rheostress 1 (Haake, Karlsruhe, Germany) equipado con un baño de refrigeración por circulación de agua Phoenix II P1-C25P (Haake, Karlsruhe, Germany) con una sonda tipo cono-placa cuyo cono poseía un ángulo $\alpha = 1,002$ deg y una ranura de 0,052 mm. Se registraron las curvas de flujo de todas las muestras, es decir, la variación del esfuerzo de cizalla o viscosidad con el gradiente de velocidad, que complementaron la caracterización de las disoluciones.

Como se observa en las **Figuras 4.1 y 4.2** para EVOH 2904 y 2908, respectivamente, la relación entre el esfuerzo cortante (σ) y el gradiente de velocidad ($\dot{\gamma}$) es lineal según describe la ley de Newton, lo cual significa que se trata de un fluido newtoniano para todas las concentraciones estudiadas. Por lo que, para este tipo de fluidos, la pendiente de esta recta coincidirá con la viscosidad, llamada en este caso viscosidad newtoniana, coeficiente de viscosidad o viscosidad dinámica que, es única para el producto en el intervalo de σ y $\dot{\gamma}$ en el que se ha estudiado el comportamiento del producto (Chiralt *et al.*, 2007).

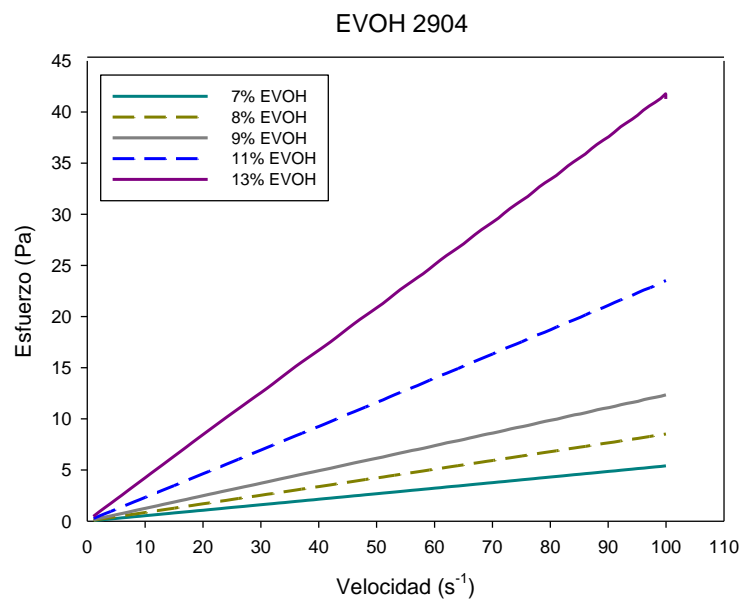


Figura 4.1 Representación gráfica del esfuerzo cortante respecto a la velocidad para EVOH 2904.

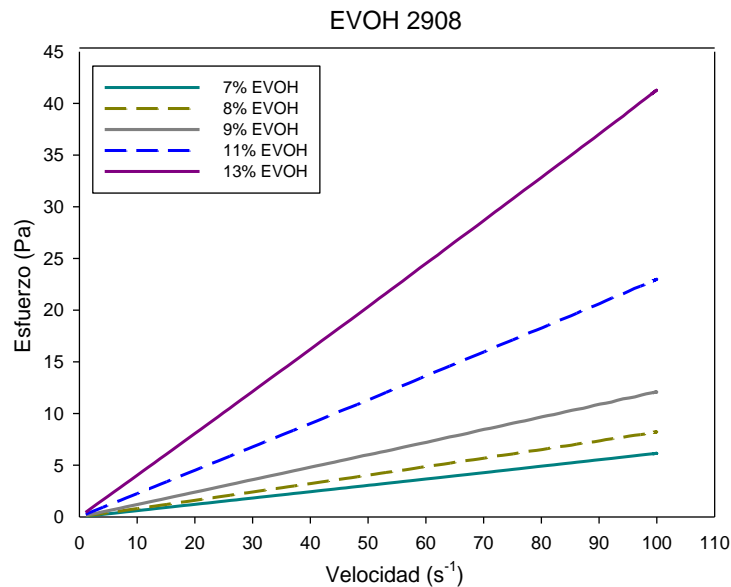


Figura 4.2 Representación gráfica del esfuerzo cortante respecto a la velocidad para EVOH 2908.

Para corroborar que se trata de un fluido newtoniano además de por la pendiente de la recta, se puede ajustar la curva al modelo de Ostwald – de Waele, utilizado para intervalos de gradiente de velocidad en que $\eta \ll \eta_0$ y $\eta \gg \eta_\infty$ (ecuación 1), donde n es el índice de comportamiento al flujo y representa la desviación del comportamiento del fluido respecto al newtoniano. Se puede caracterizar el fluido según el parámetro n .

Así, si $n=1$, el fluido es newtoniano; si $0 < n < 1$ se trata de un fluido pseudoplástico y si $n > 1$ el fluido es dilatante. El parámetro K se conoce como índice de consistencia.

$$\sigma = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

Para este caso, como se observa en la **Tabla 4.2**, el fluido para todas sus concentraciones es, efectivamente, newtoniano puesto que los valores de índice de comportamiento de flujo son ≈ 1 .

Tabla 4.2 Valores del índice de consistencia (k) y del índice de comportamiento al flujo (n) para diferentes concentraciones de EVOH 2904 y 2908.

Concentración EVOH	EVOH 2904		EVOH 2908	
	k	n	k	n
7%	$0,057 \pm 0,004^a$	$0,996 \pm 0,006$	$0,083 \pm 0,020^b$	$0,973 \pm 0,004$
8%	$0,090 \pm 0,052^b$	$0,992 \pm 0,004$	$0,077 \pm 0,014^a$	$0,997 \pm 0,004$
9%	$0,139 \pm 0,013^b$	$0,983 \pm 0,008$	$0,126 \pm 0,006^a$	$0,992 \pm 0,009$
11%	$0,237 \pm 0,002^b$	$0,997 \pm 0,001$	$0,225 \pm 0,003^a$	$1,001 \pm 0,001$
13%	$0,431 \pm 0,008^b$	$0,991 \pm 0,003$	$0,405 \pm 0,006^a$	$1,005 \pm 0,000$

^{a,b}: letras diferentes en una fila indican diferencias significativas en el índice de los dos EVOH

Por otra parte, comparando estos resultados con los obtenidos mediante la copa Ford, se observa que a medida que aumenta la concentración de polímero también aumenta el índice de consistencia (**Tabla 4.2**), y que el polímero EVOH 2904 opone mayor esfuerzo al gradiente de velocidad que el 2908, resultando más viscoso el EVOH 2904 a partir de una concentración del 8%. Las diferencias entre los resultados de ambos métodos se pueden deber a que el reómetro utiliza condiciones normalizadas, es decir, utiliza una temperatura y un gradiente de velocidad que son iguales en todas las medidas por lo que los errores experimentales son prácticamente inexistentes, en cambio, las medidas en copa Ford

no poseen dichas características por lo que cualquier alteración de temperatura o variación en el volumen de llenado puede suponer una alteración en el tiempo de caída, resultando más viscoso el EVOH 2904 para concentraciones >11% en los valores obtenidos mediante la copa Ford.

A pesar de estas diferencias, en ambos casos la concentración del 7% supone una viscosidad adecuada para su aplicación en sistemas de impresión industriales, por lo que se elige esta concentración para la formación de películas por ser la más adecuada a los requisitos industriales.

A continuación, para completar el estudio se procedió a evaluar la influencia individual de dióxido de titanio en la viscosidad de cada uno de los polímeros para una concentración del 7% de EVOH. Para ello, al igual que en el estudio anterior, se realizó primero la medida del tiempo en la copa Ford y a continuación en el reómetro.

Los resultados obtenidos mediante copa Ford (**Tabla 4.3**) reflejaron que las viscosidades de las disoluciones prácticamente no varían ni con la concentración de dióxido de titanio ni con el tipo de polímero, siendo entre 1-2 unidades superior el EVOH 2908 con respecto al 2904.

Tabla 4.3 Viscosidad en segundos medida en copa Ford, para la misma concentración de EVOH 2904 y 2908 y diferentes concentraciones de TiO₂.

Concentración	EVOH 2904	EVOH 2908
	t _m (s)	t _m (s)
25% TiO ₂	20,67 ± 0,58 ^a	20,00 ± 0,15 ^{a,1}
50% TiO ₂	20,00 ± 0,21 ^a	22,00 ± 0,41 ^{b,2}
100% TiO ₂	20,00 ± 0,43 ^a	21,67 ± 0,27 ^{b,2}

^{a,b}: letras diferentes en una fila indican diferencias significativas en la viscosidad de los dos EVOH; ^{1,2}: números diferentes en una columna indican diferencias significativas en la viscosidad por TiO₂

En las **Figuras 4.3 y 4.4** se pueden observar las curvas de flujo obtenidas con diferentes concentraciones de dióxido de titanio.

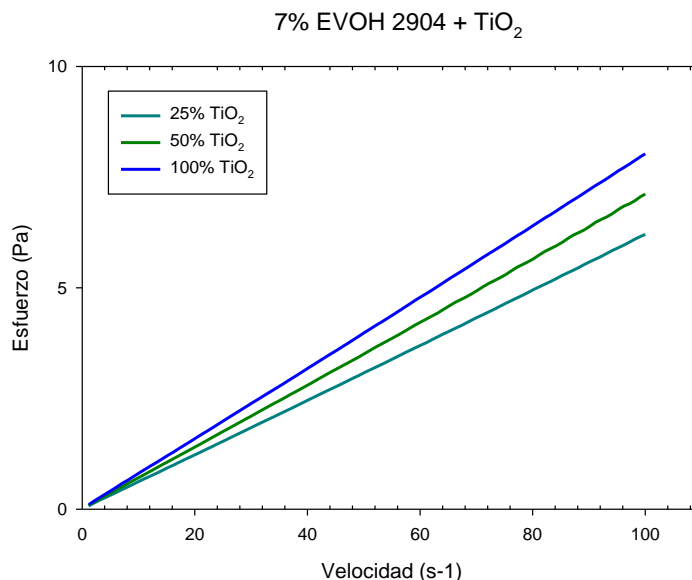


Figura 4.3 Representación gráfica del esfuerzo cortante respecto al gradiente de velocidad para 7% de EVOH 2904 y diferentes concentraciones de TiO₂.

