



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS



TEMA: “Formulación y elaboración de un helado de mora libre de gluten y lactosa a base de bebida de soya y con contenido medio en azúcar”.

Trabajo de Titulación, Modalidad: Experiencias prácticas de investigación y/o intervención, previa la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

AUTORA: Lizeth Estefanía Ortiz Carrera

TUTORA: Ph.D Sandra Horvitz

Ambato - Ecuador

Noviembre-2016

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ph.D. Sandra Horvitz

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación modalidad Prácticas de Investigación y/o Intervención, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 28 de Septiembre del 2016.



Ph.D Sandra Horvitz

TUTORA

AUTORÍA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Yo, Lizeth Estefanía Ortiz Carrera, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo la obtención del Título de Ingeniera en Alimentos son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.



Ortiz Carrera Lizeth Estefanía

C.I. 180427259-7

AUTORA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Presidente del Tribunal



Mg. Cecilia Mercedes Carpio
C.I. 1704627650



Mg. María Isabel Salazar Cobo
C.I. 1716197254

Ambato, 07 de noviembre del 2016

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de éste proyecto de investigación o parte de él un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de éste Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando ésta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.



Lizeth Estefanía Ortiz Carrera

C.I: 180427259-7

AUTORA

DEDICATORIA

Principalmente a DIOS por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar mis obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

A mis padres ALONSO y MAGDALENA, por guiarme, cuidarme, por su apoyo incondicional, su amor y por el ejemplo de dedicación, lucha y esfuerzo para llegar a culminar uno de mis objetivos.

A mis hermanos MARIANELA, DAMIÁN Y ROSALÍA que siempre han estado junto a mí apoyándome incondicionalmente para continuar cumpliendo mi sueño.

A mi sobrino EMILIO y a mi cuñado CRISTIAN por estar siempre conmigo.

A mi novio XAVIER por ser mi apoyo y fortaleza y hacer de esta trayectoria de mi vida la más enriquecedora y bonita experiencia.

A mi familia en general por haberme brindado su apoyo y compartir conmigo buenos y malos momentos.

Con cariño

Estefanía Ortiz

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato, en especial a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos que me ha permitido culminar mis estudios.

A la empresa “GolositOrtiz” que me permitió realizar esta investigación y facilitó todos los equipos e información para la culminación de este proyecto.

A la Doctora Sandra Horvitz, por la confianza depositada en mí, por su apoyo y por los conocimientos impartidos para culminar mi meta.

A todos mis maestros que a lo largo de mi carrera, me han impartido sus conocimientos, experiencias y sabios consejos que ayudaron en mi formación académica.

A la Doctora Mirari Arancibia, a la Magister Cecilia Carpio y al Doctor Ignacio Angos por su colaboración para la realización de esta tesis.

A mis amigos Johanna, Gabriela, José, y Miguel que gracias a su apoyo conocimiento hicieron de esta experiencia una de las más especiales.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
RESUMEN	XIII
ABSTRACT	XIV
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
EL PROBLEMA	3
1.1. Tema.....	3
1.2. Justificación	3
1.3. Objetivos	4
1.3.1. General.....	4
1.3.2. Específicos	4
CAPÍTULO II	5
MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes Investigativos.....	5
2.2. Hipótesis	8
2.3. Señalamiento de variables de las hipótesis.....	8
2.3.1. Variables Independientes	8
2.3.2. Variable Dependiente	8
CAPÍTULO III	9
MATERIALES Y MÉTODOS	9
3.1. Materiales.....	9
3.1.2. Materia prima	9
3.1.3. Equipos para la elaboración del helado.....	9
3.1.4. Materiales y equipos de laboratorio.....	9
3.2. Métodos.....	11
3.2.1. Determinación de los parámetros de calidad	14
3.2.1.1. Porcentaje de overrun.....	14

3.2.1.2.	Porcentaje de derretimiento y tiempo de caída de la primera gota.....	14
3.2.1.3.	Textura	15
3.2.1.4.	Parámetros reológicos	15
3.2.1.5.	Análisis sensorial	15
3.2.2.	Análisis nutricionales	16
3.2.2.1.	Análisis de proteínas.....	16
3.2.2.2.	Determinación de sólidos totales	16
3.2.2.3.	Determinación de grasa.....	16
3.2.2.4.	Determinación de carbohidratos totales:	16
3.2.3.	Características químicas	16
3.2.3.1.	Potencial hidrógeno (pH).....	16
3.2.3.2.	Contenido de lactosa	16
3.2.3.3.	Contenido de gluten	17
3.3.	Diseño experimental.....	17
3.3.1.	Análisis estadísticos.....	17
CAPÍTULO IV	37
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1.	Efecto de la mezcla de estabilizantes sobre los parámetros de calidad del helado.....	37
4.1.1.	Porcentaje de overrun, tiempo de caída de la primera gota y porcentaje de derretimiento	37
4.1.1.1.	Porcentaje de overrun	38
4.1.1.2.	Tiempo de caída de la primera gota de helado a temperatura ambiente	38
4.1.1.3.	Porcentaje de derretimiento a temperatura ambiente.....	40
4.2.	Parámetros reológicos	42
4.3.	Análisis sensorial.....	48
4.3.1.	Efecto de la mezcla de estabilizantes y del uso de bebida de soya sobre los parámetros sensoriales del helado.	48
4.3.1.1.	Evaluación de textura.....	48
4.3.1.2.	Evaluación sensorial con una escala facial mixta	49

4.3.1.3. Evaluación sensorial escala hedónica.....	51
4.4. Formulación del mejor tratamiento	52
4.5. Análisis nutricional	53
4.6. Análisis de gluten y lactosa	55
4.6.1. Análisis de gluten	55
4.6.2. Análisis de lactosa	55
4.7. Verificación de la hipótesis nula	56
CAPÍTULO V	57
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	57
5.1. Conclusiones	57
5.2. Recomendaciones	58
LITERATURA CITADA	59
ANEXOS.....	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Formulación de los helados evaluados	17
Tabla 2. Porcentaje de overrun, tiempo de caída (min) de la primera gota de helado y porcentaje de derretimiento después de 20 minutos a temperatura ambiente de los cinco helados evaluados.....	37
Tabla 3. Formulación del mejor tratamiento (T3-M4) para la elaboración de helados a base de bebida de soya.....	52
Tabla 4. Comparación del contenido de proteína, humedad, grasa, carbohidratos totales, energía, azúcares totales, cenizas, pH y acidez en helado de leche de vaca (C1-M1)y helado de bebida de soya (T3-M4)..	53
Tabla 5. Absorbancia (505 nm) y concentración de glucosa (mg/ml de helado) en la mejor formulación (T3-M4) de helado.....	55
Tabla 6. Características visuales de textura del helado	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de elaboración de bebida pasteurizada de soya.....	12
Figura 2. Proceso de elaboración de helado de mora a base de bebida de soya	13
Figura 3. Porcentaje de derretimiento de helado con respecto al tiempo (min).....	41
Figura 5. Módulo de pérdida (G'' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4), medido a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	42
Figura 4. Módulo de almacenamiento (G' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4), medido a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	42
Figura 6. Módulo de almacenamiento (G' ,Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4) medido a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$	43
Figura 7 Módulo de pérdida (G'' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4 medido a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$	43
Figura 9. Módulo de pérdida (G'' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4) medido a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$	44
Figura 8. Módulo de almacenamiento (G' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4) medido a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$	44
Figura 11. Módulo de pérdida (G'' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4), medido a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$	45
Figura 10. Módulo de almacenamiento (G' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4), medido a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$	45
Figura 12. Evaluación sensorial de la textura de las formulaciones de helado estudiada	48
Figura 13. Aceptabilidad global de los helados de mora	49
Figura 14. Atributos sensoriales (apariencia, consistencia, cristalización, sabor y aceptabilidad) de helado de mora	51
Figura 15 curva estándar de glucosa	72

Figura 16. Cuantificación de glucosa en muestras de lactosa hidrolizada, helado control sin lactasa y helado con lactasa	72
Figura 17. Cuantificación de glucosa en muestras de los estabilizantes usados en la elaboración de helado a base de bebida de soya	73
Figura 19. Licuado del grano de soya	80
Figura 18. Grano de soya blanqueado.....	80
Figura 20. Filtrado de bebida de soya.....	80
Figura 21. Okara	80
Figura 22. Bebida de soya	80
Figura 23. Mezcla base pasteurizada	81
Figura 24. Pulpa de mora.....	81
Figura 27 Precipitado de la muestra de helado.....	82
Figura 28 Inactivación de la enzima lactasa	82
Figura 29. Determinación de absorbancia 505 nm.....	82
Figura 32. Catadores semientrenado empresa “GolositOrtiz”	82
Figura 33. Catadores de 8 a 10 años.....	82
Figura 34 Catadores de 15 a 17 años.....	82

RESUMEN

Las características físicas, reológicas y sensoriales que permiten obtener un helado de excelente calidad están directamente relacionadas con el sinergismo existente entre los estabilizantes utilizados para su elaboración. En la presente investigación se evaluó el efecto de la adición de distintas combinaciones (diferentes porcentajes) de cremodan, goma xantana, ice mix y omogel como agentes estabilizadores en la elaboración de un helado de mora a base de bebida de soya, sobre las características físicas, reológicas, sensoriales y nutricionales del mismo.

La calidad física (textura, porcentaje de overrun, tiempo de caída de la primera gota y porcentaje de derretimiento), reológica (módulo viscoso y módulo elástico) y sensorial fue evaluada en los cinco tratamientos propuestos mientras que la calidad nutricional (contenido de grasa total, azúcares, carbohidratos, energía y proteína) y el contenido de gluten y de lactosa fueron evaluados en el mejor tratamiento en base a las características físicas, reológicas y sensoriales, después de 24 horas de congelamiento.

Los resultados obtenidos permitieron establecer que la mejor combinación de estabilizantes fue la de 1,66 g/l de cremodan, 1,00 g/l de goma xantana, 0,66 g/l de ice mix y 1,66 g/l de omogel. Con esta mezcla de estabilizantes el helado obtuvo el mayor porcentaje de overrun, el mayor tiempo de caída de la primera gota, el menor porcentaje de derretimiento, alta calidad sensorial y un adecuado comportamiento reológico. Por otro lado, este helado fue categorizado libre de gluten y de lactosa y además, presentó un alto contenido proteico y bajo contenido calórico.

PALABRAS CLAVES: helado, bebida de soya, estabilizantes, calidad física, calidad nutricional, características reológicas

ABSTRACT

The physical, rheological and sensory characteristics associated with high quality ice cream, are directly related to the existing synergism between the different stabilizers used for processing. The aim of this research was to evaluate the effect of adding different combinations of stabilizers on the physical, rheological, sensorial and nutritional characteristics of a blackberry, soydrink-based ice cream.

The physical (texture, overrun melting percentages and falling time of the first drop), rheological (viscous and elastic modulus) and sensory quality was evaluated in five ice cream formulations whilst the nutritional quality (energy, total fat, sugar, carbohydrate and protein content) and the lactose and gluten content were evaluated only in the best treatment, selected on the basis of the physical, rheological and sensorial properties, after 24 hours of freezing.

According to the results, it was established that the best combination of stabilizers was 1,66 g/l of cremodan; 1,00 g/l of xanthan gum; 0,66 g/l of ice mix and 1,66 g/l of omogel. In effect, the ice cream prepared with this mixture of stabilizers presented the highest percentage of overrun, the highest falling-time of the first drop, the lowest percentage of melting, high sensory quality and an adequate rheological behavior. What's more, this ice cream was categorized as a gluten and lactose-free product and also had a high protein and low calorie content.

KEYWORDS: ice cream, soy drink, stabilizers, quality

INTRODUCCIÓN

El helado es un producto congelado, rico en grasas, carbohidratos, proteínas y minerales que se obtiene a partir de la mezcla de ingredientes lácteos o no lácteos, edulcorantes, estabilizantes, emulsificantes y saborizantes. En estado congelado consiste en un sistema coloidal complejo que contiene cristales de hielo, burbujas de aire y glóbulos de grasa **(López, Sepúlveda & Restrepo, 2010)**.

Existen alrededor de 240 tipos de helados que son consumidos a lo largo de todo el año y cuyos nutrientes son bien asimilados por el organismo humano, constituyendo uno de los principales postres a nivel mundial debido a su alto consumo **(Soukoulis, Rontogianni & Tzia, 2010)**.

En la actualidad es muy común el uso de distintas bebidas, además de la leche vacuna, para la elaboración de helados. Una de éstas, es la bebida de soya, que permite disminuir el tamaño de los cristales de hielo, minimizar el efecto de choque térmico e incorporar mayor cantidad de burbujas de aire (aumentar el overrun) **(Gracas, Vileda, Ronaldo, Marcio & Tuler, 2011)**. Además, la soya juega un papel fundamental en el sistema de la alimentación, debido a los múltiples beneficios que se vinculan con su ingesta, ya que ayuda a reducir los síntomas asociados a la menopausia, a problemas cardíacos y a la osteoporosis **(Namrata, Parag & Gurmukh, 2009)**.

Los principales parámetros de calidad considerados en un helado son el porcentaje de overrun, la textura, el tiempo de caída de la primera gota, el porcentaje de derretimiento, parámetros reológicos (módulo viscoso y módulo elástico) y los atributos sensoriales (sabor, consistencia, cristalización, apariencia y aceptabilidad). Estos atributos son muy importantes ya que son determinantes de la aceptabilidad del producto.

La elección de la materia prima es importante para obtener un helado de óptima calidad, siendo uno de los principales ingredientes los estabilizantes. Éstos determinan la viscosidad de la mezcla, la incorporación de aire, la distribución de las burbujas de aire, el cuerpo, la textura y las propiedades de fusión **(Goff, 1997)**. Además, en la producción de helados se usan

diferentes azúcares como la fructosa, la sacarosa, la glucosa y el jarabe de maíz, aunque el endulzante principal es la sacarosa, debido a las características finales de sabor y textura que le confiere al helado (**Ozdemir, Dagdemir & Sagdic, 2008**). Sin embargo, el uso de endulzantes naturales alternativos como la stevia es muy aceptado actualmente, debido a los beneficios que aporta a la salud, ya que ayuda en la absorción de grasas, regula la tensión arterial y facilita la digestión.

El objetivo de la presente investigación fue formular y elaborar un helado de mora a base de bebida de soya, con contenido medio en azúcar y libre de gluten y lactosa, con la finalidad de que la empresa “GolositOrtiz” pueda cubrir su mercado actual (bares escolares) y además, pueda convertirse en la primera empresa de Ecuador en comercializar helados aptos para el consumo por personas celíacas, intolerantes a la lactosa o alérgicas a la proteína de la leche.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1. Tema

Formulación y elaboración de un helado de mora libre de gluten y lactosa a base de bebida de soya y con contenido medio en azúcar.