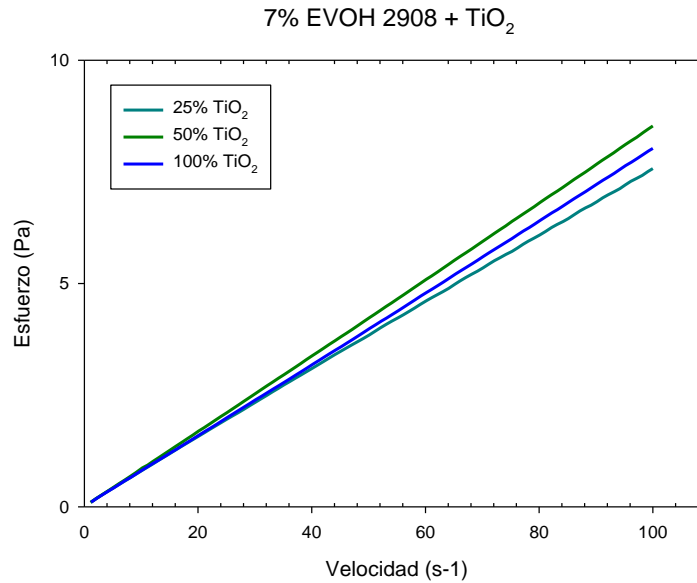


Figura 4.4 Representación gráfica del esfuerzo cortante respecto al gradiente de velocidad para 7% de EVOH 2908 y diferentes concentraciones de TiO₂.

Una vez ajustados las curvas al modelo de Ostwald de-Waele se muestran en la **Tabla 4.4** los valores de los parámetros correspondientes.

Tabla 4.4 Valores del índice de consistencia (k) y el índice de comportamiento al flujo (n) para diferentes concentraciones de TiO₂ y de EVOH 2904 y 2908.

	EVOH 2904		EVOH 2908	
Concentración	k	n	k	n
25% TiO ₂	$0,062 \pm 0,000^a$	$0,987 \pm 0,007^b$	$0,088 \pm 0,000^b$	$0,967 \pm 0,000^a$
50% TiO ₂	$0,067 \pm 0,010^a$	$0,986 \pm 0,007^b$	$0,090 \pm 0,017^b$	$0,968 \pm 0,023^a$
100% TiO ₂	$0,066 \pm 0,004^a$	$0,986 \pm 0,024^b$	$0,086 \pm 0,004^b$	$0,974 \pm 0,022^a$

^{a,b}: letras diferentes en una fila indican diferencias significativas en el índice de los dos EVOH

Al igual que en las muestras sin dióxido de titanio, estas muestras presentan un comportamiento básicamente newtoniano (**Tabla 4.4**). Además, al comparar los valores de K se observó cómo los resultados obtenidos por el reómetro reflejan que para este caso el EVOH 2908 presenta mayor viscosidad que el 2904. Así mismo, tras hacer un análisis estadístico ANOVA, la concentración de dióxido de titanio no tiene ningún efecto significativo sobre los valores de k , por lo que el ligero aumento de viscosidad es insignificante para este caso.

Por lo tanto, por los resultados obtenidos se procede a trabajar con la concentración de EVOH del 7%, y se elige como polímero el EVOH 2904 por ser menos viscoso cuando la mezcla posee dióxido de titanio y de esta manera adaptarse mejor a los requisitos del proceso.

4.2 OBTENCIÓN DE PELÍCULAS

Como se explicó anteriormente en el apartado de materiales y métodos, las películas se obtuvieron de manera general mediante la técnica de extensión y evaporación del solvente o *casting*, y se realizaron numerosas modificaciones sobre las concentraciones de los componentes y del propio método. Los resultados obtenidos de dichas modificaciones se exponen a continuación:

Método general:

El método general se realizó para concentraciones de 13% y 7% de EVOH.

Las películas con un 13% de EVOH y un 100% de TiO_2 resultaron flexibles, pero poco homogéneas como se muestra en la **Figura 4.5A** y **Figura 4.5B**. En la superficie de la película, se observaron manchas blancas debidas a una acumulación de TiO_2 en zonas concretas de la película como resultado de una integración insuficiente y poco homogénea de este componente en la matriz polimérica. El color resultaba intenso, y al manipularlas desteñían azul de metileno. Al observar las películas en SEM, la porosidad y la acumulación de TiO_2 era evidente puesto que las partículas de TiO_2 no se encontraban integradas en la matriz.

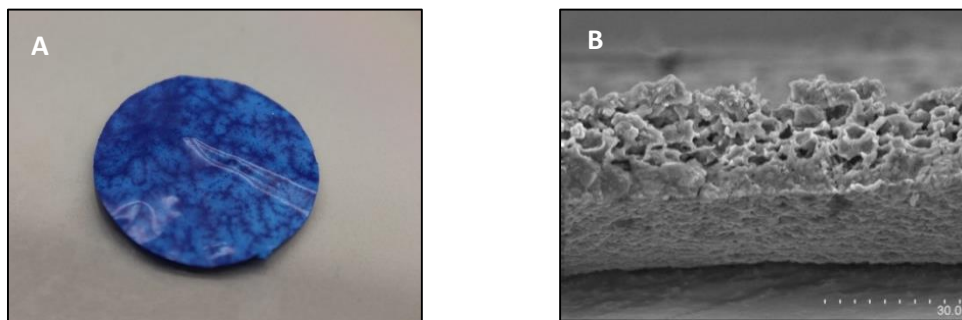


Figura 4.5 Imágenes de la película obtenida por el método general: a) Película 13100GT
b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.

Como se explicó en el apartado de caracterización de las disoluciones, tras hacer el estudio reológico, se procedió a trabajar con películas con una concentración de EVOH al 7% y una concentración del resto de componentes, en peso seco, proporcional a esta reducción de polímero. Las películas que se obtuvieron mediante el método general para dicha concentración del 7% de polímero (m/m) resultaron flexibles, pero al igual que las anteriores, reflejaban problemas de acumulación de TiO_2 en zonas concretas y de repulsión al PLA al realizar la extensión de la película, como resultado de estas repulsiones tras el secado, las películas presentaban superficies irregulares con presencia de agujeros.

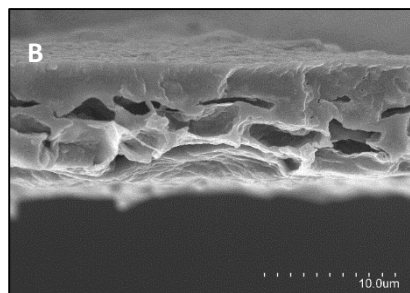
Por esta razón se procedió a estudiar la influencia de los componentes TiO_2 y glicerol modificando las concentraciones de cada uno por separado y manteniendo constante el resto de componentes, con el objetivo de determinar cómo afectaban dichos componentes a la obtención de películas.

Los resultados obtenidos de estos ensayos que se muestra en las **Figuras 4.6 a 4.9**, reflejaron que a simple vista cuanto mayor es la concentración de TiO_2 más homogénea es la superficie de la película y más fáciles de cortar son éstas. Pero cuando fueron estudiadas mediante microscopía, se observó una presencia huecos en la estructura interna, y también a mayor concentración de TiO_2 una menor integración de las partículas de TiO_2 en la matriz.

Con respecto a la influencia del glicerol, se observó que las películas son más flexibles, elásticas y homogéneas a mayor concentración de glicerol (**Figuras 4.10**), siendo de esta forma más manipulables. Esto se debe a que el glicerol actúa como humectante y plastificante por lo que dota de flexibilidad y elasticidad a las películas.



Figura 4.6 a) Película 7-25-T



b) Microfotografía obtenida por SEM de la película

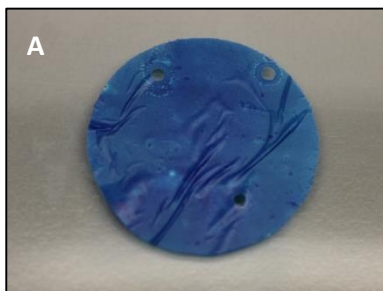
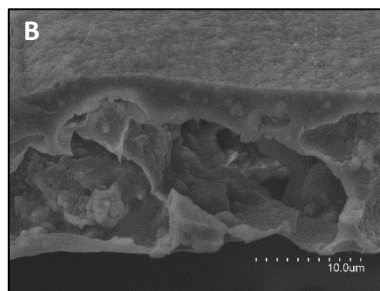


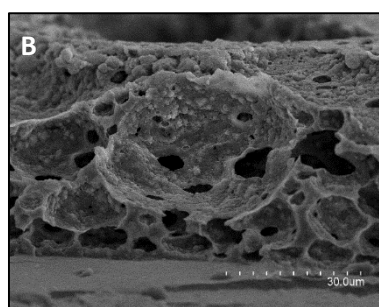
Figura 4.7 a) Película 7-50-T



b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.



Figura 4.8 a) Película 7-75-T



b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.

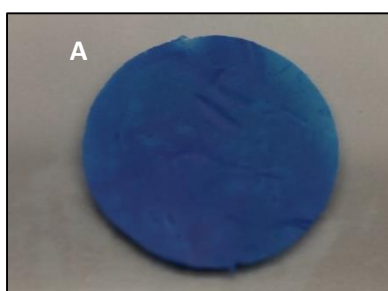
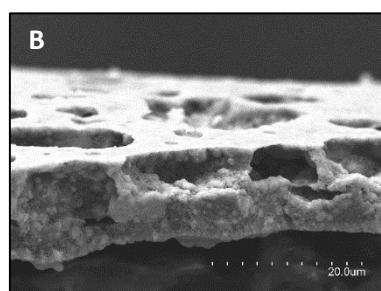


Figura 4.9 a) Película 7-100-T



b) Microfotografía obtenida por SEM de la película



Figura 4.10 a) Fotografía de la película 7-25-G b) Fotografía de la película 7-100-G.

Debido a los resultados obtenidos mediante este experimento, se decidió probar otros métodos (que se resumen en la **Tabla 3.1**), para intentar dar solución a la problemática de la falta de homogeneidad en la superficie de las películas, la presencia de huecos en la estructura interna de las mismas, y la repulsión que se producía en la extensión y secado. Para ello se propuso aumentar el tiempo de tratamiento de ultrasonidos por una parte y probar la adición de componentes progresivamente para facilitar la homogeneización de las disoluciones, y como consecuencia, de las películas.

Primero se probó el método 1.2 (**Tabla 3.1**) consistente en mezclar por separado los componentes, y en cada mezcla dar un tratamiento de agitación y ultrasonidos. Este método se practicó para una concentración de TiO_2 del 25% y 100% con respecto a la original. Como resultado, se observó que las películas con un 25% de TiO_2 no se formaron, no se podían despegar del PLA y las que tenían un 100% de TiO_2 pudieron formarse, pero continuaron presentando poros y acumulaciones de TiO_2 en zonas concretas (datos no mostrados).

A continuación, se probó este mismo método, pero utilizando un ultraturrax con el objetivo de obtener una mezcla más homogénea. Las películas salieron un poco más uniformes, pero continuaron presentando poros y acumulación de TiO_2 (datos no mostrados).

Con los resultados obtenidos de estos tres métodos se llegó a la conclusión de que probablemente la dificultad de obtener películas homogéneas sin presencia de poros, se debía a que la cantidad de polímero (7%) era insuficiente para poder incluir el resto de componentes en la matriz, por lo que se podían realizar dos procedimientos: a) aumentar la concentración de polímero, o bien b) reducir la concentración de TiO_2 y glicerol considerablemente para poder mantener la del polímero. Se optó por practicar la opción b), reduciendo un 93% la cantidad de glicerol y dióxido de titanio con respecto a la original.

En la **Figura 4.11** se muestra la película obtenida siguiendo el método 1.4. Estas películas presentaron un color mucho más claro a simple vista puesto que la cantidad de azul de metileno se redujo. Las películas obtenidas por este procedimiento eran más elásticas y de menor espesor que las anteriores y con una apariencia similar a una película de EVOH control, es decir, una película sólo de EVOH. Además, no se produjeron repulsiones al extender la película, pero sí algunos poros en la superficie tras el secado y algunas acumulaciones de TiO_2 .

Manteniendo estas concentraciones se procedió a realizar el método 1.5 diferenciándose del método anterior en que el TiO_2 se disuelve en propanol en lugar de en agua. La presencia de poros también apareció tras el secado, pero la disolución formadora de películas antes de extender era mucho más homogénea que las anteriores (**Figura 4.12**).

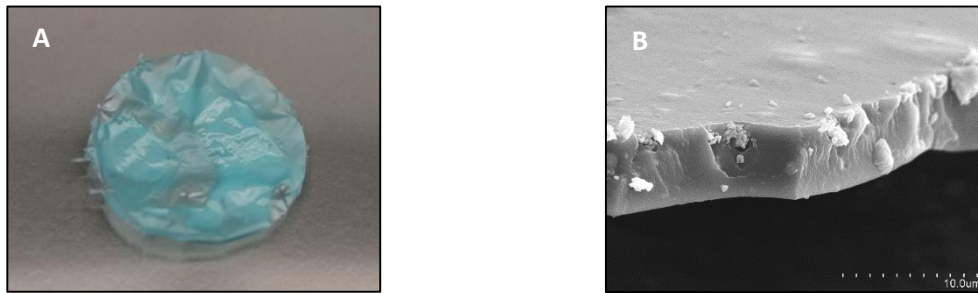


Figura.4.11 a) Película 777-GT obtenida por el método 1.4 b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.

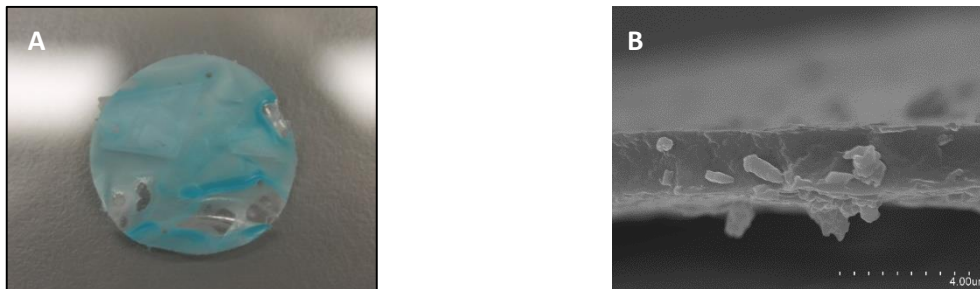


Figura 4.12 a) Película 777-GT obtenida por el método 1.5 b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.

Con el objetivo de disminuir esta presencia de poros se procedió a realizar este mismo procedimiento, para dos concentraciones de EVOH 9 y 11%. Aunque resultaron menos porosas que las del 7%, las películas con un 9% de EVOH (**Figura 4.13**) continuaron presentando irregularidades en la superficie, pero en menor proporción que en los métodos y concentraciones nombradas anteriormente. Particularmente las películas con un 11% de EVOH (**Figura 4.14**) fueron elásticas, flexibles y con una superficie homogénea libre de poros y acumulaciones. Además, al ser observadas en el microscopio SEM (**Figura 4.14B**), la estructura interna se observaba compacta y con los componentes incluidos en el interior de la matriz, sin presencia de estructuras huecas.

Por lo tanto, se deduce que se pueden obtener películas al 7% muy uniformes mediante el método 1.5, pero no de forma experimental con las herramientas del laboratorio, sino utilizando maquinaria industrial capaz de homogeneizar las disoluciones y manejar cantidades mayores de producto.

Por lo tanto, para continuar con el estudio se eligió la película obtenida mediante el método 1.5 denominada 1172MB como la **película definitiva** para este trabajo, por su estructura interna y su superficie uniforme. (**Figura 4.14**).



Figura 4.13. a) Película 977-GT obtenida por el método 1.5 b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.



Figura 4.14 a) Película 1172-MB obtenida por el método 1.5 b) Microfotografía obtenida por SEM de la película.

4.1 ACTIVACIÓN DE SENSORES

Los sensores, se activan al ser irradiados durante un minuto con lámparas halógenas de 500w (50.000 luxes). Durante la activación de sensores se produce una reacción redox sencilla, en la cual el sensor inicial (azul) al ser sometido a luz UV de baja intensidad, excita las partículas del fotocatalizador TiO_2 que crea pares de electrones libres y huecos que son rellenados por electrones del glicerol por lo que las moléculas de glicerol se oxidan a gliceraldehído. El resto de electrones generados reducen al colorante sensible azul de metileno, pasando éste a su forma reducida de color blanco (Martínez, 2010).

Así mismo la reacción es reversible, de manera que cuando el sensor es sometido a la presencia de oxígeno, el colorante sensible azul de metileno se oxida pasando a su forma oxidada azul. Los parámetros que se tuvieron en cuenta para la activación de sensores fueron los siguientes:

- Paso de los sensores a blanco tras ser sometidos a luz UV.
- Tiempo necesario para dicha reducción o cambio de color.

De todas las películas obtenidas anteriormente (**epígrafe 4.2**), se realizaron pruebas de irradiación consistentes en verificar si los sensores se activaban, es decir, cambiaban de color de azul a blanco, y el tiempo necesario para dicha activación.

Como se observa en la **Tabla 4.5**, el tiempo de irradiación aumenta conforme aumenta la concentración de dióxido de titanio, y, de forma análoga, ocurre lo contrario en cuanto a la concentración de glicerol.

Otros autores que han realizado sensores, sugieren que cuanto mayor es la cantidad de dióxido de titanio, mayor es la generación de electrones libres y como consecuencia mayor es el tiempo requerido de irradiación. Por otra parte, los mismos autores sugieren que la concentración de glicerol ha de ser suficiente para oxidar el colorante sensible azul de metileno, puesto que si no lo es el sensor no consigue pasar a su forma reducida (Loong-Tak Lim, 2013).

Por lo tanto, se puede deducir que, el tiempo de irradiación se ve influido por el equilibrio de concentraciones entre todos sus componentes. La optimización del tiempo de irradiación tiene vital importancia para la rapidez del proceso de fabricación / implantación de sensores, por lo que se busca la activación más rápida. En este trabajo, se consiguió el menor tiempo de irradiación con la formulación de la película 977-GT, pero como se explica en el **epígrafe 4.2**, la falta de uniformidad de esta película imposibilita su trabajo en laboratorio, por lo que se continuó trabajando con la película 11772-MB a pesar de presentar un tiempo ligeramente superior de irradiación, pero siendo igualmente bastante rápida ($t \approx 1$ min).

Tabla 4.5 Tiempo necesario de irradiación con luz UV de baja intensidad para que las películas se activen y adquieran el color de la forma reducida.

Película	Tiempo de irradiación (s)
13100-GT	180
7-100-GT	180
7-75-T	150
7-50-T	120
7-25-T	120
7-75-G	150
7-50-G	157
7-25-G	210
777-GT	40
977-GT	40
1177-GT	60
11772-MB	60
11774-MB	65

4.3 ENVASADO DE SENSORES

Se comenzó envasando los sensores al vacío para realizar el seguimiento colorimétrico de los mismos. La aplicación de esta técnica consiste en la reducción del volumen de aire que rodea al producto envasado, lo cual no implica un cambio en la composición pues ésta sigue siendo la atmosférica. Con ello, se reduce el oxígeno disponible y con ello se ralentizan o evitan las reacciones de deterioro en las que participa, por lo que usualmente esta técnica es utilizada para alimentos que son sensibles a la oxidación.

Por esta razón se propuso utilizar esta técnica para el seguimiento colorimétrico de oxígeno, ya que se requería que los sensores se encontraran en una atmósfera libre de oxígeno para poder provocar el viraje de forma controlada. Tras aplicar esta técnica se observó que, a pesar de haber reducido el volumen de aire de las bolsas, la composición de la atmósfera que rodeaba al sensor contenía entre un 1 – 3 % de oxígeno residual.

Como consecuencia, los sensores al encontrarse rodeados de esta concentración de oxígeno viraban de forma descontrolada, como se observa en la **Figura 4.15**.

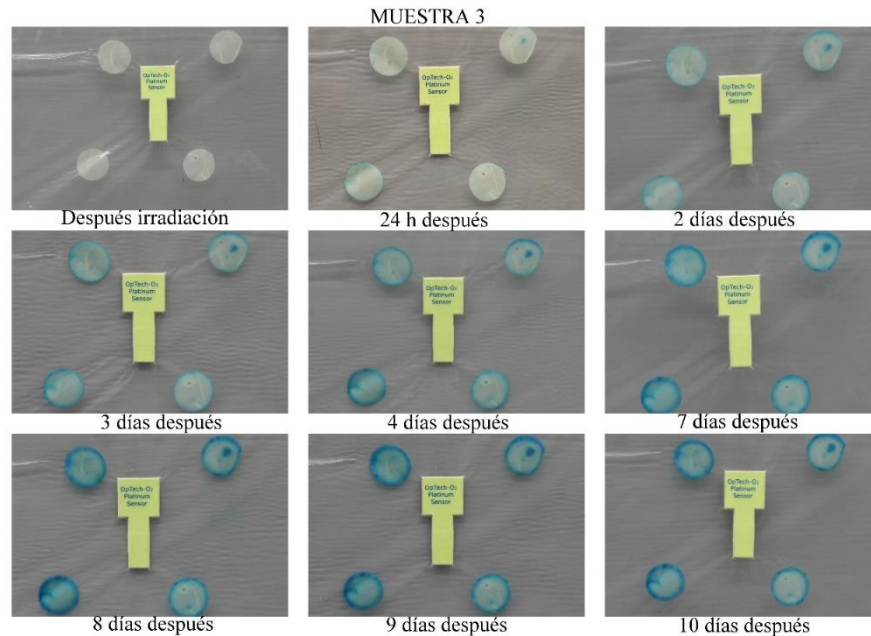


Figura 4.15. Fotografía de sensores envasado al vacío, y su seguimiento durante 10 días.