1.2. Justificación

En la actualidad las tendencias alimentarias están cambiando en busca de una mejor calidad de vida y un mayor cuidado de la salud, dando como resultado una reducción del consumo de alimentos con alto contenido de grasa, azúcar y sal (**Ozdemir et al., 2008**). Por otro lado, el reglamento de control y funcionamiento de bares escolares establecido por el gobierno de Ecuador (**MSP & MINEDUC, 2014a**) exige que los alimentos procesados que se expendan en los bares escolares tengan únicamente concentraciones bajas (semaforización verde) y medias (semaforización amarilla) de grasas, azúcares y sal (sodio), a la vez que prohíbe el expendio de alimentos con altas concentraciones de dichos componentes (semaforización roja). Para cumplir con la semaforización en amarillo, el contenido de azúcar total debe estar entre 2,5 y 7,5 gramos y el de grasa total entre 1,5 y 10 gramos por cada 100 ml de helado (**MSP & MINEDUC, 2014b**). Debido a que la normativa de semaforización es obligatoria, las industrias alimentarias se ven en la necesidad de ofertar productos que cumplan con la norma y que a la vez, respondan a las exigencias de los consumidores.

Dado que los bares escolares constituyen el principal mercado de la empresa productora de helados “GolositOrtiz”, es necesario que la misma desarrolle un producto que cumpla con la normativa Nacional vigente suscrita por el Ministerio de Salud Pública (MSP) y el Ministerio de Educación (MINEDUC).

Por otro lado, las alergias e intolerancias alimentarias son reacciones a ciertos tipos de alimentos como la leche (lactosa y caseína) y el trigo (gluten), que provocan afecciones al sistema inmunológico (alergias) y al sistema metabólico (intolerancias). En la actualidad se reconoce que a nivel

mundial las alergias e intolerancias alimentarias son importantes en la seguridad alimentaria, ya que la incidencia en la población infantil es del 3 al 7 % y en la población adulta es de un 2 % **(Fernandez, 2006)**. Debido a esto, la industria alimenticia debe procurar proporcionar alimentos que permitan a las personas que sufren algún tipo de alergia o intolerancia, llevar una dieta adecuada y fiable. **(Fernandez, 2006)**.

El uso de una bebida de soya para la elaboración de helados permite satisfacer las necesidades de aquellas personas intolerantes a la lactosa y aquellas que son alérgicas a la proteína de la leche y al garantizar un producto libre de gluten, éste puede ser consumido por personas celíacas para quienes no existe actualmente este tipo de producto en el mercado ecuatoriano. Así, “GolositOrtiz” sería la primera empresa productora de helados sin gluten y sin lactosa en el Ecuador.

1.3. Objetivos

1.3.1. General

- Formular y elaborar un helado de mora libre de gluten y lactosa, a base de bebida de soya y con contenido medio en azúcar.

1.3.2. Específicos

a) Identificar la mejor combinación de estabilizantes para la elaboración de helado de mora, en función de la textura, el porcentaje de overrun, el porcentaje de derretimiento, el tiempo de caída de la primera gota y la calidad sensorial.

b) Analizar el valor nutricional (contenido de grasa total, azúcares, carbohidratos, energía y proteína) de la mejor formulación de helado obtenido en el punto a.

c) Determinar el contenido de lactosa y gluten de la mejor formulación de helado obtenido en el punto a.

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes Investigativos

El helado es una dispersión coloidal que consta de una fase dispersa compuesta principalmente por burbujas de aire, cristales de hielo y glóbulos de grasa emulsionados y dispersados y, una fase continua que contiene proteínas de leche, azúcares e hidrocoloides disueltos en agua no congelada **(Pintor-Jardines & Totasaus, 2013)**.

Los principales ingredientes para la elaboración de helados son:

- **Leche y bebidas no lácteas:** son la materia prima base para la elaboración de helados y la única diferencia entre ellas es su origen (animal o vegetal) y el contenido de proteína y grasa **(Namrata *et al.*, 2009)**.
- **Azúcares:** proporcionan el sabor dulce al helado, influyen en el punto de congelación, aumentan la viscosidad, disminuyen la dureza y mejoran la textura y la palatabilidad **(Pintor-Jardines & Totasaus, 2013)**.
- **Pulpa de fruta:** la función de ésta es reforzar el sabor propio e inherente del helado o transmitir un sabor y/o aroma determinado, con el fin de hacerlo más apetitoso.
- **Estabilizantes y emulsificantes:** son ingredientes usados en bajas concentraciones (0,2-0,5%) **(Goff, 1997)**. En conjunto, los emulsificantes y estabilizantes determinan las propiedades reológicas del producto y aportan suavidad, cuerpo y textura a los helados. Estos ingredientes retardan o reducen el crecimiento de cristales de hielo durante el proceso de congelamiento y el almacenamiento, impartiendo uniformidad y resistencia al derretimiento **(Sharma, Charanjiv, Sarkar & Shitandi, 2009)**. También incrementan la viscosidad de la mezcla, promueven la incorporación de aire (overrun) y estabilizan al sistema contra la separación de fases, ligando el agua libre a los glóbulos de grasa **(Pintor-Jardines & Totasaus, 2013)**.

Debido a los problemas asociados con la ingesta de leche vacuna como las alergias, las intolerancias y el aumento del colesterol, se ha producido un aumento en la demanda de sustitutos de esta leche para la fabricación de helados (**Fatemeh, Ahmad & Mlsni, 2014**). Estos autores sustituyeron parcial y totalmente la leche de vaca por una bebida de soya y reportaron que esta bebida fue una buena opción para la elaboración de helados debido a su alta calidad nutricional, especialmente con respecto al contenido de proteínas y aminoácidos. Además, el uso de esta bebida tuvo efectos favorables sobre las propiedades físicas del helado, ya que aumentó la viscosidad y mejoró las propiedades de fusión del producto final. Sin embargo, sólo los helados elaborados con sustitución parcial de leche vacuna obtuvieron un valor de aceptabilidad por los consumidores similar a los helados fabricados con leche vacuna.

Namrata et al. (2009) utilizaron bebida de soya para la elaboración de helados y obtuvieron un producto con características adecuadas de cuerpo y textura, similares a las obtenidas usando leche de vaca. Sin embargo, el producto desarrollado presentó un ligero sabor a frijol que, acorde a los autores, podría ser eliminado mejorando las técnicas de elaboración de la bebida de soya.

En la actualidad es muy común sustituir el azúcar por edulcorantes artificiales o naturales en la elaboración de helado. **Bahareh, Rezvan & Fardin (2014)** elaboraron helados a base de bebida de soya y diferentes proporciones (30:70, 40:60 y 50:50) de stevia e isomaltosa, respectivamente. Estos autores evaluaron parámetros físicos, químicos y sensoriales de los helados obtenidos y reportaron que el mejor helado se obtuvo con la proporción de (50:50) de stevia e isomaltosa.

Finalmente, este estudio mostró que fue posible elaborar un helado a base de bebida de soya con propiedades sensoriales deseables, un alto valor nutricional y adecuado para aquellas personas con intolerancia a la lactosa o con problemas de hipertensión, obesidad o diabetes.

La elección de los estabilizantes y emulsionantes para la elaboración de helados es fundamental, ya que éstos tienen una influencia directa en los siguientes parámetros:

- Aumento del porcentaje de overrun: permite que el helado forme una emulsión y espuma a la vez, mejorando el rendimiento **(Sofjan & Hartel, 2003)**.
- Reducción del tamaño de los cristales que se forman durante el proceso de batido, la congelación y la conservación de los helados, dando como resultado una textura suave y cremosa **(Vicente & Castillo, 2003)**.
- Retardo de las propiedades de fusión (porcentaje de derretimiento y caída de la primera gota).
- Aumento de la viscosidad de la mezcla, la consistencia y la sensación agradable al paladar **(Wildmoser, Scheiwiller & Windhab, 2004)**.

Los estabilizantes más usados en la elaboración de helados son la carboximetilcelulosa y los polisacáridos como las gomas guar, xantana, carragenina, karaya y tara. Como emulsionantes se utilizan la lecitina de soya y los monoglicéridos y diglicéridos de ácidos grasos.

Posada, Sepúlveda & Restrepo (2012) elaboraron un helado de leche vacuna y comprobaron mediante pruebas físicas (porcentaje de overrun, porcentaje de derretimiento y tiempo de caída de la primera gota) que el uso de una mezcla de varios tipos de estabilizantes para la elaboración de helados permite obtener mejores características que cuando se utiliza sólo uno de ellos.

2.2. Hipótesis

Ho: La sustitución de leche vacuna por una bebida de soya y los estabilizantes utilizados no influyen en la calidad del helado elaborado.

Ha: La sustitución de leche vacuna por una bebida de soya y los estabilizantes utilizados influyen en la calidad del helado elaborado.

2.3. Señalamiento de variables de las hipótesis

2.3.1. Variables Independientes

- Tipo de “leche” (leche vacuna y bebida de soya) y combinación de estabilizantes.

2.3.2. Variable Dependiente

- Calidad del helado

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

3.1.2. Materia prima

Bebida de soya: grano de soya, agua, bicarbonato de sodio

Helado de bebida de soya

- Estabilizantes (Cremodan, Ice mix, Omogel, Goma xantana)
- Emulsionante (lecitina de soya)
- Bebida de soya
- Azúcar (sacarosa)
- Endulzante (stevia)
- Leche de soya en polvo
- Pulpa de mora
- Aditivos (mejoradores de sabor)

3.1.3. Equipos para la elaboración del helado

- Máquina batidora
- Licuadora industrial
- Cámara de frío (-25 °C)
- Pasteurizadora
- Refrigeradora

3.1.4. Materiales y equipos de laboratorio

- Vasos de precipitación
- Tubos eppendorf
- Probetas
- Balanza analítica
- Espectrofotómetro

- Reómetro
- Estufa
- Centrífuga

3.1.5. Reactivos

- Ferrocianuro de potasio $K_4(Fe(CN)_6)$
- Sulfato de Zinc $Zn(SO_4)$
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Enzima lactasa
- Lactosa
- Glucosa
- Fosfato de sodio di hidrogenado
- Fosfato de sodio hidrogenado
- Kit para la cuantificación enzimática de glucosa

3.2. Métodos

Se realizaron estudios preliminares para determinar el mejor tipo de procesado para la obtención de la bebida de soya. Para esto se consideró como mejor tratamiento aquel que permitió eliminar el sabor afrijolado en la elaboración de helado.

Los procesos evaluados fueron:

- a) Ablandado del cotiledón durante 12 horas y licuado, ambos procesos con agua a temperatura ambiente.
- b) Ablandado del cotiledón durante 12 horas en agua a temperatura ambiente y licuado con agua en ebullición.
- c) Tostado a 150 °C, ablandado del cotiledón durante 10 minutos con agua en ebullición con 0,5 % de bicarbonato de sodio y licuado con agua en ebullición.

La bebida que presentó un mejor sabor fue la obtenida en el proceso c.

Para la formulación del helado de mora libre de gluten y lactosa se utilizó 4 diferentes combinaciones de estabilizantes, las cuales fueron seleccionadas en base a la experiencia de los miembros de la empresa. Además, en base a bibliografía y a disponibilidad se consideró la adición de una goma que permitió obtener mejores características físicas, reológicas y sensoriales.

En cuanto a las características sensoriales se realizaron pruebas preliminares para determinar cuál fue la mejor proporción de mezcla base: pulpa de mora (50:50, 75:25, 60:40), respectivamente y proporciones de diferentes aditivos mejoradores de sabor.

La mezcla base seleccionada fue la de (60:40), ya que permitió disimular el sabor propio de la leche de soya.

Los helados se elaboraron siguiendo el protocolo estandarizado de la empresa “GolositOrtiz” (Figuras 1 y 2).