Para dar solución al problema de la existencia de oxígeno residual se propuso probar el envasado en atmósfera modificada (MAP). La aplicación de esta técnica implica el reemplazo del aire atmosférico en un envase por una mezcla de gases diferentes, con lo cual la proporción de cada componente se fija cuando se introduce la mezcla, pero sin ejercer ningún control posterior durante el almacenamiento. En la práctica comercial se recurre usualmente a la reducción del oxígeno y aumento del dióxido de carbono y/o nitrógeno. Las tecnologías desarrolladas para la aplicación de los gases pueden ser muy diversas y adaptables a las necesidades del producto y tecnología de conservación aplicada. Básicamente, aplicación de vacío previo en el envase e inyección de gases, barrido de la atmósfera del envase con mezclas de gases o bien generación de la atmósfera adecuada mediante modificadores (Catalá y Gavara, 2001).

La composición de la mezcla de gases varía en función de la naturaleza y composición del alimento, por ello para este caso se propuso utilizar como gas de reemplazo N_2 puesto que se utiliza normalmente para el reemplazo de O_2 y CO_2 en alimentos fácilmente oxidables.

Siguiendo el procedimiento descrito en la sección experimental, se consiguieron concentraciones del orden del 0,00 % de O_2 , durante un periodo largo de tiempo (>30 días). En la **Figura 4.16** se muestra como los sensores permanecen en su forma reducida de color blanco al utilizarse este tipo de envasado.

Por esta razón, fue esta técnica de envasado la elegida para realizar un seguimiento colorimétrico de los sensores.

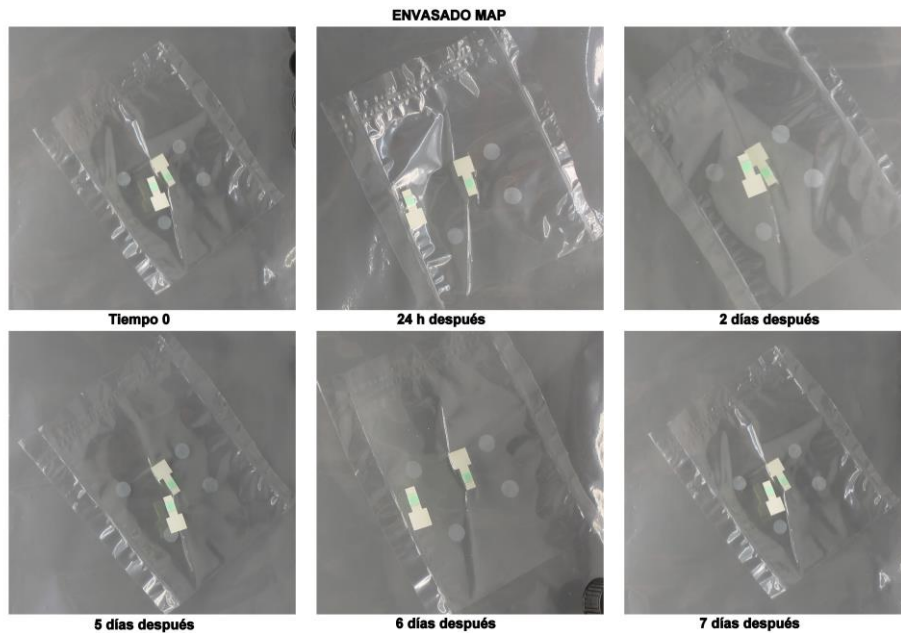


Figura 4.16 Fotografía de sensores envasados en MAP durante 7 días.

4.4 ESTUDIO DEL CAMBIO COLORIMÉTRICO DE LOS SENSORES EN PRESENCIA DE OXÍGENO

El objetivo del presente trabajo es desarrollar un sensor capaz de cambiar de color en presencia de oxígeno, por ello una vez comprobado que se produce un cambio de color al ser irradiados se estudió si éste era reversible y en presencia de oxígeno se volvían nuevamente azules. Asociadas a esta pregunta, también se trató de averiguar cuál era la concentración de oxígeno mínima que se necesita para que los sensores retornen a su color inicial, y cuánto tiempo tardan en cambiar de color.

Cambio de color:

Todas las formulaciones que se realizaron descritas en la **Tabla 3.2** cambiaron de color en presencia de oxígeno.

Para todas las películas obtenidas se realizó un seguimiento de los sensores envasados al vacío tras irradiar, para ello se colocó un medidor de oxígeno con la finalidad de conocer el porcentaje de oxígeno presente en el interior del envase. Se observó que los sensores obtenidos mediante los métodos 1.1-1.3 que son aquellos que tienen una mayor cantidad de dióxido de titanio, glicerol y azul de metileno comparados con las de los métodos 1.4 y 1.5, cambiaban de color de una forma irregular, comenzando a volverse azules desde el exterior del sensor al interior como se puede observar, a modo de ejemplo, en las **Figuras 4.17**.

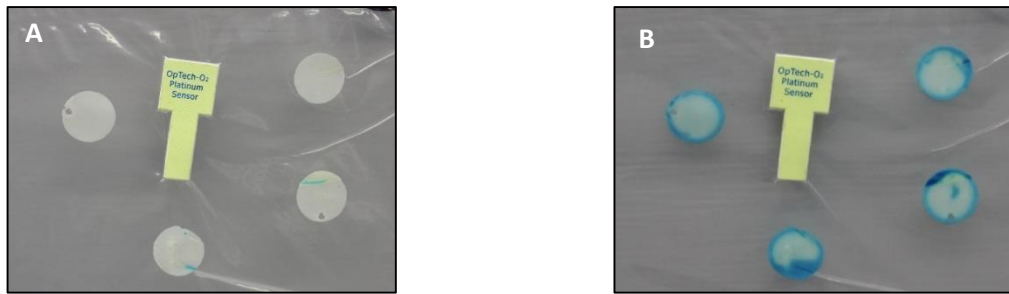


Figura 4.17 Sensores obtenidos de la película 7-50-T tras ser irradiados (a), sensores cambiando de color después de 6 días (b).

Sin embargo, los sensores obtenidos mediante los métodos 1.4 y 1.5, es decir los que poseen un 93% menos de glicerol y dióxido de titanio que los anteriores, cambiaban de color uniformemente, siendo totalmente blancas o bien totalmente azules como se observa en la **Figuras 4.18**, probablemente como consecuencia de una distribución más homogénea de los componentes del sistema.



Figura 4.18 Sensores obtenidos de la película 11-77-2-MB tras ser irradiados (a), sensores cambiando de color después de 24h (b).

Concentración de oxígeno necesaria para cambiar de color:

Una vez comprobados que los sensores funcionan, es necesario conocer la cantidad mínima de oxígeno presente capaz de producir el cambio de color, de blanco a azul, de los sensores. Con esta finalidad, se realizaron varios ensayos, en los cuales los sensores se envasaron en MAP utilizando N_2 como gas de reemplazo. Una vez envasados se almacenaron durante 48 horas a fin de comprobar, con un medidor de oxígeno, que la atmósfera era estable y que no había ninguna fuga en el envase que pudiera alterar el resultado aumentando la concentración de oxígeno.

A continuación, se pincharon cantidades conocidas de aire atmosférico de 2, 5, 10, 20 Y 40 mL, y se realizó inmediatamente un seguimiento de la concentración de oxígeno, y medida de color durante las primeras seis horas, así como de los siguientes 15 días midiendo estos mismos parámetros diariamente, puesto que transcurrido ese tiempo no se observaron cambios apreciables para continuar realizando el seguimiento.

Como referencia, se marcaron unos parámetros determinados para asumir el cambio de color. Para ello, se establece que el paso de blanco a azul se produce cuando los valores de b^* ($-b^*$ =contenido en azul, $+b^*$ =contenido en amarillo), se vuelven negativos.

Los resultados obtenidos reflejaron que, la presencia de oxígeno es responsable del viraje de los sensores como se puede observar en las **Figuras 4.19** y **4.20** puesto que las muestras control en las que no se inyectó aire, permanecieron de color blanco y los valores de b^* eran positivos. Se observan

algunas oscilaciones en los valores de a^* y b^* , correspondientes a fluctuaciones en la propia medida, esto puede ser debido a la colocación de la bolsa o la formación de pliegues al colocarla para realizar la medida.

En la **Figura 4.20**, se muestra la concentración de oxígeno durante las primeras 24 horas y se puede observar que, durante el seguimiento las muestras conservaron valores nulos respectivos a la cantidad de oxígeno presente en las bolsas.

En las **Figuras 4.21, 22, 23 y 24** se representan los valores de color y concentración de oxígeno obtenidos en las bolsas pinchadas con 2 y 5 mL. Los resultados muestran que en este caso tampoco se alcanzó la coloración azul transcurridas 24 horas, a pesar de poseer concentraciones de oxígeno de 0,5 y 1,3 % respectivamente.

Sin embargo, las muestras pinchadas con 10 mL (**Figuras 4.25 y 26**) de aire alcanzaron una tonalidad azul proporcional a una concentración de oxígeno de un 1% al cabo de 24 horas. Para las muestras pinchadas con 20 mL se observa cambio de color (**Figura 4.27 y 28**) respectivo a una concentración de oxígeno del 3%, resultando ligeramente más intensa en valores de a^* que la muestra pinchada con 10 mL de aire. Finalmente, las muestras con 40 mL de aire (**Figuras 4.29 y 30**), son las que presentan mayor cantidad de oxígeno (3,5 %) y proporcionalmente una coloración más intensa en valores de a^* y b^* respectivamente.

Por lo tanto, tras observar las figuras, de forma general, se observa que el tiempo necesario para alcanzar el viraje es de 24 horas y que la concentración de oxígeno mínima para hacer virar los sensores es de un 1 %. Estos resultados, reflejan que el tiempo necesario es relativamente bajo puesto que los alimentos sensibles a la oxidación envasados en MAP, tienen una vida útil larga, en algunos casos de hasta 3 meses dependiendo del producto, por lo que un consumidor podría detectar rápidamente que en el interior del envase ha habido un aumento de la concentración de oxígeno.

Algunos estudios que han desarrollado también sensores de oxígeno, han obtenido un tiempo de viraje más lento a concentraciones mayores de oxígeno, necesitando 2,5 días para virar en condiciones ambientales (Mills *et al.*, 2011). Otros como el conocido Ageless Age que se comercializa en la actualidad, requieren 2,5 h para concentraciones $\leq 0,1$ % de O_2 , sin embargo, este tipo de sensor resulta verdaderamente útil para productos extremadamente sensibles a la oxidación como pueden ser productos farmacéuticos, o bien, países muy calurosos y húmedos como puede ser Japón (Mills, 2005). Paralelamente, sensibilidades tan elevadas pueden provocar grandes pérdidas durante la comercialización de productos para las industrias de la alimentación, ya que concentraciones muy bajas, insuficientes para producir deterioro en el alimento ya promoverían la indicación de producto en mal estado. En cambio, el margen existente entre 0 -1 % dota a la industria de un espectro más amplio de aplicación, puesto que resulta una concentración de O_2 escasa pero segura, pudiendo de esta forma aumentar el tiempo de consumo de un alimento que se deteriora lentamente como consecuencia de concentraciones bajas en el interior. En cambio, responde de forma rápida frente a discontinuidades en el envase o defectos de cierre que sí que producirían un rápido fin vida del producto.

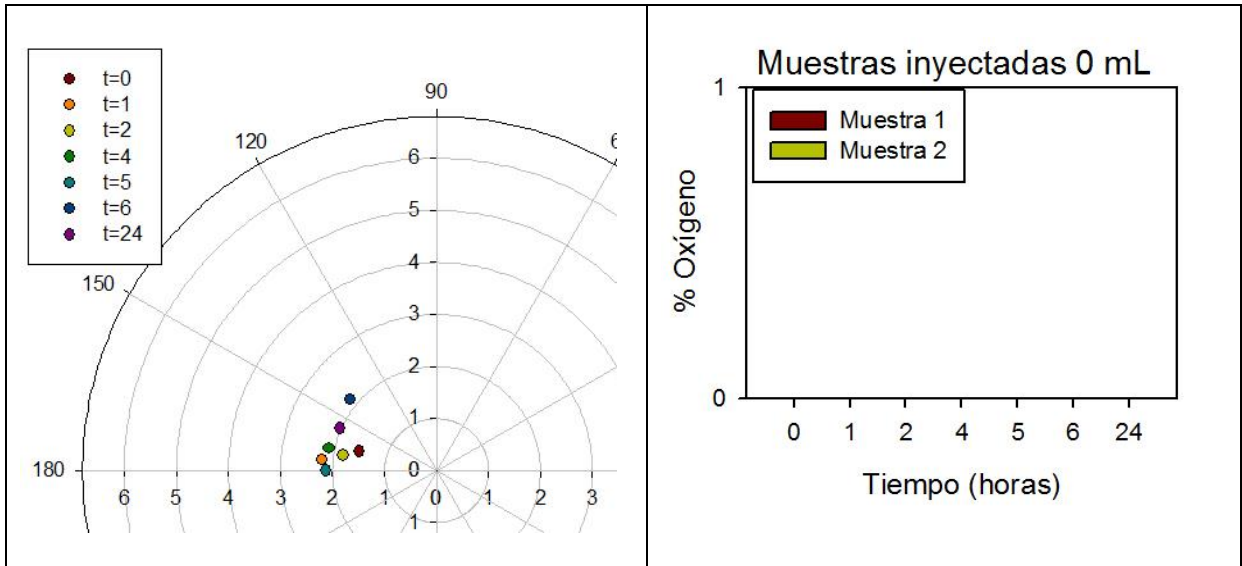


Figura 4.19. Grafica polar del color (izquierda) y de concentración de oxígeno (derecha) en bolsas con sensores para las muestras control que no fueron pinchadas con aire, durante un seguimiento de 24 horas.

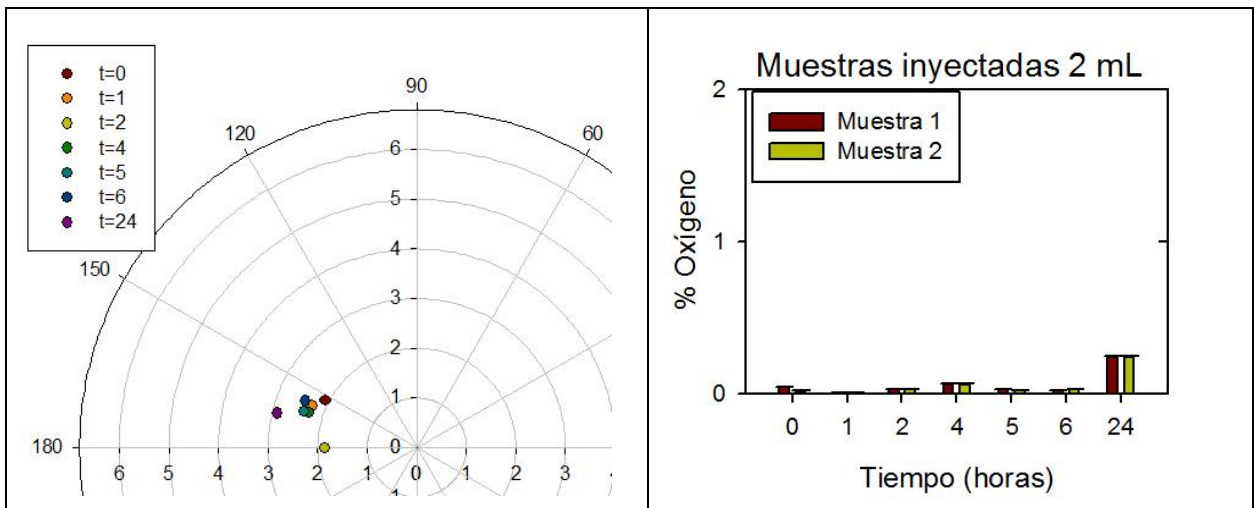


Figura 4.20. Grafica polar del color (izquierda) y de concentración de oxígeno (derecha) en bolsas con sensores para las muestras con 2 mL añadidos de aire, durante un seguimiento de 24 horas.

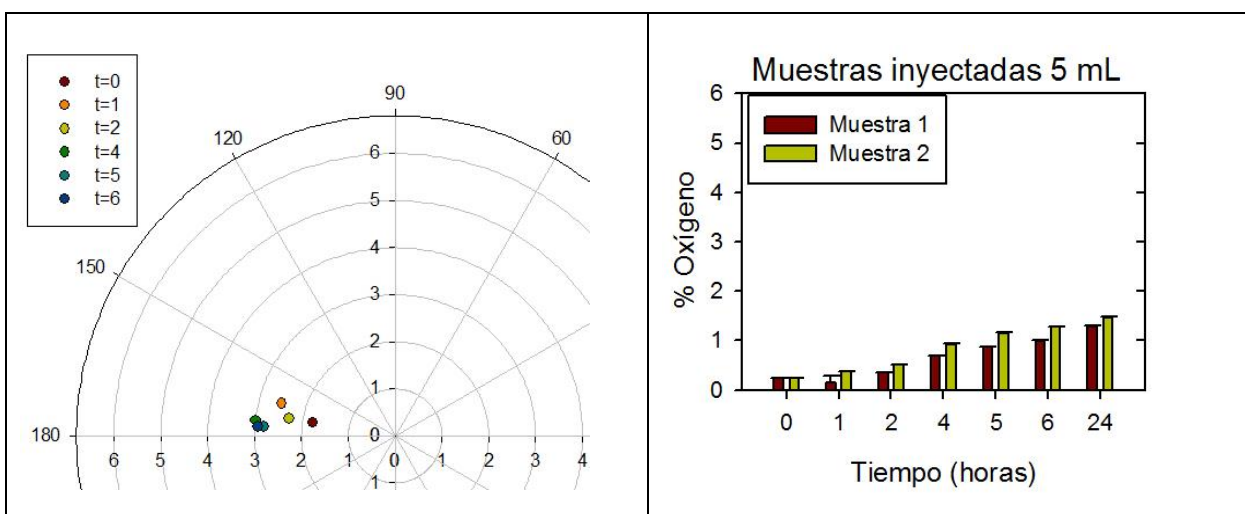


Figura 4.21. Grafica polar del color (izquierda) y de concentración de oxígeno (derecha) en bolsas con sensores para las muestras con 5 mL añadidos de aire, durante un seguimiento de 24 horas.

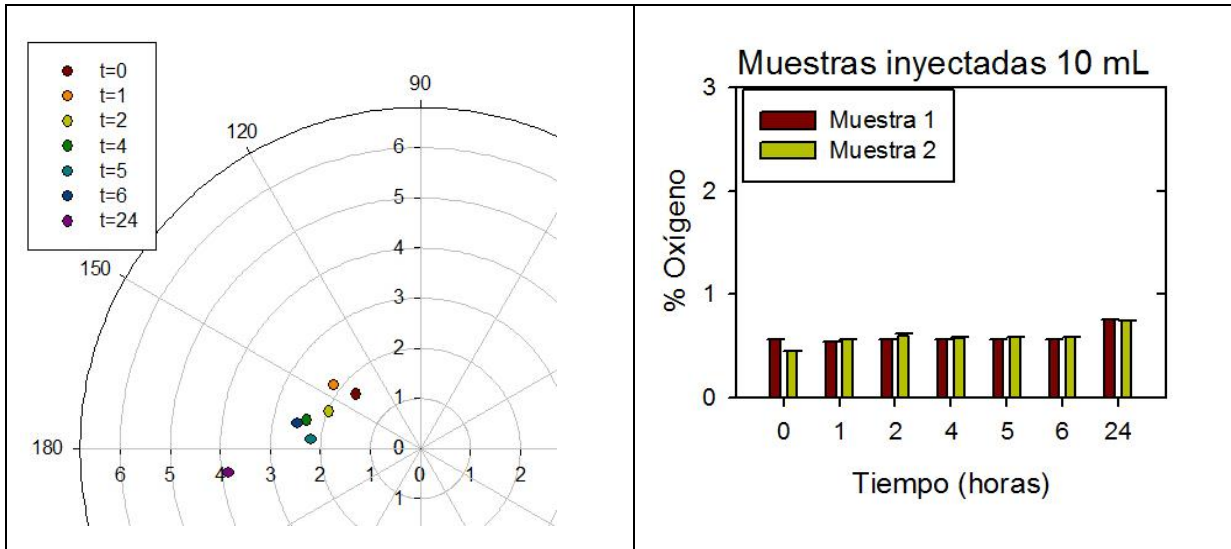


Figura 4.22. Grafica polar del color (izquierda) y de concentración de oxígeno (derecha) en bolsas con sensores para las muestras con 10 mL añadidos de aire, durante un seguimiento de 24 horas.