Diagrama de flujo de elaboración de bebida de soya

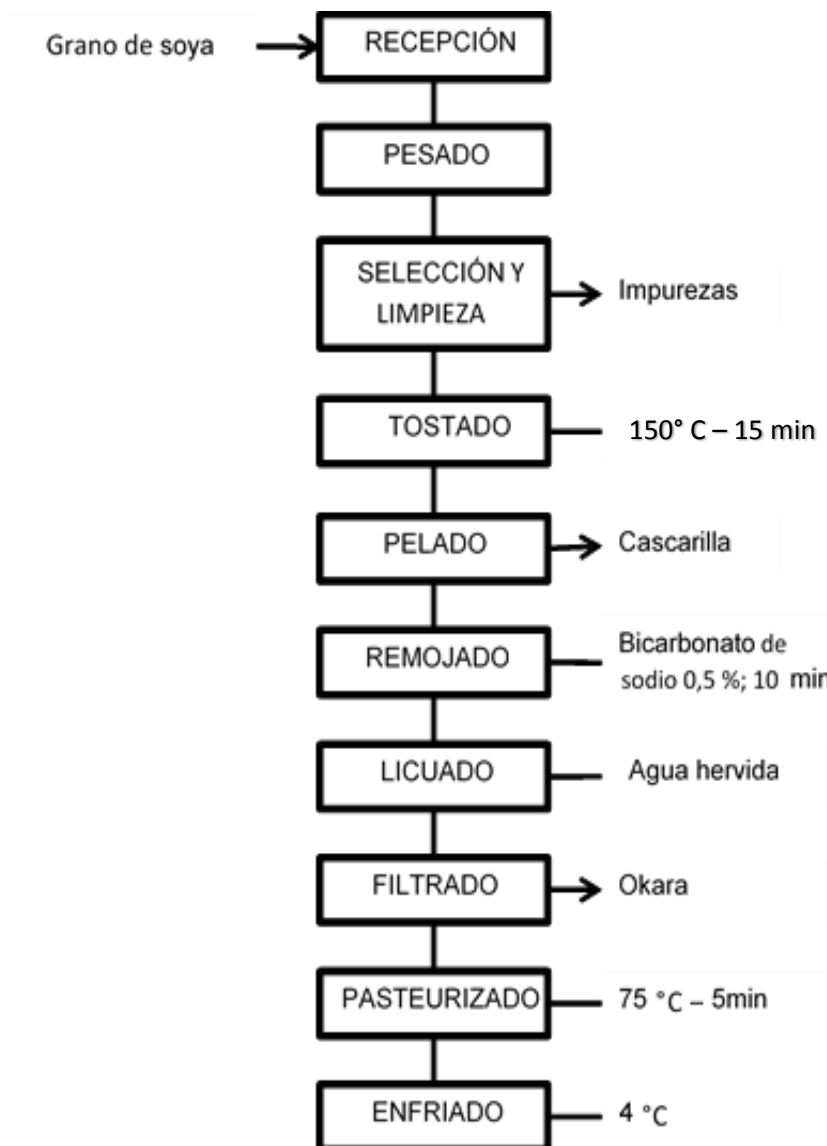


Figura 1. Proceso de elaboración de bebida pasteurizada de soya

Fuente: Heladería “GolositOrtiz”; 2016

Diagrama de flujo de elaboración de helados a base de bebida de soya

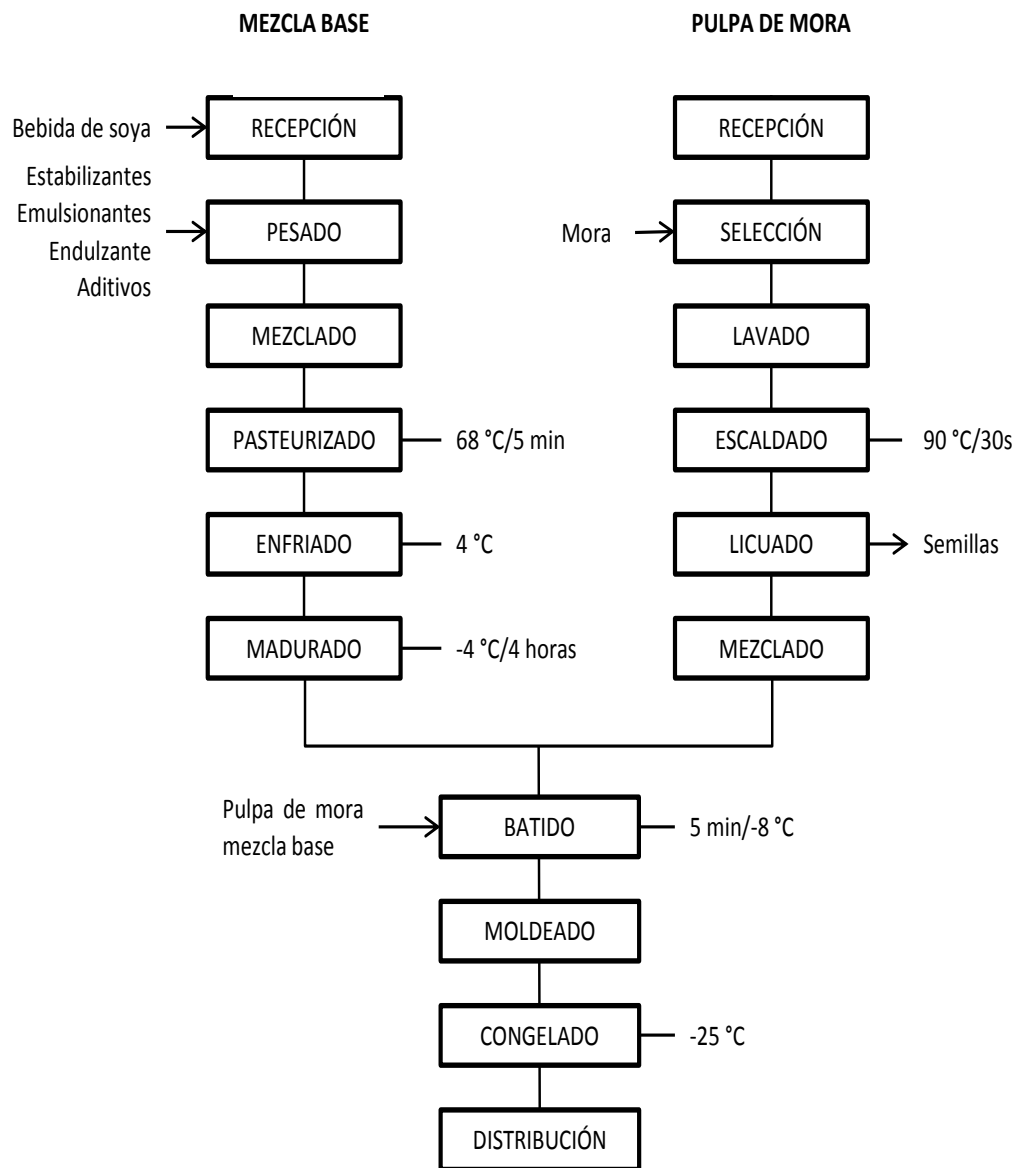


Figura 2. Proceso de elaboración de helado de mora a base de bebida de soya

Fuente: Heladería “GolositOrtiz”; 2016

3.2.1. Determinación de los parámetros de calidad

3.2.1.1. Porcentaje de overrun

Mil ml de la mezcla base madurada sin incorporación de aire se batieron durante 10 minutos y se midió el volumen del helado después de 4 horas de exposición a temperatura ambiente. El porcentaje de overrun se calculó usando la siguiente ecuación **(Ec. 1) (Muhammet, Fehmi & Oguz, 2005)**:

$$\% \text{ overrun} = \frac{\text{volumen final} - \text{volumen inicial}}{\text{volumen inicial}} \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Donde:

Volumen final: volumen del helado después del batido

Volumen inicial: volumen de la mezcla base sin batir

3.2.1.2. Porcentaje de derretimiento y tiempo de caída de la primera gota

Una muestra de helado de $35 \pm 0,5$ g almacenada durante un día a -18 °C se colocó sobre una malla de 56 orificios/cm² y se tomó el tiempo que tardó en caer la primera gota de helado a temperatura ambiente, admitiendo una tolerancia de ± 15 segundos **(Posada et al., 2012)**. Después de la caída de la primera gota se registró el porcentaje de derretimiento a los 20 minutos y el porcentaje de derretimiento total del helado controlando la temperatura (20-25 °C) con un sistema de aire acondicionado **(Chacón, Pineda & Jiménez, 2016)**.

El porcentaje de derretimiento se calculó usando la siguiente ecuación **(Ec. 2)**:

$$\% \text{ derretimiento} = \frac{MD}{MI} * 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

MD: masa total derretida del helado

MI: masa inicial del helado

3.2.1.3. Textura

Se determinó mediante análisis sensorial por medio de catadores entrenados (miembros de la empresa), con experiencia para determinar diferencias poco notables para los consumidores. Para este atributo se evaluó el grado de cristalización, arenosidad, esponjosidad, gomosidad y de cremosidad **(Villacís, 2010)** (ANEXO 1).

3.2.1.4. Parámetros reológicos

Para la determinación de los parámetros reológicos se utilizó un reómetro (Anton Paar, modelo MCR 302, Ashland-EE.UU), con una geometría de plato (gap, 4 mm). Los resultados son el promedio de 3 determinaciones. Las muestras (discos de helado) se evaluaron a través de un barrido dinámico de frecuencia con una amplitud de oscilación de 0,1 % y un intervalo de 0,1 – 100 Hz. El módulo elástico (G' , Pa) y el módulo viscoso (G'' , Pa) se trazaron en función de la frecuencia y manteniendo la temperatura constante a -15 °C, -10 °C, -5 °C y 0 °C, respectivamente **(Wildmoser et al., 2004)**.

3.2.1.5. Análisis sensorial

La evaluación sensorial se realizó con dos grupos de estudiantes, el primero de 8 a 10 años y el segundo de 15 a 17 años. Para el primer grupo se utilizó una escala hedónica facial mixta de cinco puntos en la cual 1 y 5 correspondieron a “no me gustó” y “me encantó”, respectivamente **(Cunha, Botelho, Brito, Oliveira & Stedefeldt, 2013)**. El segundo grupo evaluó los parámetros de apariencia, consistencia, cristalización, sabor y aceptabilidad **(López et al., 2010)** mediante una prueba de aceptación con una escala de 5 puntos en la cual 1 y 5, correspondieron al peor y mejor puntaje, respectivamente. Cada grupo constó de 16 estudiantes (8 mujeres y 8 hombres) de una unidad educativa de la ciudad de Ambato, potenciales consumidores del producto (ANEXO 1).

3.2.2. Análisis nutricionales

Estos análisis se realizaron sólo al mejor tratamiento, en el laboratorio de control y análisis de alimentos (LACONAL) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos e incluyeron las siguientes determinaciones:

3.2.2.1. Análisis de proteínas

Se determinó mediante el método de la AOAC 991.2. Ed 19,2012.

3.2.2.2. Contenido de sólidos totales

Se determinó mediante el método PE06-5,4-FQ AOAC Ed 19 927.05.

3.2.2.3. Porcentaje de grasa

Se determinó mediante el método de la AOAC 2000.18 Gerber. Ed 19,2012.

3.2.2.4. Determinación de carbohidratos totales

Se determinó mediante la siguiente ecuación **(Ec. 3)**:

$$\text{Carbohidratos totales} = 100 - \Sigma(\text{Proteína} + \text{ceniza} + \text{Humedad} + \text{Fibra} + \text{grasa}) \quad \text{(Ec. 3)}$$

Adicionalmente, al mejor tratamiento se le realizaron los siguientes análisis:

3.2.3. Características químicas

3.2.3.1. Potencial hidrógeno (pH)

Se determinó mediante el método de la AOAC 942.15.Ed19, 2012.

3.2.3.2. Contenido de lactosa

Se determinó mediante el método de la AOAC 984.15, 2003 (método enzimático), pero a través de la cuantificación de glucosa en lugar de galactosa **(Trinder, 1969)** (ANEXO 2).

3.2.3.3. Contenido de gluten

El contenido de gluten fue determinado mediante el método de inmunocromatografía (GLUTENTOX) y los análisis se realizaron en el laboratorio Guijarro LASA S.A.

3.3. Diseño experimental

Se usó un diseño factorial simple en el cual se analizaron 5 tratamientos: dos controles y tres formulaciones nuevas (Tabla 1). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Tabla 1. Formulación de los helados evaluados

TRATAMIENTOS										
Estabilizantes	Leche de vaca		Bebida de soya							
	C1-M1		C2-M1		T1-M2		T2-M3		T3-M4	
	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%
Cremodan	2,660	0,026	2,660	0,026	2,330	0,023	2,000	0,020	1,660	0,0166
Ice mix	1,330	0,013	1,330	0,013	0,332	0,003	0,660	0,006	1,000	0,0100
Omogel	1,330	0,013	1,330	0,013	1,000	0,010	1,330	0,013	0,660	0,0060
Goma xantana					1,000	0,010	1,330	0,013	1,660	0,0166
Concentración total (%)	0,052				0,046		0,052		0,049	

Fuente: Ortiz, E; 2016

C1: leche de vaca; C2, T1, T2, T3: leche de soya

M1, M2, M3, M4: diferentes mezclas de estabilizantes usadas

3.3.1. Análisis estadísticos

Los resultados se compararon mediante un análisis de varianza ($\alpha = 0,05$) y cuando éste fue significativo, se utilizó el test de Tukey para la comparación de las medias, empleando el programa estadístico IBM SPSS para Windows, versión 21.0 (IBM Corp., NY, USA).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto de la mezcla de estabilizantes sobre los parámetros de calidad del helado

4.1.1. Porcentaje de overrun, tiempo de caída de la primera gota y porcentaje de derretimiento

En la tabla 2 se muestran el porcentaje de overrun, el tiempo de caída de la primera gota de helado y el porcentaje de derretimiento (determinado a los 20 minutos de exposición a temperatura ambiente) de los cinco helados evaluados.

Tabla 2. Porcentaje de overrun, tiempo de caída (min) de la primera gota de helado y porcentaje de derretimiento después de 20 minutos a temperatura ambiente de los cinco helados evaluados

Tratamiento	Overrun (%)	Tiempo de caída de la primera gota (min)	Derretimiento (%)
C1-M1	50,53 ± 0,33 a	4,46 ± 0,23 a	35,42 ± 2,79 c
C2-M1	63,67 ± 0,31 b	14,67 ± 0,47 b	21,38 ± 0,60 a
T1-M2	61,11 ± 0,55 c	15,05 ± 0,13 b	23,70 ± 0,54 b
T2-M3	64,61 ± 0,40 d	21,27 ± 0,26 c	20,51 ± 0,44 a
T3-M4	68,06 ± 0,28 e	22,26 ± 0,27 e	19,72 ± 0,35 a

Fuente: Ortiz, E; 2016

Los resultados se expresan como la media ± la desviación estándar de nueve mediciones de cada tratamiento.

C1: leche de vaca, C2, T1, T2 y T3: leche de soya

M1, M2, M3, M4: mezclas de los diferentes estabilizantes

Letras diferentes indican, para cada parámetro estudiado, diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

4.1.1.1. Porcentaje de overrun

La incorporación de aire al helado está directamente relacionada con la formulación de la mezcla, siendo el tipo y la cantidad de estabilizantes usados los factores más importantes en la determinación de la calidad final del helado. El porcentaje de overrun también está directamente relacionado con el rendimiento, siendo deseable que el helado presente un porcentaje de overrun en el rango de 70 a 80 %. Además, si el porcentaje de overrun es demasiado bajo, el helado presentará una estructura dura y compacta, lo que reducirá el margen de utilidad y la aceptabilidad del producto **(Alfaifi & Stathopoulos, 2010)**. Todos los tratamientos fueron significativamente diferentes en el porcentaje de overrun. El mayor porcentaje de overrun fue de 68,06 % en el tratamiento 3 y el menor fue de 50,53 % en el control 1, con valores intermedios en los otros tratamientos.

Estos resultados son similares a los reportados por **Bahareh et al. (2014)** y **Sofjan & Hartel (2003)** quienes evaluaron helados elaborados con leche de vaca y presentaron valores de porcentaje de overrun de 70 a 80 % y de 80 a 120 %, respectivamente. Estos valores fueron explicados por el contenido de grasa que tenía el helado y el mejor porcentaje de overrun fue de 80 % ya que estos helados presentaron células de aire medianas y cristales de hielo más pequeños después del endurecimiento. Por otro lado, cuando el overrun fue de 120 %, hubo mayor desestabilización del helado, que presentó una textura poco homogénea.