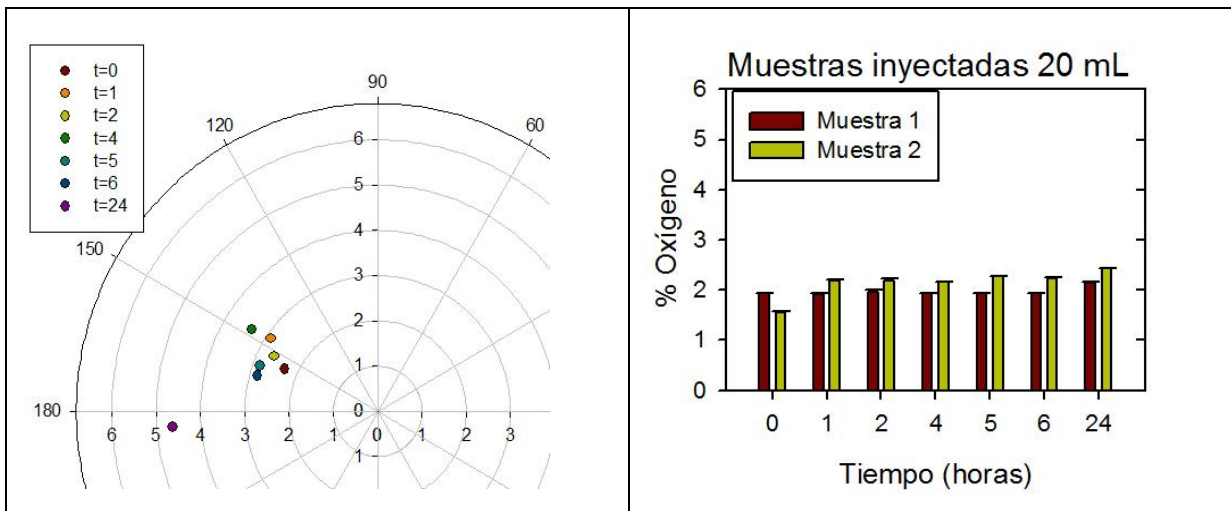


Figura 4.23. Grafica polar del color (izquierda) y de concentración de oxígeno (derecha) en bolsas con sensores para las muestras con 20 mL añadidos de aire, durante un seguimiento de 24 horas.

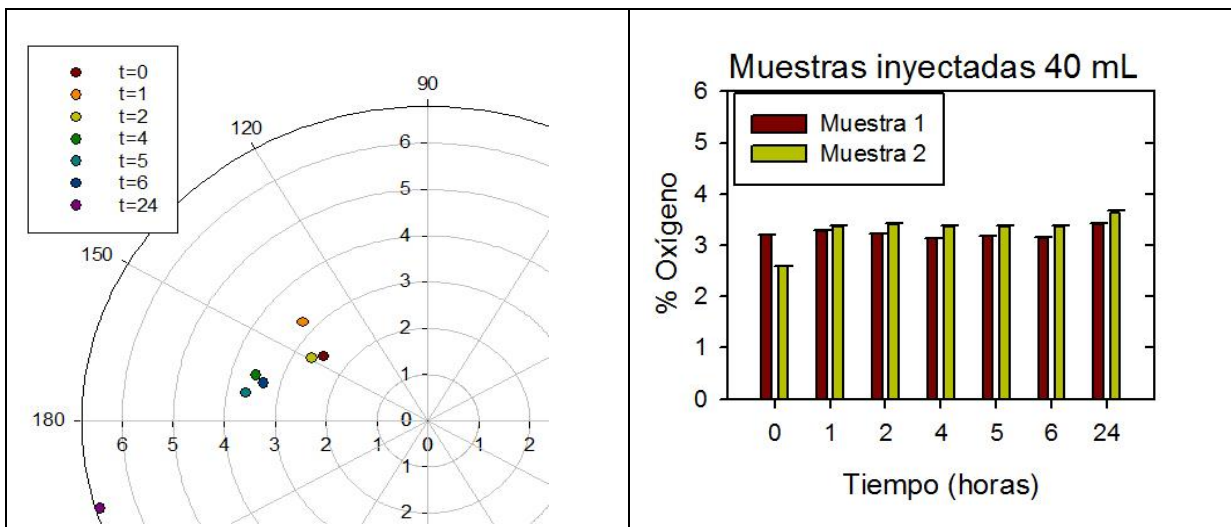


Figura 4.24. Grafica polar del color (izquierda) y de concentración de oxígeno (derecha) en bolsas con sensores para las muestras con 40 mL añadidos de aire, durante un seguimiento de 24 horas.

4.5 CUANTIFICACIÓN DE LA MIGRACIÓN DE AZUL DE METILENO AL ALIMENTO

La migración se define como la transferencia de masa de una fuente externa al producto envasado por un proceso submicroscópico, cuyas consecuencias prácticas pueden provocar en el alimento una pérdida de calidad sensorial o bien posibles efectos tóxicos de algún migrante.

El marco legal para el control de la migración, viene establecido por el Reglamento (CE) nº 1935/2004, sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos, y establece que “cualquier material u objeto destinado a entrar en contacto directa o indirectamente con alimentos ha de ser lo suficientemente inerte para evitar que se transfieran sustancias a los alimentos en cantidades lo suficientemente grandes para poner en peligro la salud humana, o para ocasionar una modificación inaceptable de la composición de los productos alimenticios o una alteración de las características organolépticas de éstos”.

Como para el azul de metileno no se ha encontrado límite de migración específica, el componente se atendrá al límite de migración global dotado por el Artículo 12 del Reglamento (UE) Nº 10/2011, en el cual se establece que el límite general es de 10 mg de constituyente liberado/ dm² de superficie de contacto, y el límite para lactantes y niños de corta edad es de 60mg de constituyentes liberados / kg de simulante alimentario.

Por lo tanto, como establece la legislación, se sumergieron 4 sensores envasados en bolsas de PP en 100 mL de simulante alimentario que se utilizaron para los ensayos de migración que fueron: Etanol 10 %(v/v) o simulante para alimentos hidrófilos con pH >4,5 a 40°C durante 10 días, ácido acético 3% (v/v) o simulante para alimentos hidrofílicos de pH < 4,5 a 40°C durante 10 días y simulante en las peores condiciones de uso (agua a 121°C durante 15 min).

La detección del migrante azul de metileno se realizó primero mediante un espectrofotómetro UV-Visible, se realizó previamente una recta de calibrado para cada uno de los simulantes con cantidades conocidas de azul de metileno. La detección de azul de metileno se vio imposibilitada a partir de concentraciones de $1 \cdot 10^{-7}$ g/mL puesto que los valores de absorbancia que se obtuvieron fueron negativos, al igual que el de las muestras.

Por lo tanto, se procedió a utilizar otro método más sensible como es el de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Al igual que en el método anterior se realizó un calibrado previo para cada simulante alimentario, y el detector pudo determinar cantidades conocidas hasta $1 \cdot 10^{-8}$ g/mL. Los resultados obtenidos para las muestras ofrecieron un resultado nulo, puesto que no se detectó ningún pico para ninguna de las muestras para el tiempo de retención del componente, como se puede observar a modo de ejemplo en las **Figuras 4.25 y 4.26**. Por lo tanto, se deduce que la cantidad de migrante para los ensayos realizados es inferior a $1 \cdot 10^{-8}$, puesto que es la máxima sensibilidad del método para este componente.

En las condiciones de realización de los ensayos de migración y teniendo en cuenta que el sensor ocupa una superficie muy pequeña del envase, que solo habría uno y que el envase contiene un Kg de alimento, la concentración final en el alimento sería inferior a $2,5 \cdot 10^{-10}$ g/Kg. Por tanto, este dato indica que la migración es menor al límite legal. También se realizó un ensayo de tratamiento de esterilización del sensor pensando en posibles utilizaciones en alimentos tratados térmicamente en el envase. Los ensayos realizados tampoco dieron valores detectables de liberación del azul de metileno por lo que aparentemente, el sensor cumple con los límites legales y podría ser utilizado como sistema de envasado inteligente de alimentos sensibles a la oxidación.

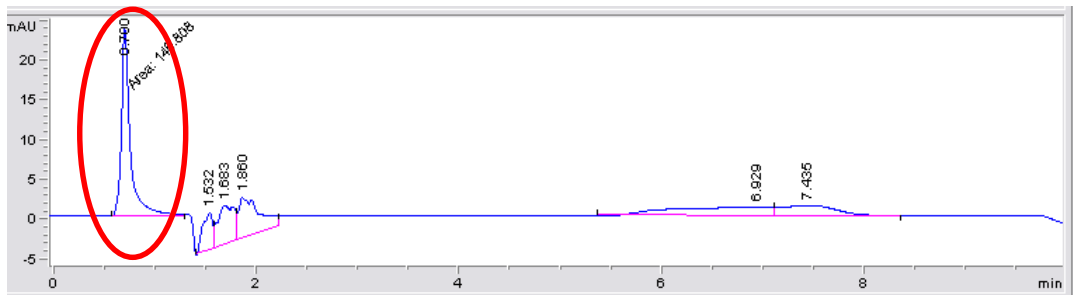


Figura 4.25 Cromatograma para el componente azul de metileno para una concentración de azul de metileno de $1 \cdot 10^{-6}$ g / mL de agua.

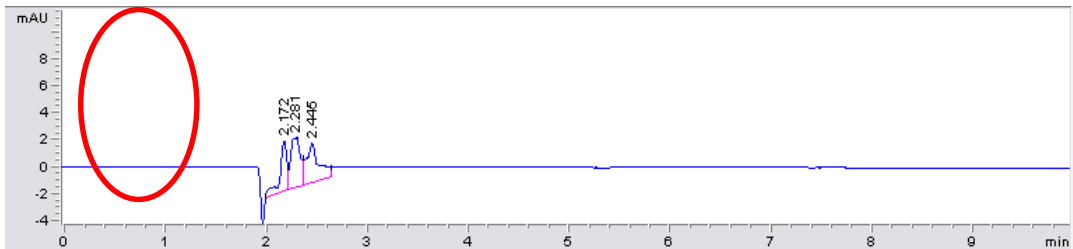


Figura 4.26 Cromatograma obtenido de una de las muestras que fue sometida a las peores condiciones de uso (121°C , durante 15 min).

4.6 APLICACIÓN PRÁCTICA A UN ALIMENTO

Se ha realizado una prueba con alimento real, concretamente con leche maternizada deshidratada como alimento sensible a la oxidación. Para ello se envasaron 10 muestras de leche y se les hizo un seguimiento a lo largo de 20 días, determinando el contenido en oxígeno y el color de los sensores (dos en cada bolsa) tal y como se ha indicado anteriormente. También se hizo un análisis de contenido en hexanal al final del almacenamiento.

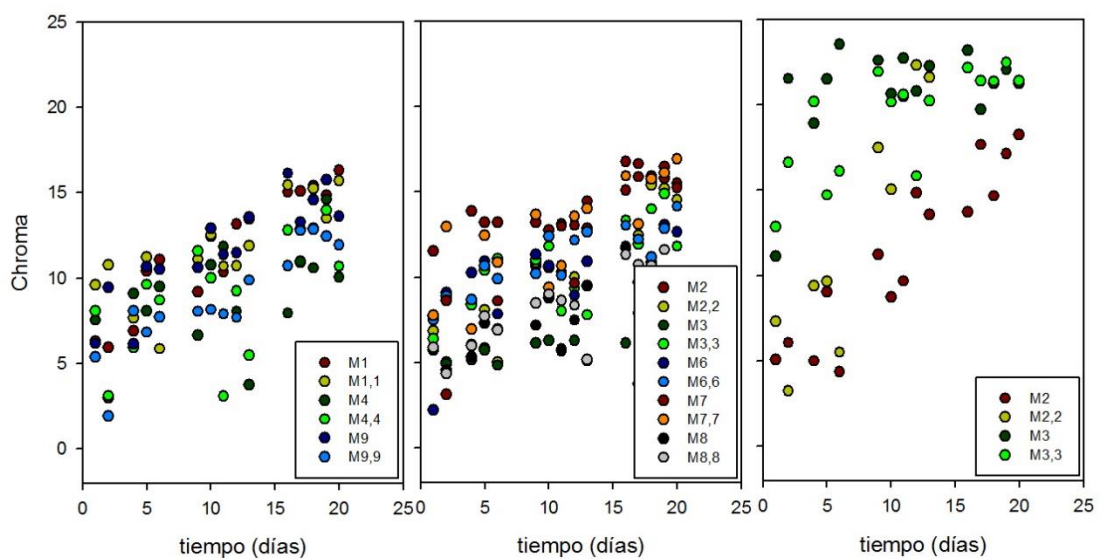


Figura 4.27. Evolución de los sensores incluidos en las 10 muestras a lo largo de los 20 días de almacenamiento: Izquierda, muestras almacenadas por debajo de 0,3% de O_2 ; central, entre 0,3 y 1%; derecha, almacenadas con elevado contenido de O_2 .

En la **Figura 4.27** puede observarse una extraordinaria dispersión de resultados debido probablemente a que los sensores parten de puntos de inicio diferentes y a que están expuestas a diferentes concentraciones de oxígeno. Por esa razón, se realizó otra representación que muestra la evolución del color en función de la exposición a oxígeno. Para ello se ha realizado una integral del área bajo la curva oxígeno vs. Tiempo (**Figura 4.28**).

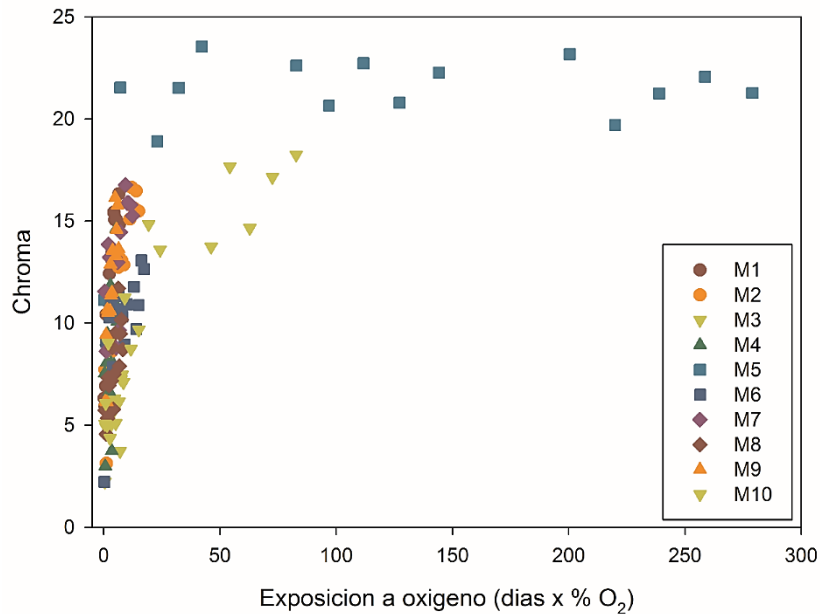


Figura 4.28. Evolución del color (Chroma) de las 10 muestras frente a la exposición a oxígeno.

Como puede verse, mediante este cambio de variable, los datos aparecen menos dispersos, mostrando una evolución similar a la de una exponencial que tiende a un máximo. Se han probado varias expresiones para tratar de describir la evolución de los sensores y la que mejor resultado ha mostrado es la ecuación de Langmuir.

$$f = \frac{(B_{max} \cdot \int_0^t [O_2] \cdot dt)}{(K_d + \int_0^t [O_2] \cdot dt)}$$

El ajuste da un valor de $B_{max}=25\pm 0.5$ y un $K_d=6\pm 3$. En la siguiente **Figura 4.29** se muestra los datos obtenidos y las predicciones de este ajuste.

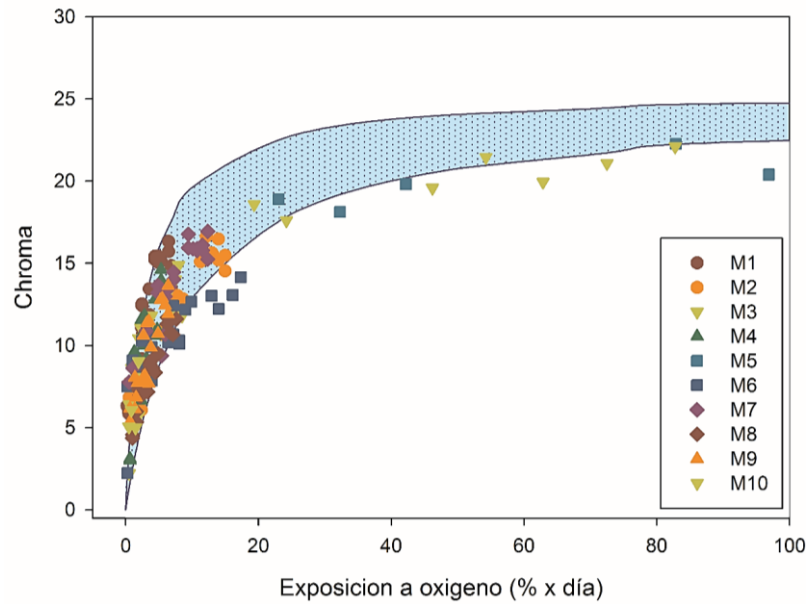


Figura 4.29. Evolución del color (Chroma) de las 10 muestras frente a la exposición a oxígeno y evolución teórica mostrada por la ecuación de Langmuir con los parámetros de ajuste indicados.

Para comprobar la evolución de la leche en los envases anteriores, se realizó un análisis del contenido de hexanal, como parámetro indicador de la oxidación producida en el producto al final del almacenamiento. En la siguiente **Figura 4.30**, se recogen los resultados obtenidos para la leche maternizada envasada en MAP que reflejaron una correlación existente entre el contenido en hexanal (a.u), la concentración de oxígeno (%) y la intensidad del chroma de los sensores. A medida que aumenta la concentración de oxígeno se incrementa el contenido de hexanal producido por la oxidación de la leche, y a su vez aumenta el color de los sensores como resultado de la presencia de oxígeno en el interior del envase. Cuando se observan estos datos, se puede deducir que el sensor podría indicar el fin de la vida útil del alimento cuando alcanza un valor de chroma de 15 ya que es cuando más intenso es el cambio de color y la concentración de oxígeno es propicia para catalizar reacciones de oxidación en alimentos sensibles a la oxidación, como en este caso la peroxidación de grasas y formación de hexanal.

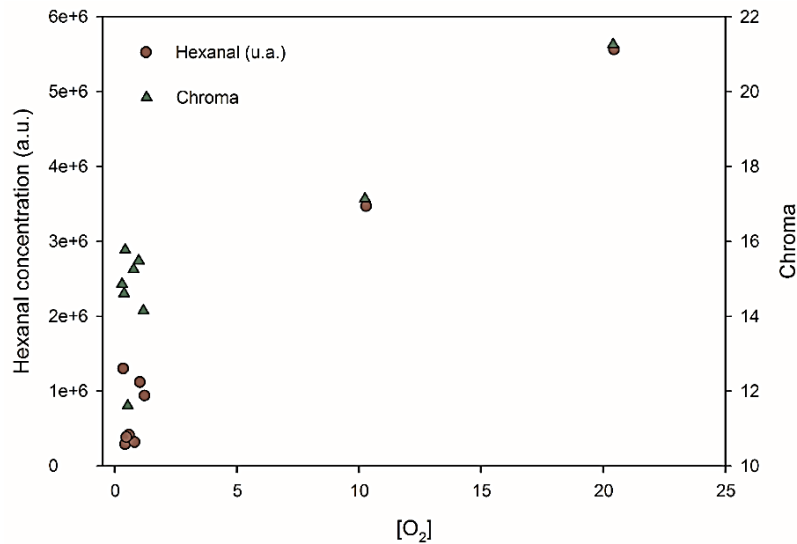


Figura 4.30 Evolución de la concentración de hexanal (eje izquierdo) en envases de leche maternizada deshidratada y de color del sensor (Chroma en eje derecho) en función de la concentración de oxígeno.

Con estos resultados se procedió a estudiar la capacidad de predicción teórica que podría tener el sensor en un envase con un producto sensible a la oxidación en función a la permeanza (cantidad de sustancia que atraviesa una película por unidad de tiempo, área de exposición y diferencia de presiones) que posee un envase con varias películas. Como en el caso anterior, se asumió que el valor de chroma de 15 es el indicador del fin de la vida útil, y se estudió el tiempo necesario para hacer virar los sensores en función de la permeanza del envase (\wp) y la exposición al oxígeno. utilizando para la determinación de la concentración de oxígeno en el interior del envase producido por la entrada de oxígeno según la primera ley de Fick:

$$\wp = \frac{q}{A \cdot t \cdot (0,21 - p(O_2))}$$

Considerando que en cada incremento de tiempo, hay una entrada de oxígeno por permeación:

$$q = \wp \cdot A \cdot \Delta t \cdot (0,21 - p(O_2))$$

y su acumulación en el volumen del espacio de cabeza (V) produce un aumento de la $p(O_2)$:

$$p(O_2)_{t+\Delta t} = p(O_2)_t + \frac{\wp \cdot A \cdot \Delta t \cdot (0,21 - p(O_2))}{V}$$

La presión parcial se obtiene mediante un método numérico y los resultados se introducen en la ecuación de Langmuir. Los resultados obtenidos (**Figura 4.31**), demuestran que el tiempo necesario para obtener un valor de Chroma de 15 aumenta inversamente al valor de permeanza, es decir, cuanto mayor es la cantidad de sustancia (O_2) que pasa a través del envase, menor es el tiempo que necesitan los sensores para virar. Con lo cual, para evitar la degradación de alimentos y pérdidas económicas como consecuencia de la entrada de oxígeno en el interior del envase, conviene aplicar películas con la menor permeanza posible, para aumentar el tiempo de vida útil a 50-80 días.