4.1.1.2. Tiempo de caída de la primera gota de helado a temperatura ambiente

Como se puede observar en la tabla 2, el tiempo de caída de la primera gota de helado fue significativamente diferente entre todos los tratamientos evaluados, excepto entre el C2-M1 y T1-M2. El tiempo más bajo de caída de la primera gota se registró cuando se utilizó leche vacuna mientras que el uso de bebida de soya permitió reducir la velocidad de derretimiento del helado. Además, se puede evidenciar que el uso de cremodan y goma

xantana en mayor porcentaje tuvo influencia directa en el mejoramiento del tiempo de caída de la primera gota del helado, ya que el efecto integrado de gomas (goma xantana, goma guar, goma de celulosa) y los emulsionantes (monoglicéridos y diglicéridos de ácidos grasos) que contienen los estabilizantes, permitió que el tratamiento T3-M4 obtuviera el mejor tiempo de caída de la primera gota que fue de 22,26 minutos, mejorando la habilidad de batido en el proceso de producción. Por otro lado, el uso de los estabilizantes ice mix y omogel y el emulsionante lecitina de soya ayudaron a mejorar las características físicas y sensoriales (textura) de los helados.

Los resultados para los tiempos de caída de la primera gota de los helados elaborados a base de bebida de soya son similares a los reportados por **López et al. (2010)**, quienes evaluaron el uso de grasa láctea y no láctea para la elaboración de helados a base de leche de vaca y obtuvieron un tiempo medio de caída de la primera gota de 30 minutos para todos los tratamientos evaluados, mientras que **Posada et al. (2012)** presentaron valores de entre 16 y 19 minutos para helados a base de leche de vaca y una mezcla de goma guar con carragenina. Estos autores indicaron que al aumentar la viscosidad de la mezcla debido al efecto de los estabilizantes y gomas en conjunto, también aumentaron la resistencia de fusión y la suavidad del helado.

4.1.1.3. Porcentaje de derretimiento a temperatura ambiente

En cuanto al porcentaje de derretimiento no hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos, excepto en los tratamientos C1-M1 y T1-M2. En la tabla 2 se observa el porcentaje de derretimiento de cada formulación luego de 20 min, que es el tiempo promedio de consumo de un helado (**Chacón et al., 2016**). De acuerdo a los resultados obtenidos, todos los tratamientos elaborados a base de bebida de soya se encontraron dentro de los parámetros recomendados por **Posada et al. (2012)** quienes evaluaron mezclas de estabilizantes en helados a base de leche de vaca y obtuvieron porcentajes de derretimiento en el rango de 28 a 35 %. Además, demostraron que la naturaleza y el tipo de estabilizantes tuvieron influencia directa en las propiedades fusión.

En la figura 3 se puede observar el porcentaje total de derretimiento del helado, tomado cada dos minutos a temperatura controlada (20-25 °C). Los tratamientos C2-M1, T1-M2, T2-M3 y T3-M4 fueron más resistentes al derretimiento frente al testigo elaborado con leche vacuna, demostrando que la base (bebida de soya) tuvo influencia significativa en este parámetro de calidad del helado y que la combinación de estabilizantes M4 fue la que permitió obtener el menor porcentaje de derretimiento.

El uso de bebida de soya y la combinación de los estabilizantes cremodan, goma xantana, omogel y ice mix tuvo una influencia positiva en los parámetros físicos del helado. En efecto, el tratamiento T3-M4 presentó el mejor porcentaje de overrun, el mayor tiempo de caída de la primera gota y el menor porcentaje de derretimiento.

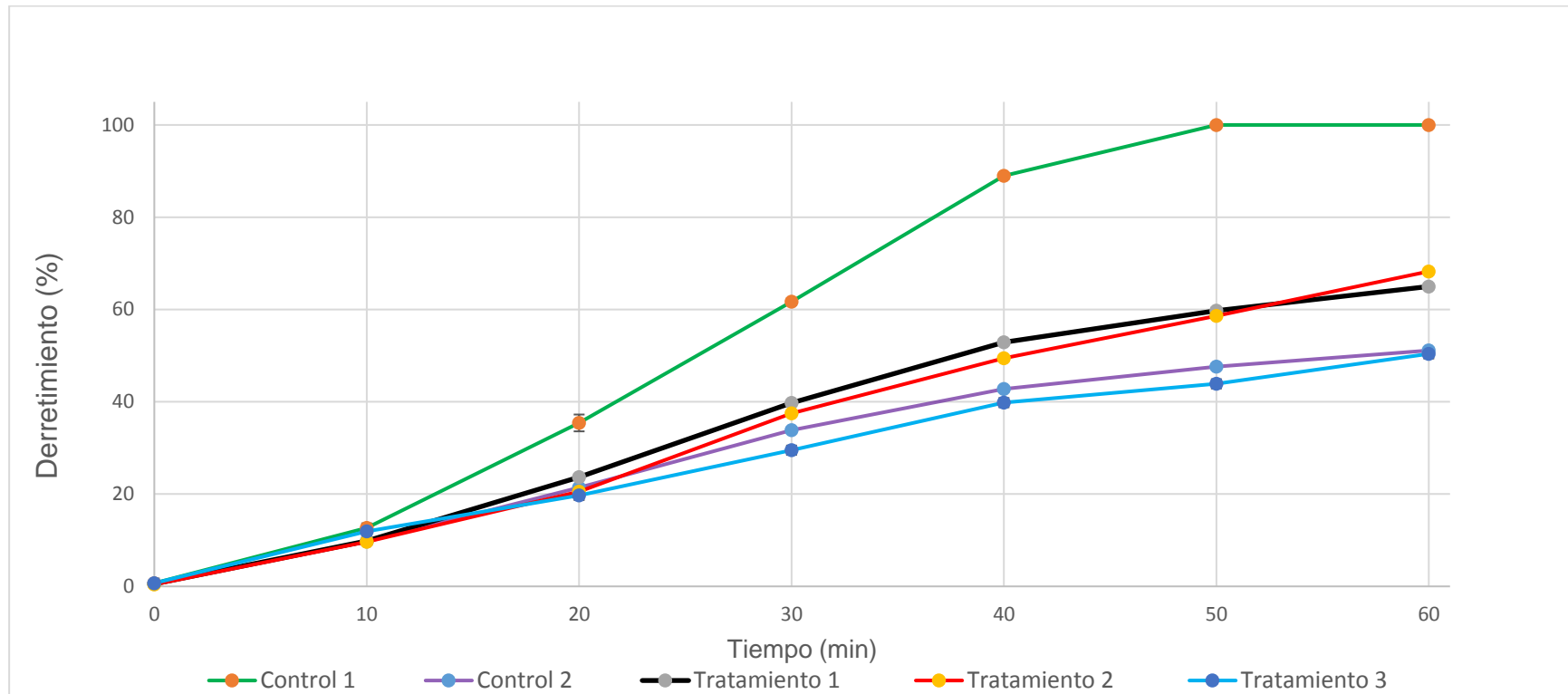


Figura 3. Porcentaje de derretimiento de helado con respecto al tiempo (min)

Fuente: Ortiz, E; 2016

Los valores representan el promedio de 9 mediciones (n=9) y las barras de error representan el IC (95%) de la media

C1: leche de vaca; C2, T1, T2, T3: leche de soya

M1, M2, M3, M4: mezclas de los diferentes estabilizantes

4.2. Parámetros reológicos

En las figuras 4 y 5 se muestran el módulo de almacenamiento (G' , Pa), que representa el componente elástico y el módulo de pérdida (G'' , Pa), que representa el carácter viscoso de las formulaciones de helado estudiadas, determinados mediante un ensayo de barrido de frecuencia realizado a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

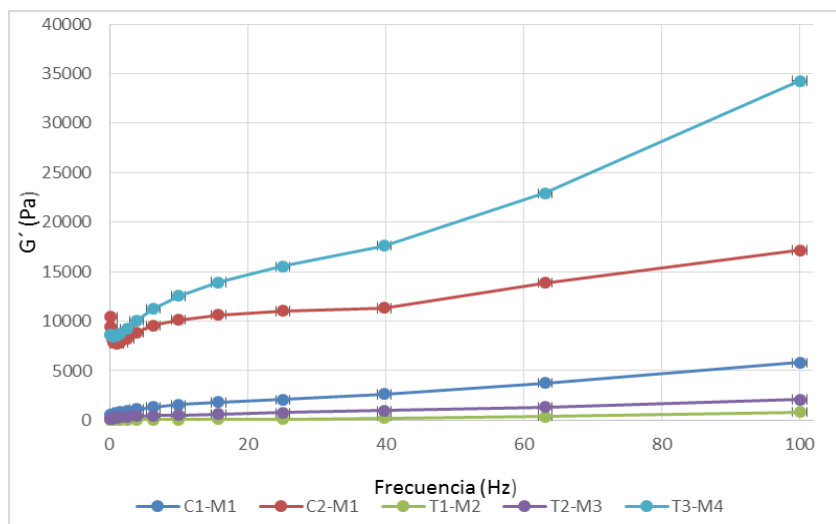


Figura 5. Módulo de almacenamiento (G' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4), medido a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$

Fuente: Ortiz, E; 2016

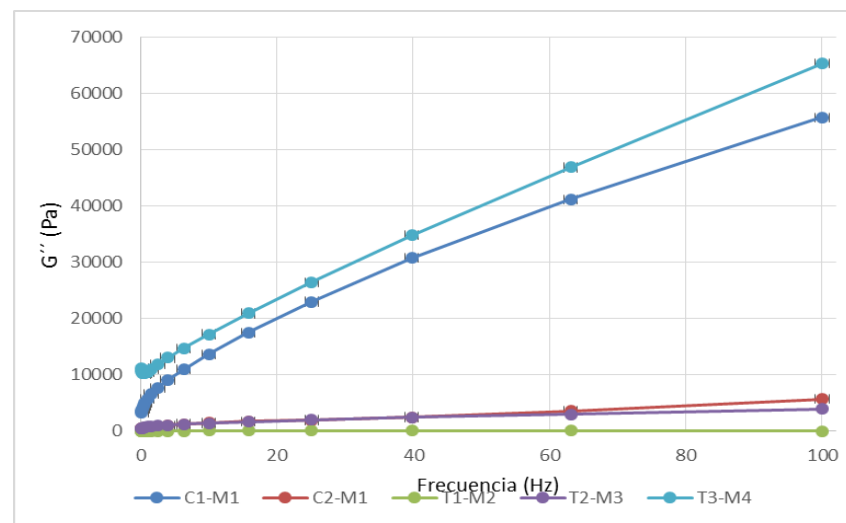


Figura 4. Módulo de pérdida (G'' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4), medido a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$

Fuente: Ortiz, E; 2016

Los valores representan el promedio de 3 mediciones ($n=3$) y las barras de error representan el IC (95 %) de la media
 C1: Leche de vaca; C2, T1, T2, T3: Bebida de soya - M1, M2, M3, M4: Mezclas de los diferentes estabilizantes

En las figuras 6 y 7 se muestran el módulo de almacenamiento (G' , Pa), que representa el componente elástico y el módulo de pérdida (G'' , Pa), que representa el carácter viscoso de las diferentes formulaciones de helado evaluadas, determinados mediante un ensayo de barrido de frecuencia realizado a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$.

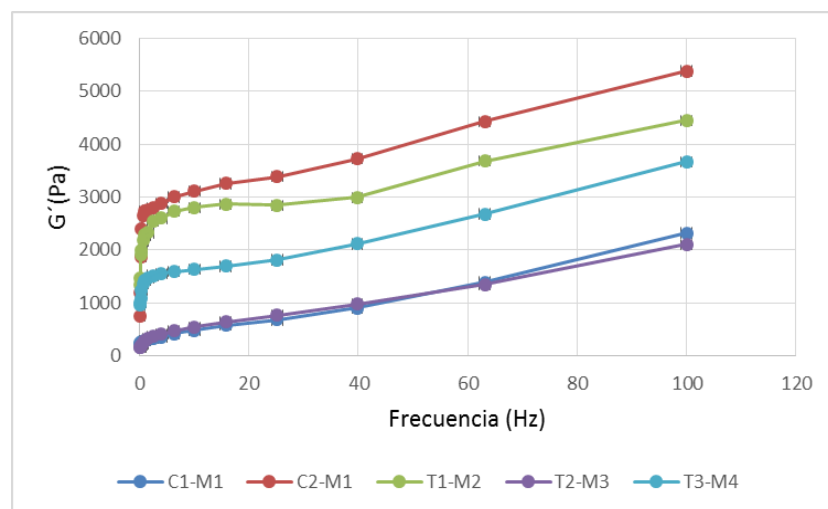


Figura 6 Módulo de pérdida (G'' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4) medido a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$

Fuente: Ortiz, E; 2016

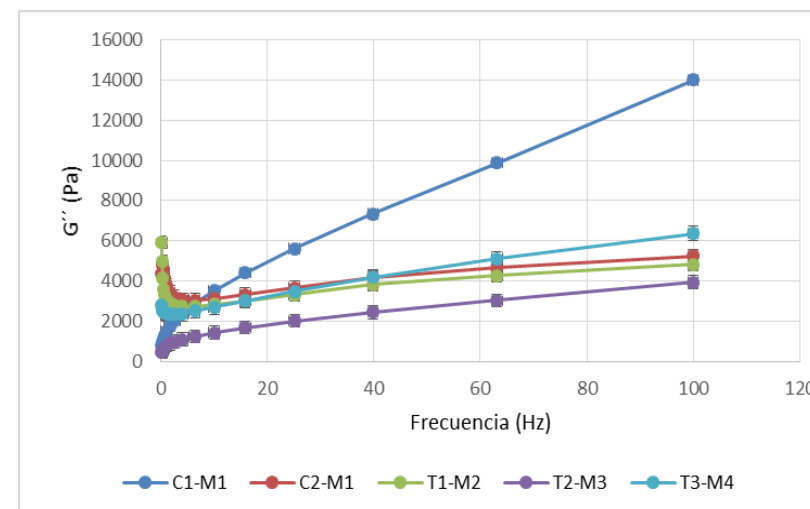


Figura 7. Módulo de almacenamiento (G' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4) medido a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$

Fuente: Ortiz, E; 2016

Los valores representan el promedio de 3 mediciones ($n=3$) y las barras de error representan el IC (95 %) de la media
 C1: Leche de vaca; C2, T1, T2, T3: Bebida de soya - M1, M2, M3, M4: Mezclas de los diferentes estabilizantes

En las figuras 8 y 9 se muestran el módulo de almacenamiento (G' ; Pa), que representa el componente elástico y el módulo de pérdida (G'' , Pa), que representa el carácter viscoso de las diferentes formulaciones de helado evaluadas, determinados mediante un ensayo de barrido de frecuencia realizado a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$

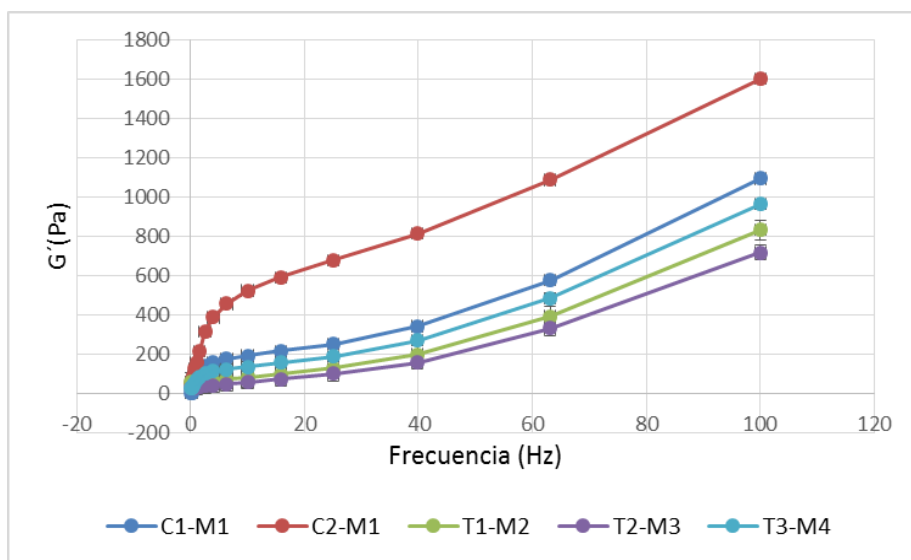


Figura 9. Módulo de almacenamiento (G' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4) medido a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$

Fuente: Ortiz, E; 2016

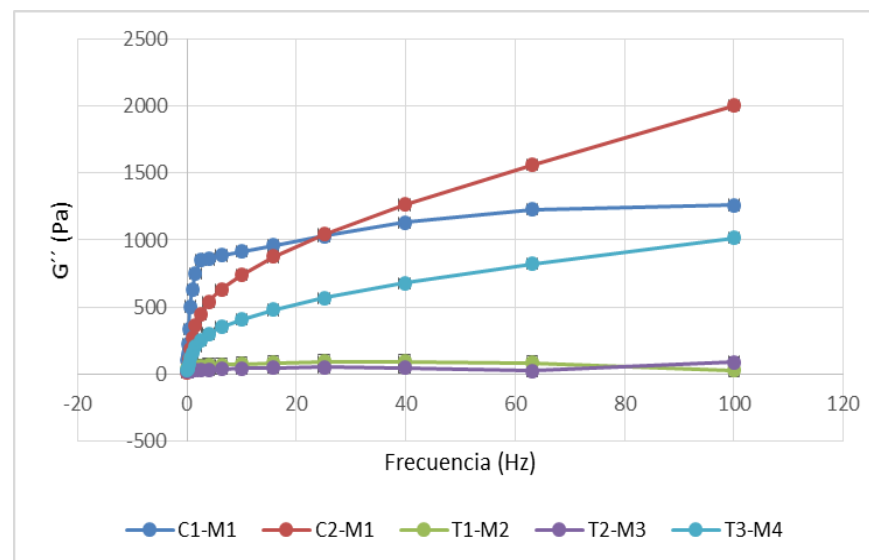


Figura 8. Módulo de pérdida (G'' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4) medido a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$

Fuente: Ortiz, E; 2016

Los valores representan el promedio de 3 mediciones ($n=3$) y las barras de error representan el IC (95 %) de la media
 C1: Leche de vaca; C2, T1, T2, T3: Bebida de soya - M1, M2, M3, M4: Mezclas de los diferentes estabilizantes

En las figuras 10 y 11 se muestran el módulo de almacenamiento (G' , Pa), que representa el componente elástico y el módulo de pérdida (G'' , Pa), que representa el carácter viscoso de las diferentes formulaciones de helado evaluadas, determinados mediante un ensayo de barrido de frecuencia realizado a 0°C

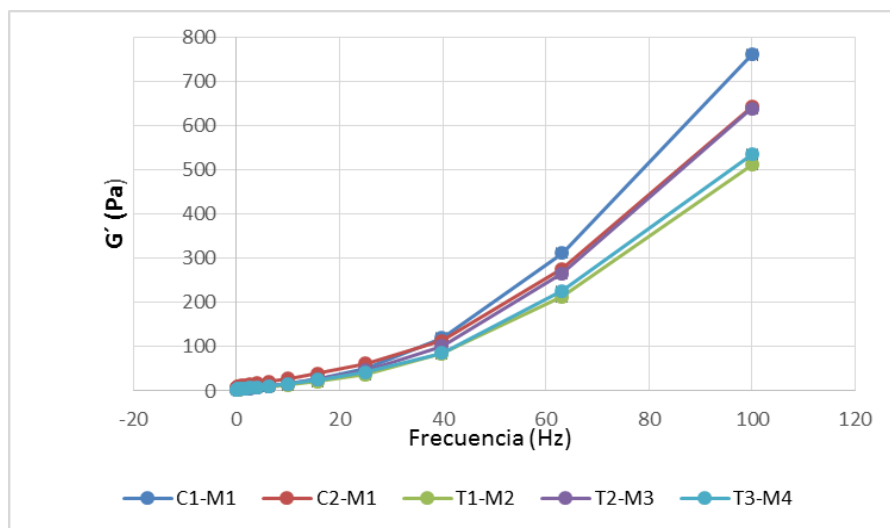


Figura 11. Módulo de almacenamiento (G' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4), medido a 0°C

Fuente: Ortiz, E; 2016

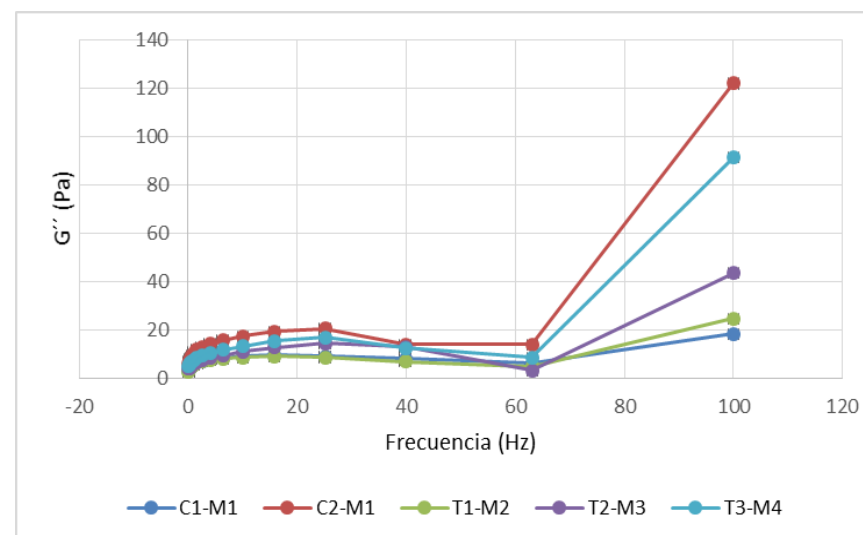


Figura 10. Módulo de pérdida (G'' , Pa) de las diferentes formulaciones de helado (C1-M1, C2-M1, T1-M2, T2-M3, T3-M4), medido a 0°C

Fuente: Ortiz, E; 2016

Los valores representan el promedio de 3 mediciones ($n=3$) y las barras de error representan el IC (95 %) de la media
 C1: Leche de vaca; C2, T1, T2, T3: Bebida de soya - M1, M2, M3, M4: Mezclas de los diferentes estabilizantes

En las figuras 4 y 5 (mediciones a -15 °C) se evidencia que los tratamientos C2-M1 y T3-M4 tendieron a incrementar su gomosidad y el tratamiento C1-M1 y T3-M4 incrementó su carácter elástico. Los demás tratamientos se comportan de manera similar, ya que presentaron la misma tendencia elástica y viscosa. Se puede notar que el tratamiento T3-M4 presentó un carácter viscoelástico siendo este comportamiento el adecuado para un helado que presenta características de textura cremosa (**Wildmoser et al., 2004**).

En las figuras 6, 7, 8 y 9 se observa que todos los tratamientos obtuvieron un comportamiento similar a -10° C y a -5° C, ya que el carácter viscoso y elástico tuvieron una tendencia ascendente con el aumento de la frecuencia (Hz), manteniendo su comportamiento viscoelástico. Sin embargo, se puede notar que los tratamientos T3-M4 y C2-M4 mantuvieron sus caracteres viscoso y elástico prácticamente intactos en el rango de temperaturas estudiado.

El uso de una combinación adecuada de estabilizantes permitió que la estructura del helado tenga un nivel adecuado entre suave y cremoso, mejorando la palatabilidad y disminuyendo la sensación de frío, permitiendo que el helado sea consumido en cualquier época del año. Además, a partir de los resultados de este análisis se puede recomendar que el helado sea manipulado en un rango de temperaturas de -15 a -5 °C, debido a que estas temperaturas permiten que el helado mantenga su estructura, evitando un cambio de fase de sólido a líquido y permitiendo que el helado sea manipulable para su comercialización sin afectar ninguna de sus características.

Estos resultados son similares a los reportados por **Goff et al. (1995)**, quienes estudiaron el comportamiento reológico de un helado de leche de vaca y reportaron que el helado que obtuvo la mejor textura presentó un carácter viscoelástico y que las temperaturas adecuadas para la manipulación de helados deben estar en un rango de -20 a -5 °C.

Finalmente en las figuras 10 y 11 se observa que el comportamiento viscoelástico de los helados varió significativamente con el cambio de temperatura, ya que la estructura de todos los helados estudiados presentó una pérdida del carácter viscoso y al aumentar la frecuencia a 60 Hz se pasa de un estado esencialmente sólido-elástico, a uno prácticamente viscoso o de gel. Esto se explica por el cambio de fase del helado, ya que se separa la materia grasa del agua, debido a que los cristales de hielo a una temperatura de 0 °C están totalmente derretidos.

4.3. Análisis sensorial

4.3.1. Efecto de la mezcla de estabilizantes y del uso de bebida de soya sobre los parámetros sensoriales del helado

4.3.1.1. Evaluación de textura

En la figura 12 se presentan los resultados del análisis sensorial de textura (1: cristalizada y dura, 2: arenosa, 3: esponjosa, 4: gomosa, 5: suave y cremosa) de las formulaciones de helado estudiadas.

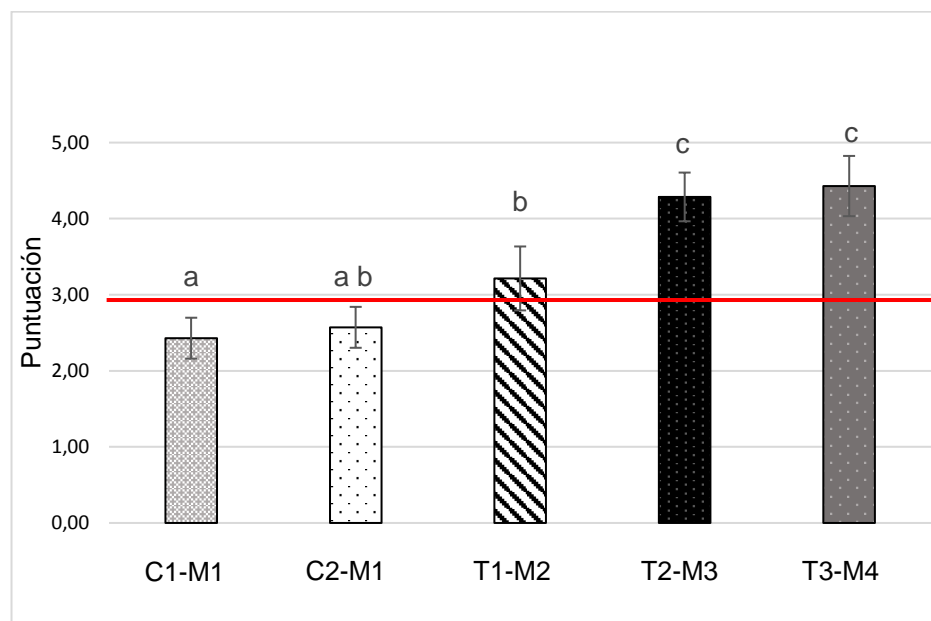


Figura 12. Evaluación sensorial de la textura de las formulaciones de helado estudiada

Fuente: Ortiz, E; 2016

Los resultados se expresan como el promedio de 21 mediciones (7 panelistas y 3 evaluaciones/panelista) y las barras de error representan el IC (95%) de la media.

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos

Como se puede observar en la figura 12, los tratamientos T2-M3 y T3-M4 fueron los que obtuvieron mayor puntaje, sin diferencias significativas entre ellos. Esto demuestra que la combinación de estabilizantes usada en estas formulaciones fue adecuada para obtener una textura suave y cremosa, con una sensación de frío en el paladar adecuada y a la vez, con buena aceptabilidad.

Los dos controles (elaborados con la misma mezcla de estabilizantes pero con leche de vaca y bebida de soya) fueron los que obtuvieron el menor puntaje, ya que presentaron una textura cristalizada y dura. Si bien las diferencias entre estos tratamientos no fueron significativas, el puntaje fue mayor en la formulación con bebida de soya. Esto muestra que la combinación de estabilizantes utilizada actualmente por la empresa “GolositOrtiz” no es la más apropiada para la elaboración de helados y que el uso de bebida de soya para la elaboración de helados influyó positivamente en la textura del producto final.

4.3.1.2. Evaluación sensorial con una escala facial mixta

En la figura 13 se muestran las puntuaciones para la aceptabilidad global de los helados de mora, evaluada por estudiantes de 8 a 10 años de la Unidad Educativa “13 abril” de la ciudad de Ambato, Ecuador.

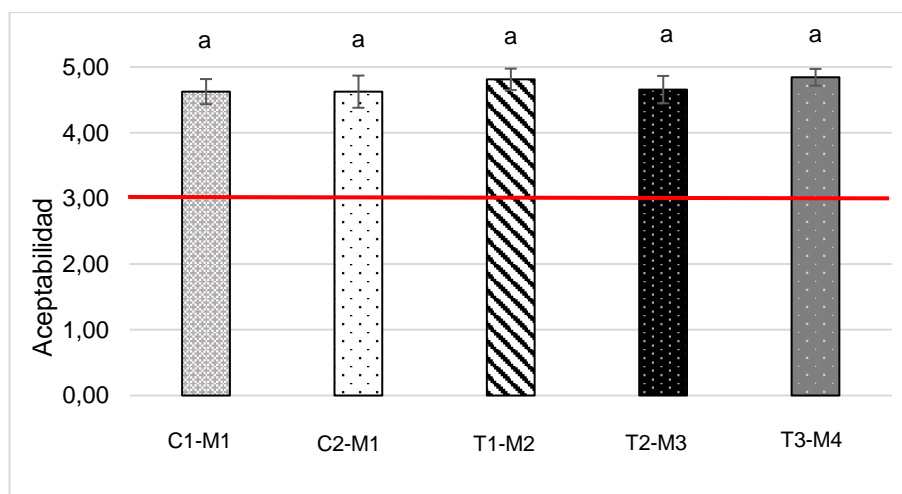


Figura 13. Aceptabilidad global de los helados de mora

Fuente: Ortiz, E; 2016

Los resultados se expresan como el promedio de 48 mediciones (16 estudiantes, 3 evaluaciones/estudiante) y las barras de error representan el IC (95%) de la media.