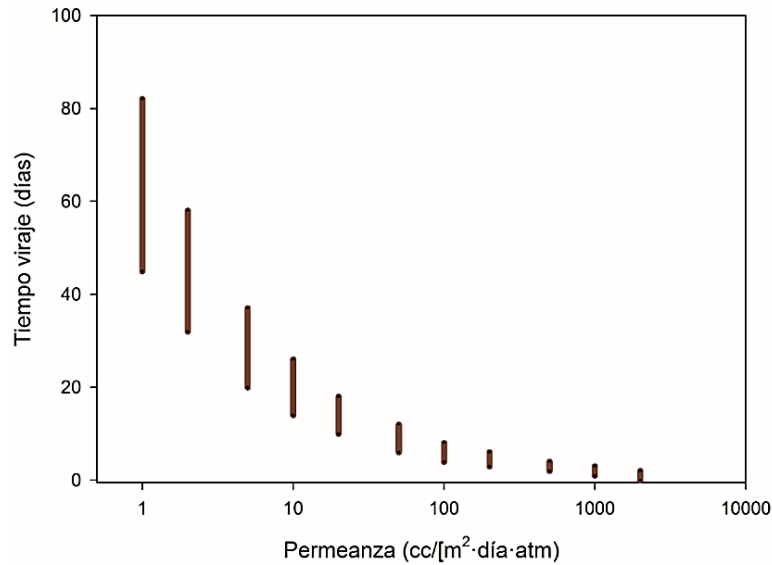


Figura 4.31 Intervalo de tiempo en el que teóricamente se produce el viraje de los sensores en función de la permeabilidad de los envases.

5. CONCLUSIONES

De la realización del presente trabajo se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1. Se ha optimizado la formulación para la obtención de sensores y su posible aplicación industrial, mediante la técnica de extensión/evaporación (*casting*).
2. Se ha optimizado el tiempo de activación del sensor con UV-Vis, resultando muy rápido y siendo necesario solo 1 min para dicha activación.
3. Se ha determinado el límite de detección de los sensores al oxígeno, resultando este de 1% de O₂ con un tiempo máximo de viraje de 24 horas.
4. La respuesta colorimétrica que proporciona el sensor resulta clara e irreversible y su intensidad varía en función a la exposición acumulada al oxígeno.
5. No se ha detectado migración del componente azul de metileno al alimento, por lo que aparentemente, el sensor cumpliría con los límites legales de migración.
6. El sensor podría ser utilizado como sistema de envasado inteligente de alimentos sensibles a la oxidación, y prevenir el consumo de alimentos en los que se han producido reacciones de degradación como consecuencia de la oxidación de alimentos.

6. BIBLIOGRAFÍA

ANDRÉS LEÓN, G. (2014). Estudio de la cinética de fases en nanoestructuras de TiO_2 y TiO_2 - 1% Pd sintetizados vía sol-gel. Instituto Politécnico Nacional. México.

BAUTISTA SUÁREZ, L. (2011). Degradación de colorantes (azul de metileno) por métodos electroquímicos. Tesis. Universidad Veracruzana México.

BRODY, A.L.; B. R. STRUPINSKY, B.R.; KLINE, L.R. (2001) Active Packaging for Food Applications, Technomic Publishing Co., Lancaster, USA.

CARBUIROS METÁLICOS. Todo lo que debe saber sobre el envasado en atmósfera protectora (EAP). Recuperado el día 1 de junio de 2016.de: http://www.carbueros.com/microsite/es/eap/MAP_handbook.PDF

CATALÁ, R.; LÓPEZ-DE-CASTILLO, C.; CERISUELO, J. P.; MURIEL GALET, V.; LÓPEZ CARBALLO, G.; HERNÁNDEZ MUÑOZ, P., & GAVARA, R. (2015). Novel EVOH developments for Active/Bioactive Food Packaging Applications. In M. Kontominas (Ed.), Bioactive Food Packaging: Strategies, Quality, Safety (pp. 421-442). Lancaster, PA: DesTech Publications Inc.

CATALÁ, R.; GAVARA, R. (2001). Nuevos envases. De la protección pasiva a la defensa activa de los alimentos envasados. Arbor CLXVIII (661), 109-119.

CHAU HAI THAI VU; WON, K. (2013). Novel water-resistant UV-activated oxygen indicator for intelligent food packaging. Food Chemistry, 140,52-56.

CHAU HAI; THAI VU; KEEHOON. (2013). Bioinspired Molecular Adhesive for Water-Resistant Oxygen Indicator Films. Dept. of Chemical and Biochemical Engineering, Dongguk University-Seoul. Republic of Korea. 513-519.

CHIRALT BOIX, A.; MARTÍNEZ NAVARRETE, N.; GONZÁLEZ MARTÍNEZ, C.; TALENS OLIAG, P.; MORAGA BALLESTEROS, G. (2012). Propiedades físicas de los alimentos. Ed. UPV.España.203 pp.

CHUNG, K. E; ESTHER, H. L.; DAVIDSON, M. S.; DUNN, B. S.; VALENTINE, J. S.; ZINK, I. (1995) Anal. Chem., 67, 1505–1509.

DOMÈNECH, X.; JARDIM, W.F.; LITTER, M.I. (2001). Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea, Texto colectivo elaborado por la Red CYTED VIII-G Cap. 1: Procesos Avanzados de Oxidación para la Eliminación De Contaminantes. Editado por Miguel A. Blesa. 22 – 25.

FERNÁNDEZ DÍAZ, C. (2012). Envases activos e inteligentes: Control de la calidad y seguridad del producto. Recuperado el día 29 de mayo de 2016 de: http://www.elika.eus/datos/otros_docs_nan/Archivo241/Consuelo%20Fern%C3%A1ndez.pdf

FITZGERALD, M.; PAPKOVSKY, D.P; SMIDDY, M.; KERRY J.P.; O 'SULLIVAN, J.P.; BUCKLEY, D.J.; GUILBAULT, G.G. (2001). Non-destructive monitoring of oxygen profiles in packaged foods using phase-fluorimetric oxygen sensor. Journal Of Food Science, Vol. 66, No. 1.

GARCÍA IGLESIAS, E.; GAGO CABEZAS, L.; FERNÁNDEZ NUEVO, J.L. (2006). Tecnología de envasado en atmósfera protectora. Informe de vigilancia tecnológica. CBIT, CSIC, UAM. España.

KIM, C-K.; DUONG, D.H.; RHEE J.L. (2013). Preparation of an optical sensing membrane for triple detection of oxygen, pH, and temperature using response surface methodology. Microchemical Journal, 110, 702-710.

KLAGES, F. (1969) Tratado de Química Orgánica. Valencia: Editorial Reverté S.A.

LAWRIE, K.; MILLS, A.; HAZAFY, D. (2013). Simple inkjet- printed, UV- activated oxygen indicator. *Sensors and Actuators B: Chemical* 176, 1154-1159.

LIM, L-T. (2013). Oxygen detection using UV-activated electrospun poly (ethylene oxide) fibers encapsulated with TiO₂ nanoparticles. *Journal of Materials Science*, 48, 5489–5498.

LÓPEZ DE DICASTILLO BERGAMO, A. C. (2011). Desarrollo y caracterización de polímeros activos hidrofílicos para el envasado de alimentos. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, España.

MAREK, P.; VELASCO- VELÉZ, J.; HAAS, T., DOLL, T.; SADOWSKI, G. (2013). Time-monitoring sensor based on oxygen diffusion in an indicator/polymer matrix. *Sensors and Actuators B: Chemical* 178: 254-262.

MARTÍNEZ HERNÁNDEZ, A. (2010). Degradación de azul de metileno y 4- clorofenol por fotocatalisis con luz ultravioleta, utilizando TiO₂ como catalizador. Tesis profesional. Instituto Tecnológico de Toluca, México.

MILLS, A. (2005). Oxygen indicators and intelligent inks for packaging food. *The Royal Society of Chemistry*, 34, 1003-1011.

MILLS, A.; LAWRIE, K.; BARDIN, J.; APEDAILE, A.; SKINNER, G.A; O'ROURKE, C. (2011). An O₂ smart plastic film for packaging. *The royal society of chemical. Journal*, 113,106-112.

MILLS, A.; HAZAFY, D. (2007). A solvent-based intelligence ink for oxygen. *The royal society of chemical. Journal*, 133. 213-218.

MITSUBUSHI GAS CHEMICAL COMPANY INC., Recuperado el día 1 de junio de 2016.de: <http://www.mgc.co.jp/eng/products/abc/ageless/eye.html>

NAN YOUNG JANG; WON, K. (2013). New pressure-activated compartmented oxygen indicator for intelligent food packaging. *International Journal of Food Science and Technology* Nº:49. 650–654.

O'RIORDAN, T.; VORAGERGER, H.; KERRY, J.P.; PAPKOVSKY, D.B. (2004). Study of migration of active components of phosphorescent oxygen sensors for food packaging applications. *Analytica Chimica Acta* 530, 135- 141.

OROZCO M.L. (2016). Envases activos basados en emulsiones poliolefinicas y agentes volátiles naturales para su aplicación en el envasado de alimentos. Trabajo final de carrera. Universidad Politécnica de Valencia. España.

PACHECO, D.; RICO, J.; DÍAZ, J.H; MIGUEL, J.; ESPITIA, R. Estudio DFT de propiedades estructurales y electrónicas del óxido de titanio en sus fases: rutilo, anatasa y brookita. *Revista colombiana de materiales*, 5,179-185.

PAPKOVSKY, D.B; PAPKOVSKAIA, A.; SMYTH, J.K; ORGUTSOV, V.I (2000), *Anal. Lett*, 33, 1755-1777.

REGLAMENTO (CE) No 1935/2004 Del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de octubre de 2004, sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos y por el que se derogan las Directivas 80/590/CEE y 89/109/CEE.

REGLAMENTO (UE) No 10/2011 De la Comisión de 14 de enero de 2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos.

QUARANTA, M.; BORISOV, S.M.; KLIMANT, I. (2012). Indicators for optical oxygen sensors. *Bioanalytical Reviews*: 4 (2-4), 115-157.

SUMAN; VIKESH GAUR; PRAMOD KUMAR; VINOD, K.J. (2012) Nanomaterial based opto-electrical oxygen sensor for detecting air leakage in packed items and storage plants, *Journal of Experimental Nanoscience*, 7:6, 608-615.

THURNAUER, M. C.; RAJH, T.; DIMITRIJEVIC, N.M. 2001). Principles of Semiconductor Assisted Photocatalysis for Waste Remediation Electron Transfer in Chemistry, Journal of the American Chemical Society. Vol. 5, 695-718.

TI-WEN SUNG, YU-LUNG LO. (2012). Dual sensing of temperature and oxygen using PtTFPP-doped CdSe/SiO₂ core-shell nanoparticles. Sensors and Actuators B: Chemical 173, 406-413.

TUESTA, E., GUTARRA, A. 2004. Aplicaciones electrocrómicas y fotocatalíticas del dióxido de titanio. REVICIUNI 8 (2). Lima, Perú.

VIRTANEN, H.; VEHMAS, K.; ERHO, T.; SMOLANDER, M. (2014). Flexographic printing of trametes versicolor Laccase for indicator applications. Packaging Technology and science journal. Finland. DOI: 10.1002/pts. 1-12.

ZAJKO, S.; KLIMANT, I. (2013). The effects of different sterilization procedures on the optical polymer oxygen sensors. Sensors and Actuators B: Chemical 177,86-93.

ZHUJUN, Z; SEITZ, W. R. (1968) Anal. Chem., 58, 220–222.