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Se puede observar que el nivel de aceptación fue alto para todos los tratamientos y los catadores no detectaron diferencias significativas en cuanto a la aceptación global de los helados. Esto demuestra que el uso de

bebida de soya para la elaboración de helados no afectó la calidad sensorial de los mismos.

4.3.1.3. Evaluación sensorial escala hedónica

En la figura 14 se presentan los resultados del análisis sensorial de la apariencia, consistencia, cristalización, el sabor y la aceptabilidad de los helados de mora, realizado por estudiantes de 15 a 17 años de la Unidad Educativa “13 de abril”, de la ciudad de Ambato, Ecuador

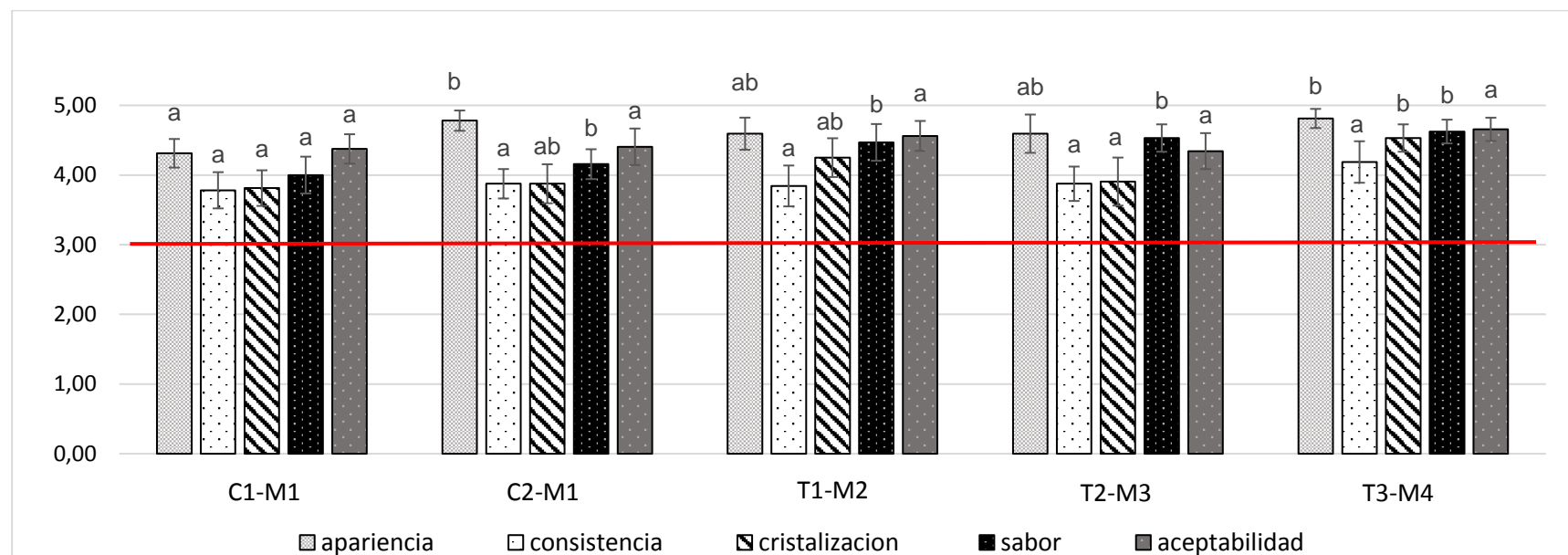


Figura 14. Atributos sensoriales (apariencia, consistencia, cristalización, sabor y aceptabilidad) de helado de mora

Fuente: Ortiz, E; 2016

Los resultados se expresan como el promedio de 48 mediciones (16 estudiantes y 3 evaluaciones/estudiante) y las barras de error representan el IC (95%) de la media

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos

En la figura 14 se observa que todos los tratamientos analizados presentaron un nivel de aceptabilidad alto, ya que todos obtuvieron una puntuación mayor a tres, siendo éste el límite de aceptabilidad para considerar que un helado tiene las características adecuadas para su comercialización.

Los atributos que más variabilidad tuvieron en el análisis sensorial fueron la cristalización y la consistencia debido a que son atributos poco perceptibles por catadores no entrenados. Para los atributos de sabor y aceptabilidad no hubieron diferencias significativas teniendo un nivel de aceptación global alto, demostrando que el uso de bebida de soya y la combinación de estabilizantes usados no influyeron en las características de sabor y aceptabilidad del helado.

4.4. Formulación del mejor tratamiento

En la tabla 3 se muestra la formulación del mejor tratamiento (T3-M4), en base a los análisis de tiempo de caída de la primera gota, porcentaje de derretimiento, porcentaje de overrun, parámetros reológicos y análisis sensorial.

Tabla 3. Formulación del mejor tratamiento (T3-M4) para la elaboración de helados a base de bebida de soya

INGREDIENTE	g/lt	%
Cremodan	1,660	0,017
Goma xantana	1,000	0,010
Ice Mix	0,660	0,006
Omogel	1,660	0,160
Endulzante	0,003	
Sacarosa	178,0	
Emulsionante (lecitina de soya)	0,050	
Aditivos	0,100	
Pulpa de mora	30,0	
SÓLIDOS NO GRASOS		

Leche de soya en polvo	20,00	0,020
------------------------	-------	-------

Esta formulación permitió obtener un helado con textura suave y cremosa, ya que además de la combinación de estabilizantes, se usó bebida de soya en polvo y lecitina de soya como emulsionante, obteniendo un aumento de la cantidad de sólidos, que reemplazaron la grasa que la bebida de soya no posee.

4.5. Análisis nutricional

En la tabla 4 se presenta la calidad nutricional (proteína, carbohidratos totales, energía, azúcares totales) y las características químicas (pH y acidez) de los helados evaluados.

Tabla 4. Contenido de proteína, humedad, grasa, carbohidratos totales, energía, azúcares totales, cenizas, pH y acidez en un helado de leche de vaca (C1-M1) y en un helado de bebida de soya (T3-M4).

Parámetro evaluado	Helado de leche de vaca (C1-M1)	Helado de bebida de soya (T3-M4)
Proteína (%)	3,14	4,67
Humedad (%)	69,70	86,40
Grasa (%)	4,13	1,56
Carbohidratos totales (%)	5,62	8,90
Energía (kJ-kcal/100 ml)	293,00	252,00
	70,00	60,00
Azúcares totales (%)	28,42	4,13
Cenizas (%)	0,72	0,51
Acidez mg de ácido láctico/100 g (C1-M1) mg de ácido cítrico/100 g (T3-M4)	0,12	0,44
Potencial hidrógeno (pH)	-----	5,05

Fuente: Ortiz, E; 2016

Los resultados fueron reportados por el laboratorio de control y análisis de alimentos LACONAL y la Agencia de regulación, control y vigilancia sanitaria (ARCSA) Anexos 3 y 4.

En cuanto al contenido de proteína, el helado elaborado a base de bebida de soya obtuvo un porcentaje de 4,67 y el helado elaborado a base de leche de vaca un porcentaje de 3,14, evidenciándose que la bebida de soya aporta más contenido de proteína al helado. Además, al ser estos helados comparados con la **NTE INEN 706 (2005)** la cual determina que el porcentaje de proteína en helados elaborados a base de leche de vaca debe ser de 1,8 %, se demostró que los helados analizados presentaron un porcentaje superior de proteína. Así, tanto la bebida de soya como la leche de vaca de buena calidad tuvieron un efecto significativo en el contenido de proteína de los helados.

El porcentaje de humedad del helado elaborado a base de bebida de soya es mayor que el porcentaje de humedad del helado elaborado a base de leche vacuna, presentando valores de 86,40 % y 69,70 %, respectivamente. Esto se debe a que la bebida de soya contiene mayor porcentaje de agua, esta característica es beneficioso, ya que, permite disminuir costos. Sin embargo, al sobrepasar el contenido de agua deseable en el helado que es de 63,2 %, se necesita mayor cantidad de estabilizantes que permita obtener una mezcla estable y homogénea.

El contenido de grasa fue de 4,13 % en el helado elaborado a base de leche de vaca y de 1,5 % en el helado de bebida de soya, categorizándose este último como bajo en contenido de grasa y correspondiente a la semaforización en verde según la legislación vigente (**MSP & MINEDUC, 2014c**). A su vez el helado a base de bebida de soya obtuvo menor contenido calórico que el helado elaborado con leche vacuna (60 y 70 kcal/100 ml, respectivamente). El contenido de carbohidratos totales fue mayor en el helado elaborado a base de bebida de soya con un porcentaje de 8,90 en comparación con el helado elaborado a base de leche de vaca que obtuvo 5,62 %.

El contenido de azúcares en el helado de bebida de soya fue de 4,13 g por cada 100 ml de muestra, correspondiente al contenido medio en azúcar

según la legislación vigente (**MSP et al., 2014c**) y a la semaforización amarilla.

4.6. Análisis de gluten y lactosa

4.6.1. Análisis de gluten

El contenido de gluten en el helado analizado (T3-M4) fue inferior a 5 ppm. Con este valor, el helado puede considerarse “libre de gluten”, de acuerdo a lo establecido en el Codex Alimentarius (CODEX STAN 118-1981) que fija como límite máximo 20 ppm para alimentos elaborados a partir de ingredientes que no contienen gluten (**González, García, Fernández, Gago & Benito, 2007**). De esta manera, el helado elaborado a base de bebida de soya es seguro para el consumo por parte de personas intolerantes al gluten.

4.6.2. Análisis de lactosa

El contenido de lactosa se determinó en la mejor formulación de helado (T3-M4). Los valores de absorbancia (505 nm) y de concentración de glucosa (mg/ml) obtenidos a partir de la curva estándar correspondiente (Fig.15) se presentan en la tabla 5.

Tabla 5. Absorbancia (505 nm) y concentración de glucosa (mg/ml de helado) en la mejor formulación (T3-M4) de helado

	Absorbancia 505 nm	[Glucosa] mg/ml
Hidrolizado de lactosa (4%) + enzima lactasa (tiempo cero)	0,000	0,000
Hidrolizado de lactosa (4%) + enzima lactasa (2 horas de reacción)	0,767 ± 0,004*	0,234 ± 0,004
Helado control sin lactasa	0,668 ± 0,003	0,202 ± 0,003
Helado con lactasa (2 horas de reacción)	0,648 ± 0,000	0,195 ± 0,001

Fuente: Ortiz, E; 2016

* El hidrolizado de lactosa fue diluido 5 veces, a fin de poder leer su absorbancia

Los resultados se expresan como la media ± la desviación estándar de tres mediciones.

El contenido de glucosa en el blanco fue ligeramente mayor al de la muestra que contenía lactasa. Esta variación podría deberse a la dilución producida por la adición de esta enzima.

Debido a que se detectó presencia de glucosa en las muestras de helado, se realizaron ensayos de glucosa en cada estabilizante utilizado en la formulación del helado. Se incluyó además un blanco preparado con agua y enzima inactivada térmicamente a 92 °C durante cinco minutos (Anexo 2) y los demás reactivos del ensayo. En este caso las absorbancias se leyeron frente a agua destilada y se observó que los estabilizantes de la formulación no aportaron al contenido de glucosa observado. Por lo tanto, esta glucosa podría deberse a la presencia de este monosacárido en la pulpa de mora adicionada al helado.

En vista de que los valores de absorbancia para el helado control sin lactasa ($Abs_{505\text{ nm}} = 0,668$) y para el helado con lactasa luego de 2 horas de reacción ($Abs_{505\text{ nm}} = 0,648$) son similares, se puede concluir que no existe en el helado el sustrato (lactosa) sobre el que pueda actuar la enzima lactasa y generar más glucosa cuya presencia se reflejaría en un incremento de la concentración de glucosa como se demuestra en la hidrólisis de la solución de lactosa al 4% que presentó una absorbancia de 0,767 luego de diluirlo 5 veces. Esto indica que la glucosa cuantificada por el método enzimático no provino de la hidrólisis de la lactosa (galactosa y glucosa) sino de la pulpa de fruta y por lo tanto se puede afirmar que el helado estuvo libre de lactosa.

4.7. Verificación de la hipótesis nula

En base a los resultados obtenidos se acepta la hipótesis alternativa en la cual se afirma que la sustitución de leche vacuna por una bebida de soya y los estabilizantes utilizados influyen en la calidad del helado elaborado.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- En base a los resultados de las pruebas físicas, reológicas y sensoriales se determinó que la mejor formulación para un helado de mora libre de gluten y lactosa fue la combinación T3-M4. Además, este helado cumplió con los requerimientos de la NTE INEN 0706 y con los requisitos de semaforización establecidos por el Ministerio de Salud Pública (MSP) y Ministerio de Educación (MINEDUC).
- Los estabilizantes cremodan, goma xantana, ice mix y omogel tuvieron influencia directa sobre las características físicas, sensoriales y reológicas de los helados. La combinación M4 presentó el mejor tiempo de caída de la primera gota, el mayor porcentaje de overrun, menor porcentaje de derretimiento, comportamiento viscoelástico y alta aceptabilidad en el análisis sensorial.
- El valor nutricional del helado elaborado a base de bebida de soya fue superior al del helado a base de leche de vaca, presentando mayores porcentajes de proteína, energía y carbohidratos. Además, presentó bajo contenido de grasas y azúcares totales, correspondiendo a la semaforización verde y amarilla, respectivamente.
- El contenido de lactosa y gluten fue inferior a los límites máximos permitidos por lo cual el helado puede ser considerado libre de gluten y lactosa, siendo un alimento seguro para el consumo por personas intolerantes a la lactosa y al gluten.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda la aplicación de un procesado hidrotérmico para la elaboración de la bebida de soya que permita eliminar el sabor afrijolado, inactivar los inhibidores de tripsina para una correcta digestión y mantener un porcentaje alto de proteínas sin desnaturalizarlas.
- Se debe estudiar el efecto del uso de otro tipo de emulsionantes como monoglicéridos y diglicéridos de ácidos grasos, que permitan mejorar la habilidad de batido y el rendimiento del producto final, sin afectar las características del helado.
- Se recomienda el estudio de la okara para la elaboración de harina que permita usarla como sustituto parcial de harina de trigo en la elaboración de barquillos.
- Se recomienda a las empresas productoras de alimentos se acojan a la nueva normativa vigente de semaforización expuesta por el Ministerio de Educación y el Ministerio de Salud Pública la cual permita al consumidor la correcta elección para su adquisición y consumo.

LITERATURA CITADA

- Alfaifi, M. & Stathopoulos, C. (2010). Effect of egg yolk substitution by sweet whey protein concentrate (WPC), on Gelato ice cream. *International Food Research Journal* 17, 787-793.
- Bahareh, A., Rezvan, P. & Fardin, M. (2014). Production of Ice Cream by Using Soy Milk, Stevia and Isomaltose. *Advances in Environmental Biology*, 8, 9-16.
- Cunha, T., Botelho, B., Brito, R., Oliveira, L. & Stedefeldt, E. (2013). Métodos para aplicar las pruebas de aceptación para alimentación escolar: validación de una tarjeta lúdica. *Revista Chilena Nutritiva* 40, 357-363.
- Chacón, A., Pineda, L. & Jimenez, C. (2016). Características fisicoquímicas y sensoriales de helados de leche caprina y bovina con grasa vegetal *Agronomía. Mesoambiental.*, 27(2215-3608), 19-36.
- Fatemeh, A., Ahmad, S. & Misni, M. . (2014). Effect of Vegetable Milks on the Physical and Rheological Properties of Ice Cream. *Food Science Technology Research* 20, 987-996.
- Fernandez, L. (2006). Alergias e Intolerancias Alimentarias. *European Food Information Council*, 1, 1-5.
- Goff, H. (1997). Colloidal aspects of ice cream—A review. *International Dairy Journal*, 7(6–7), 363-373.
- Goff, H., Freslon, B., Sahagian, M. E., Hauber, T. D., Stone, A. P., & Stanley, D. W. . (1995). Structural development in ice cream - Dynamic rheological measurements. *Journal of Texture Studies*, 26, 517-536.

- González, M., García, E., Fernández, J., Gago, L. & Benito, J. (2007). Técnicas analíticas para la determinación de gluten en alimentos Informe de vigilancia tecnológica Vt-miod, 9, 1-81.
- Gracias, G., Vilela, J., Ronaldo, L., Marcio, T. & Tuler, H. (2011). Influence of the partial substitution of skim milk powder for soy extract on ice cream structure and quality. European Food Research Technology, 232, 1093-1102.
- López, F., Sepúlveda, J. & Restrepo, D. (2010). Ensayo y Funcionalidad de un Sustituyente de Sólidos No Grasos Lácteos en una Mezcla para Helado. Scielo, 2, 529-544.
- MSP & MINEDUC. (2014a). Reglamento para el Control del Funcionamiento de Bares Escolares Registro Oficial N° 232 Art.10, 20-26.
- MSP & MINEDUC. (2014b). Reglamento para el Control del Funcionamiento de Bares Escolares Registro Oficial N° 232, Art. 36, 20-26.
- MSP & MINEDUC. (2014c). Reglamento para el Control del Funcionamiento de Bares Escolares Registro Oficial N° 232, Art. 9 20-26.
- Muhammet, D., Fehmi, Y. & Oguz, A. (2005). The effect of soy protein concentrate addition on the physical, chemical, and sensory properties of strawberry flavored ice cream. European Food Research Technology, 221, 466-470.

- Namrata, S., Parag, P. & Gurmukh, S. (2009). Evaluation of different soybean varieties for manufacture of soy ice cream. *Society of Dairy Technology*, 63, 136-142.
- NTE INEN 706. (2005). *Helados, Requisitos 1*, 2-9.
- Ozdemir, C., Dagdemir, E., Ozdemir, S. & Sagdic, O. (2008). The effects of using alternative sweeteners to sucrose on ice cream quality. *Journal of Food Quality*, 31, 415-428.
- Pintor-Jardines, M. & Totasaus, A. (2013). Propiedades funcionales de sistemas lácteos congelados y su relación con la textura del helado: Una revisión. *Biotecnología y Ciencias Agropecuarias*, 1, 1-6.
- Posada, R., Sepúlveda, J. & Restrepo, D. (2012). Selección y Evaluación de un estabilizante integrado de gomas sobre las propiedades de calidad en mezclas para helado duro VITAE, *Revista de la Facultad de química farmacéutica* 19, 166-177.
- Sharma, HK., Charanjiv, S., Sarkar, BC. & Shitandi, A. (2009). Quality of soft-serve ice cream prepared from incorporation of soy milk *Food Science Technology* 46 (2), 172-173.
- Sofjan, R. & Hartel, R. (2003). Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream *International Dairy Journal*, 14, 255-262.
- Soukoulis, C., Rontogianni, E. & Tzia, C. (2010). Contribution of thermal, rheological and physical measurements to the determination of sensorially perceived quality of ice cream containing bulk sweeteners. *Journal of Food Engineering*, 100(4), 634-641.

- Trinder, P. (1969). Cuantificación de glucosa .Biochemical and Biophysical Research Communications, 1.
- Vicente, A.M. & Castillo, I.C. (2003). Helados: elaboración, análisis y control de calidad. Facultad de Ingeniería Agroindustrial, 1, 1-45.
- Villacís, A. (2010). Formulación de helados para diabéticos. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustrias, 1, 1-84.
- Wildmoser, H. Scheiwiller, J. & Windhab, Erich J. (2004). Impact of disperse microstructure on rheology and quality aspects of ice cream. LWT - Food Science and Technology, 37(8), 881-891.

ANEXOS

ANEXO 1
MÉTODOS EMPLEADOS PARA EL ANÁLISIS SENSORIAL

Escala para el análisis sensorial de helado

Calidad visual: entre paréntesis se indica la valoración de cada atributo

- 1.-Cristalizada y dura (muy malo)
- 2.- Arenosa (malo)
- 3.- Esponjosa (regular)
- 4.- Gomosa (aceptable)
- 5.- Cremosa (excelente)

Tabla 6. Características visuales de textura del helado

Cristalizada y dura	Arenosa	Esponjosa	Gomosa	Cremosa
				



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS



Nombre: _____ Fecha: _____

Pruebe el producto que se presenta a continuación.

Por favor marque con una X el atributo que más representa lo que le pareció el producto que acaba de probar.

CARACTERÍSTICAS	ALTERNATIVAS	456	567	382	478	568
TEXTURA	Cristalizada y dura					
	Arenosa					
	Esponjosa					
	Gomosa					
	Cremosa					

HOJA DE RESPUESTA DEL ANÁLISIS SENSORIAL PARA ALUMNOS DE 8 A 10 AÑOS



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS



Nombre: _____ Fecha: _____

Pruebe el producto que se presenta a continuación. Por favor marque con una X la carita que más representa lo que le pareció el producto que acaba de probar.

Muestra 456



No me gustó



Me gustó poco



Ni me gusta ni
me disgusta



Me gustó



Me encantó

Muestra 567



No me gustó



Me gustó poco



Ni me gusta ni
me disgusta



Me gustó



Me encantó

Muestra 382



No me gustó



Me gustó poco



Ni me gusta ni
me disgusta



Me gustó



Me encantó

Muestra 478



No me gustó



Me gustó poco



Ni me gusta ni
me disgusta



Me gustó



Me encantó

Muestra 568



No me gustó



Me gustó poco



Ni me gusta ni
me disgusta



Me gustó



Me encantó

HOJA DE RESPUESTA DEL ANÁLISIS SENSORIAL PARA ALUMNOS DE 15-17 AÑOS



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS



Nombre: _____ Fecha: _____

Pruebe el producto que se presenta a continuación. Por favor marque con una X el atributo que más representa lo que le pareció el producto que acaba de probar.

CARACTERÍSTICAS	ALTERNATIVAS	456	567	382	478	568
APARIENCIA	Desagrada mucho					
	Desagrada poco					
	Ni agrada ni desagrada					
	Agrada poco					
	Agrada mucho					
CONSISTENCIA	Muy duro					
	Moderadamente duro					
	Ligeramente duro					
	Moderadamente suave					
	Muy suave					
CRISTALIZACIÓN	Muy perceptible					
	Fácilmente perceptible					
	Perceptible					
	Ligeramente perceptible					
	No perceptible					
SABOR	Desagrada mucho					
	Desagrada poco					
	Ni agrada ni desagrada					
	Agrada poco					
	Agrada mucho					
ACEPTABILIDAD	Desagrada mucho					
	Desagrada poco					

	Ni agrada ni desagrada					
	Agrada poco					
	Agrada mucho					

ANEXO 2

MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE LACTOSA POR MEDIO DE CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA

Método AOAC 984.15 para la determinación de lactosa

Se utilizó el método enzimático AOAC 984.15 el cual incluye una etapa de eliminación de la proteína de la leche con los reactivos Carrez I y II, seguido por una incubación con lactasa para separar los azúcares que forman la lactosa. En el presente estudio se determinó enzimáticamente el contenido de glucosa en lugar de la galactosa por la disponibilidad de los reactivos requeridos para su cuantificación. No se usó el factor de conversión para transformar el contenido de glucosa en lactosa, el cual indica que 180 mg/ml de glucosa se obtuvieron a partir de 342 mg/ml de lactosa, ya que la presencia de glucosa en el helado se debe a los azúcares de la pulpa de la fruta utilizada.

Se realizaron simultáneamente dos ensayos con la muestra de helado, uno que incluyó la incubación con lactasa por dos horas y otro, un control sin la adición de esta enzima.

Preparación de la muestra

Se pesaron 0,2 g de muestra, a los que se agregaron 0,6 ml de agua destilada, 0,5 ml de Carrez I, 0,5 ml de Carrez II y 1 ml de hidróxido de sodio 0,1 M. Luego se diluyó a volumen 10 ml y se centrifugó a 4400 rpm durante 15 minutos.

Preparación de solución de lactosa

Se preparó Buffer (fosfato de sodio di hidrogenado, fosfato de sodio hidrogenado) de pH 6,6 y se lactosa para obtener una solución al 4 %.

Análisis de la presencia de glucosa en los ingredientes

- Se agregaron 0,2 µl de la muestra preparada (cremodan, goma xantán, ice mix, omogel) a un tubo eppendorf.
- Se añadieron 1,6 µl de la solución de glucosa (LQ - LABKIT).
- Se dejó reaccionar durante dos horas y se observó el cambio de color con respecto al blanco.
- Se midió la absorbancia en una cubeta Standard de 10 mm de paso óptico de dimensiones: 408 x 308 x 180 mm.

Cuantificación de glucosa

Muestra de lactosa hidrolizada

Para la preparación del blanco se inactivaron 100 µl de la enzima lactasa aplicando un tratamiento térmico a 85 °C durante cinco minutos. Con la enzima inactivada se preparó una dilución 1/100 en tampón fosfato, seguidamente se mezclaron en un tubo eppendorf de 2 ml, 1 ml de la solución de lactosa (4%) más 100 µl de la dilución de enzima inactivada.

Para la hidrólisis de la lactosa se preparó también una dilución 1/100 con la lactasa activa y se colocó 1 ml de la solución de lactosa más 100 µl de la enzima lactasa (1/100) activa, se incubó la mezcla a 25 °C por 2 horas al cabo de las cuales se detuvo la hidrólisis hirviendo la mezcla por 5 min.

Helado control sin lactasa

Se agregó 1 ml de la muestra de helado, preparada como se indicó previamente más 100 µl de buffer de pH 6.6.

Helado con lactasa

Se agregó 1 ml de la muestra preparada de helado más 100 µl de la enzima lactasa 1/100 y se dejó reaccionar por 2 horas, luego de las cuales se inactivó la enzima hirviendo la mezcla durante 5 min.

De cada una de las muestras se tomaron 0,2 ml y se colocaron en tubos eppendorf de 2 ml, seguidamente se adicionó 1.6 ml del kit para cuantificación enzimática de glucosa y luego de 2 h de reacción se midió la absorbancia a 505 nm frente al blanco correspondiente.

Determinación de la concentración de glucosa por medio del uso de la curva estándar de glucosa a partir del kit enzimático (100 mg/dl)

Se obtuvo la curva estándar de glucosa a partir de diluciones, en el rango de 0 a 0,4 mg/ml, preparadas con la solución stock de glucosa (100 mg/dl) proporcionada por el fabricante del kit para cuantificación enzimática.

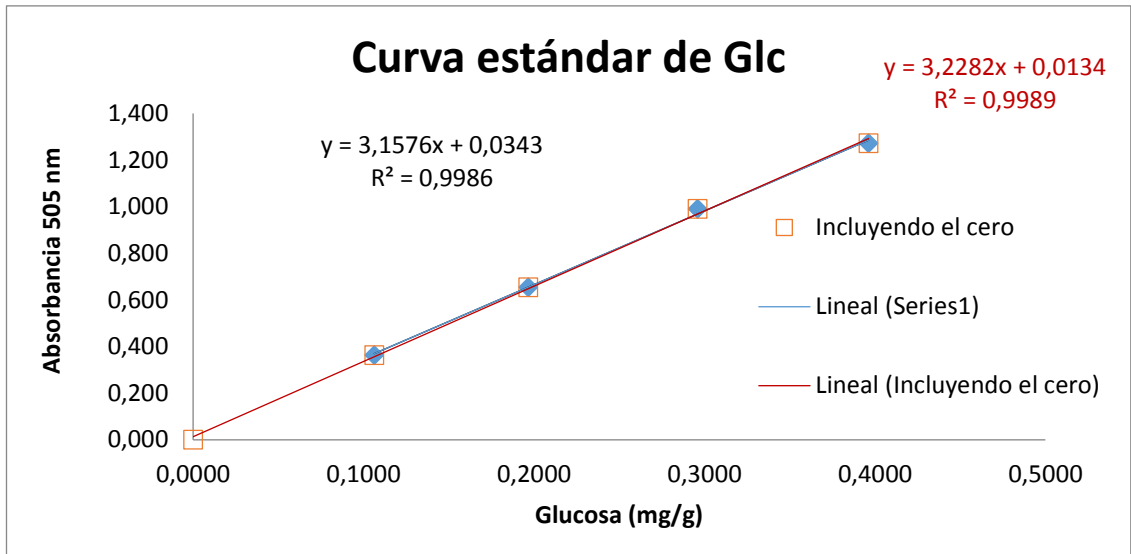


Figura 15 curva estándar de glucosa

Cuantificación del contenido de glucosa en componentes del helado a base de bebida de soya

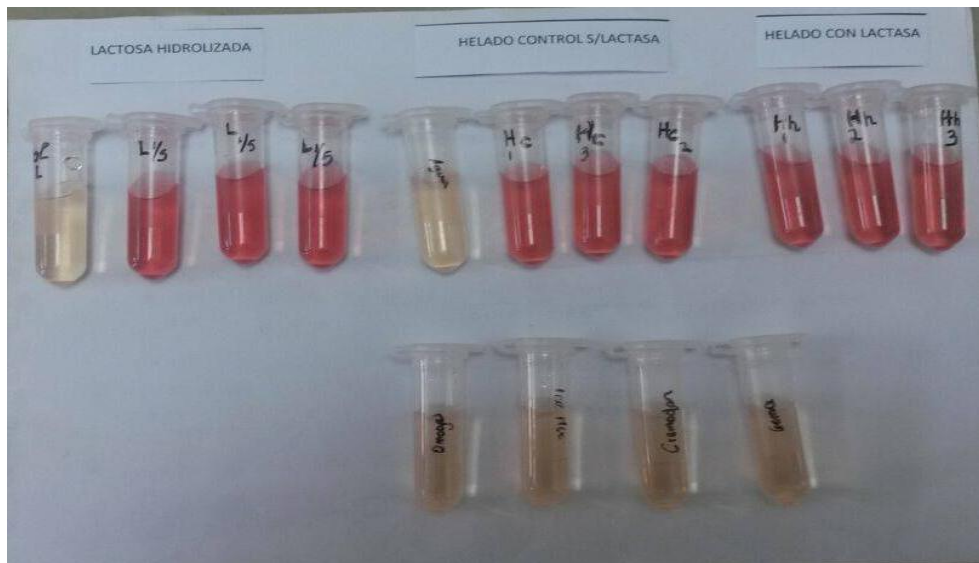


Figura 16. Cuantificación de glucosa en muestras de lactosa hidrolizada, helado control sin lactasa y de helado con lactasa y de cada ingrediente usado.

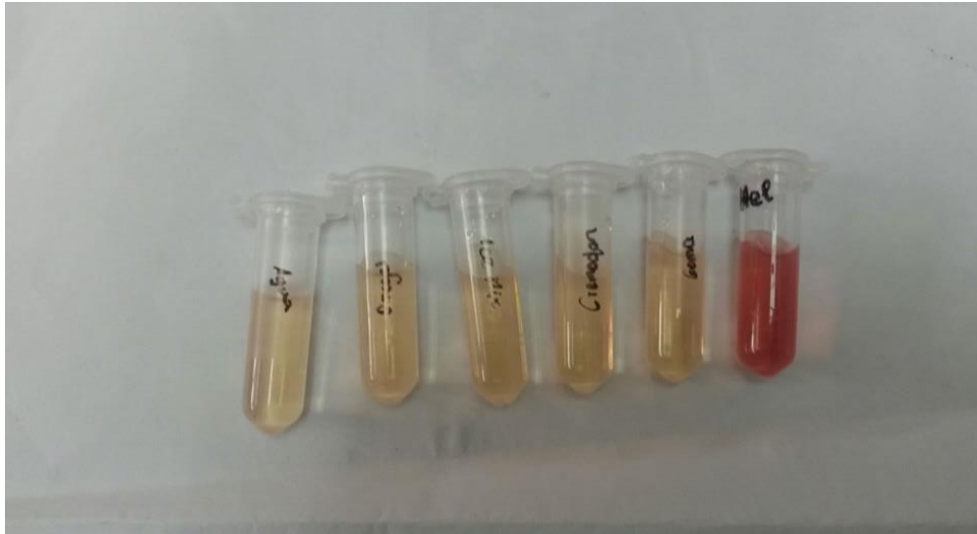


Figura 17. Cuantificación de glucosa en muestras de los estabilizantes usados en la elaboración de helado a base de bebida de soya

ANEXO 3

**ANÁLISIS NUTRICIONALES DE LOS HELADOS ELABORADOS A BASE
DE LECHE VACUNA Y DE UNA BEBIDA DE SOYA**



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
CERTIFICADO DE CONTROL DE CALIDAD

INF-LAB-AL-21939

ORDENES DE TRABAJO: 43205-43325-43389-43206-43597-43390

SOLICITADO POR: EL GOSOSITORTIZ
PRODUCTO: Alimentos
DESCRIPCIÓN: HELADO DE LECHE SABOR A FRUTAS "LOKO MIA" "ARTHELADO"
LOTE: 10122013
FECHA DE ELABORACIÓN: 10/12/2013
DESCRIPCIÓN DEL MATERIAL: Vaso 200cm³ filo plano con tapa, de material poliestireno
FECHA DE FINALIZACIÓN: 05/03/2013

INFORME

ENSAYOS ORGANOLEPTICOS:

ENSAYOS	RESULTADOS
COLOR	Característico
SABOR	Característico
ASPECTO	Homogéneo
CONTENIDO DECLARADO	100 g
CONTENIDO ENCONTRADO	100 g

ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS:

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
RECUENTO DE BACTERIAS AEROBIAS	ufc/g	10	MMI-02/AOAC 990.12
RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES	ufc/g	<10	MMI-03/AOAC 991.14
<i>Escherichia coli</i> (Recuento)	ufc/g	<10	MMI-03/AOAC 991.14
<i>Staphylococcus aureus</i> . (Recuento)	ufc/g	<10	MMI-05/AOAC 2003.11
* <i>Listeria monocytogenes</i> (Identificación/25g)	P/A	AUSENCIA	ISO 11290-1
<i>Salmonella spp</i> (Identificación/25g)	P/A	AUSENCIA	MMI-06/NTE INEN 1529-15:96

ENSAYOS FISICO QUIMICOS:

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Proteína (factor 6.38)	%	3.14	MAL-04/ AOAC 981.10
Humedad	%	69.70	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	%	4.13	MAL-03/ AOAC 991.36
Cenizas	%	0.72	MAL-02/ AOAC 923.03
* Colesterol	mg/100g	10.16	MAL -15/ Espectrofotometría
* Sodio	mg/100g	0.00	MAL -27/ METODO MOHR
* Cloruro de Sodio	%	0.00	MAL -27/ METODO MOHR
* Colorante sintético		NEGATIVO	MAL - 56/Cromatografía
* Sólidos Totales	%	30.30	MAL-13/ AOAC 925.10
Acidez (ácido cítrico)	%	0.12	MAL-01/AOAC 947.05
* Azúcares Totales	%	28.42	MAL-53/ PEARSON



LABORATORIO DE ENSAYOS
N° OAE LE 10 04-002

"Los ensayos marcados con (*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE"



1 / 3

RAL-4.1-04



Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gatto Sobral - Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext. 15, 18, 21, 31, 33
Telefax: 3216-740 - Web: www.facuquimce.edu.ec - E-mail: laboratoriososp@hotmail.com





UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERIA EN ALIMENTOS
LABORATORIO DE CONTROL Y ANALISIS DE ALIMENTOS



Dir: Av. Los Chasquis y Rio Payamino, Huachi, Telf.: 2 400987 ext. 114, e-mail: laconal@uta.edu.ec; laconal@hotmail.com
Ambato-Ecuador

CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO

Certificado No: 16-215		R01-5.10 06
Solicitud No: 16-215		Pág.: 1 de 1
Fecha recepción: 26 de julio de 2016	Fecha de ejecución de ensayos: 26- 29 de julio de 2016	
Información del cliente:		
Empresa: Golosortiz	C.I./RUC: 1801486869001	
Representante: Ing. Alonso Ortíz	TIF: 2585564	
Dirección: Huachi Chico		
Ciudad: Ambato	E mail: stfy1705@hotmail.com	
Descripción de las muestras:		
Producto: Helado de Leche de Soya	Peso: 80 g	
Marca comercial: Golisortiz	Tipo de envase: tarrina y tapa de polipropileno	
Lote: n/a	No de muestras: una	
F. Elb.: 25 de julio de 2016	F. Exp.: n/a	
Conservación: Ambiente: Refrigeración: Congelación: X	Almac. en Lab: 7 días	
Cierres seguridad: Ninguno: Intactos: X Rotos:	Muestreo por el cliente: 26 de julio de 2016	

RESULTADOS OBTENIDOS

Muestras	Código del laboratorio	Código cliente	Ensayos solicitados	Métodos utilizados	Unidades	Resultados		
Helado de Leche de Soya	21516586	25/07/2016	Cenizas	AOAC Ed 19, 2012 923.03	%	0,510		
			Proteína	PE03-5.4-FQ . AOAC Ed 19, 2012 2001.11	%(Nx6,25)	4,67		
			Humedad	PE02-5.4-FQ, AOAC Ed 19, 2012 925.10	%	86,4		
			Grasa	PE13-5.4-FQ, AOAC Ed 19, 2012 2003.06	%	1,56		
			Carbohidratos Totales	Cálculo	5	8,90		
			Energía	Cálculo				252
								kcal
			pH	AOAC 981.12. Ed 19, 2012	Unidades de pH	5,05		
			Acidez	AOAC 942.15. Ed 19, 2012	mg/ 100 g Ácido láctico	0,441		

Conds. Ambientales: 18,5 °C; 49%HR


Ing. Gladys Risueño
Directora de Calidad

Autorización para transferencia electrónica de resultados: Si

CG

Nota: Los resultados consignados se refieren exclusivamente a la muestra recibida. El Laboratorio no es responsable por el uso incorrecto de este certificado. No es un documento negociable. Sólo se permite su reproducción sin fines de lucro y haciendo referencia a la fuente.

"La información que se está enviando es confidencial, exclusivamente para su destinatario, y no puede ser vinculante. Si usted no es el destinatario de esta información recomendamos eliminarla inmediatamente. La distribución o copia del mismo está prohibida y será sancionada según el proceso legal pertinente".

ANEXO 4

Resultados de la determinación de gluten

INFORME DE RESULTADOS

INF. LASA 03-08-16-RS02470
ORDEN DE TRABAJO No. 27959

SOLICITADO POR: HELADERIA EL GOLOSITO ORTIZ
DIRECCIÓN: HUACHICHICO - AMBATO
TELÉFONO / FAX: 032585564
TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO
PROCEDENCIA: PLANTA
MUESTREO POR: SOLICITANTE
COD. DE MUESTRA: I0406-16
IDENTIFICACIÓN: HELADO DE SOYA CON MORA "EL GOLOSITO"

FECHA RECEPCIÓN: 26-07-2016
FECHA DE ANÁLISIS: 26-07/ 02-08-16
FECHA DE ENTREGA: 03-08-2016
NÚMERO DE MUESTRAS: TRES (III)
FECHA ELABORACIÓN: 25-07-2016
CONTENIDO: 100ml

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

<i>PARÁMETROS</i>	<i>RESULTADO DE ENSAYO</i>	<i>UNIDADES</i>	<i>MÉTODO DE ENSAYO</i>
GLUTEN	< 5,0	ppm	*INMUNOCROMATOGRAFIA (GLUTENTOX)



Dr. Marco Guijarro Ruales
GERENTE DE LABORATORIO

Las incertidumbres de los resultados para los ensayos se encuentran disponibles en los registros de Laboratorio LASA. LASA se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida en el laboratorio. Prohibida su reproducción parcial o total por cualquier medio sin permiso por escrito del Laboratorio. Opiniones e Interpretaciones están fuera del alcance de acreditación SAE.

Av. de la Prensa N53-113 y Gonzalo Gallo • Teléfonos: 2469- 814 / 2269-012
Juan Ignacio Pareja OE5-97 y Simón Cárdenas • Teléfono: 2290-815
Celular: 099 9236 287 • e-mail: info@laboratoriolasa.com
web: www.laboratoriolasa.com • Quito - Ecuador

Pág. 1 de 1



ANEXO 5
FOTOGRAFÍAS DE LA FASE EXPERIMENTAL

FOTOGRAFÍAS DE ELABORACIÓN DE LA BEBIDA DE SOYA



Figura 19. Grano de soya blanqueado



Figura 18. Licuado del grano de soya



Figura 20. Filtrado de bebida de soya



Figura 21. Okara



Figura 22. Bebida de soya

FOTOGRAFÍAS DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL HELADO



Figura 23. Mezcla base pasteurizada



Figura 24. Pulpa de mora



Figura 25. Batido de helado



Figura 26. Helado de bebida de soya

FOTOGRAFÍAS DE DETERMINACIÓN DE LACTOSA



Figura 26 Precipitado de la muestra de helado

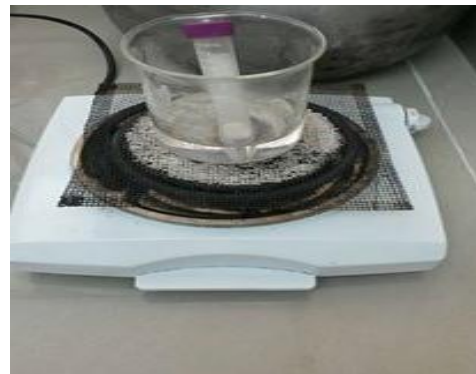


Figura 25 Inactivación de la enzima lactasa



Figura 27. Determinación de absorbancia 505 nm

FOTOGRAFÍAS DE DETERMINACIÓN DE PORCENTAJE DE OVERRUN, TIEMPO DE CAÍDA DE LA PRIMERA GOTA Y TIEMPO DE DERRETIMIENTO



Figura 30. Muestras de los diferentes tratamientos de helados

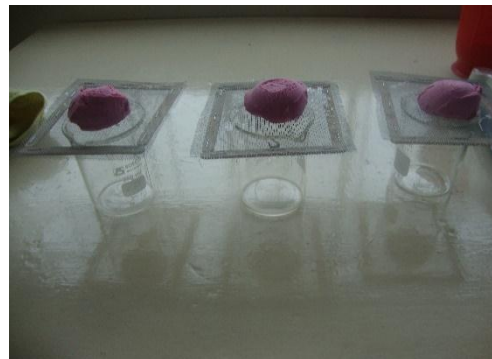


Figura 31. Preparación de muestras para la determinación de los 82 parámetros físicos

FOTOGRAFÍAS DEL ANÁLISIS SENSORIAL



Figura 28. Catadores semientrenado empresa “GolositOrtiz”



Figura 29. Catadores de 8 a 10 años



Figura 30 Catadores de 15 a 17 años