



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
Área Académica de Química

Estimación de la vida útil de bases para helado mediante el modelado cinético de atributos
fisicoquímicos y microbiológicos

T E S I S

Que para obtener el grado de
Licenciada en Química de Alimentos

Presenta:

Elisa López Gómez

Director:

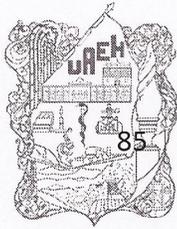
Dr. Jesús Guadalupe Pérez Flores

Codirectora:

Dra. Elizabeth Contreras López

Mineral de la Reforma, Hgo., Méx.

Diciembre de 2022.



Mineral de la Reforma, Hgo., a 8 de diciembre de 2022

Número de control: ICBI-D/1761/2022
Asunto: Autorización de impresión.

**MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH**

Con fundamento en lo dispuesto en el Título Tercero, Capítulo I, Artículo 18 Fracción IV; Título Quinto, Capítulo II, Capítulo V Fracción IX del Estatuto General de nuestra Institución, por este medio le comunico que el Jurado asignado de la Pasante de la Licenciatura en Química de Alimentos **Elisa López Gómez**, quien presenta el trabajo de titulación "**Estimación de la vida útil de bases para helado mediante el modelado cinético de atributos fisicoquímicos y microbiológicos**", después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación, firman de conformidad los integrantes del Jurado:

Presidente M. en C. Emmanuel Pérez Escalante

Secretario: Dra. Laura García Curiel

Vocal: Dr. Jesús Guadalupe Pérez Flores

Suplente: Dra. Elizabeth Contreras López

Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"

Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval
Director del ICBI



OAAS/YCC

Ciudad del Conocimiento
Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5 Colonia
Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo,
México. C.P. 42184
Teléfono: 771 71 720 00 ext. 2231 Fax 2109
direccion_icbi@uaeh.edu.mx

Índice general

Índice general	I
Índice de Figuras	III
Índice de Tablas	IV
Lista de acrónimos, constantes y símbolos	V
Resumen	VI
1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
2.1. Historia del helado	3
2.2. Definición de helado y de base para helado	4
2.2.1. Helados	4
2.2.2. Base para helado	5
2.3. Clasificación de helados	6
2.4. Descripción general de la composición y de la fabricación de los helados	7
2.4.1. Ingredientes para la elaboración de helados	7
2.4.2. Proceso para la elaboración de helados	10
2.5. Características fisicoquímicas y nutricionales de los helados	12
2.6. Vida útil	16
2.6.1. Cinéticas de deterioro	17
2.6.2. Conversión fraccional de primer orden	18
2.6.3. Efecto de la temperatura	20
2.7. Factores de deterioro que afectan a los helados	20
2.7.1. Deterioro fisicoquímico	21
2.7.1.1. Estabilidad	21
2.7.1.2. Viscosidad	22
2.7.2. Deterioro microbiológico	22
3. Planteamiento del problema	24
4. Justificación	25
5. Objetivos	26
5.1. General	26
5.2. Específicos	26

6. Materiales y métodos	27
6.1. Muestras	27
6.2. Determinación de la composición proximal	27
6.2.1. Determinación de humedad	28
6.2.2. Determinación de cenizas	28
6.2.3. Determinación de proteína por el método Kjeldahl	29
6.2.4. Determinación de grasa por el método Gerber	30
6.3. Análisis microbiológico	31
6.4. Determinación de vida de anaquel	31
6.4.1. Acondicionamiento de las muestras	31
6.4.2. Parámetros fisicoquímicos	31
6.4.2.1. a_w	32
6.4.2.2. Acidez titulable	32
6.4.2.3. pH	33
6.4.2.4. Estabilidad de la emulsión	33
6.4.3. Análisis cinético	33
6.5. Análisis estadístico	35
7. Resultados y discusión	36
7.1. Análisis proximal	36
7.2. Análisis microbiológico	36
7.3. Evaluación de los atributos de calidad	38
7.3.1. Actividad acuosa	38
7.3.3. Acidez titulable total	43
7.3.2. pH	49
7.4. Vida útil	53
7.4.1. Análisis cinético	53
7.4.2. Estimación de vida útil	57
8. Conclusiones	60
9. Perspectivas	61
Anexos	62
A.1. Paquetes y comandos utilizados para el análisis estadístico de los datos con R	62
A.2. Tablas de ANOVA	67
Referencias	69

Índice de Figuras

Figura 2.1. Principales etapas en la elaboración de helados	12
Figura 6.1. Diagrama general de la investigación.	27
Figura 7.1. Evolución de la actividad acuosa en bases para helado durante el tiempo de almacenamiento.	39
Figura 7.2. Valores de a_w de las bases para helado (económica y premium), obtenidas en las diferentes temperaturas de almacenamiento (congelación y refrigeración).	40
Figura 7.3. Valores de a_w de las bases para helado, obtenidas en diferentes tiempos de almacenamiento.	42
Figura 7.4. Evolución de la acidez titulable en bases para helado durante el tiempo de almacenamiento.	43
Figura 7.5. Valores de acidez titulable total de las bases para helado (económica y premium), obtenidas en las diferentes temperaturas de almacenamiento (congelación y refrigeración).	45
Figura 7.6. Valores de acidez titulable total, de las bases para helado, obtenidas en diferentes tiempos de almacenamiento.	46
Figura 7.7. Evolución del pH en función en bases para helado durante el tiempo de almacenamiento.	49
Figura 7.8. Valores de pH de las bases para helado (económica y premium), obtenidas en las diferentes temperaturas de almacenamiento (congelación y refrigeración).	51
Figura 7.9. Valores de pH, de las bases para helado, obtenidas en diferentes tiempos de almacenamiento.	52

Índice de Tablas

Tabla 2.1. Composición aproximada de helados (% p/p).	10
Tabla 2.2. Composición general media de la mezcla utilizada en la elaboración de helados (Madrid-Vicente & Cenzano, 2003).	15
Tabla 2.3. Ecuaciones de velocidad de reacción.	18
Tabla 7.1. Composición proximal de las bases para helado, económica y premium.	36
Tabla 7.2. Resultados del análisis microbiológico inicial de las bases para helado premium y económica, reportadas en UFC / mL de muestra.	38
Tabla 7.3. Parámetros cinéticos de la evolución de los atributos de calidad de las bases para helado premium, durante el tiempo de almacenamiento.	55
Tabla 7.4. Parámetros cinéticos de la evolución de los atributos de calidad de las bases para helado económicas, durante el tiempo de almacenamiento.	56
Tabla 7.5. Ecuaciones cinéticas de primer orden para estimar la vida útil de las bases para helado.	58

Lista de acrónimos, constantes y símbolos

ANOVA	análisis de varianza
a_w	actividad acuosa
BMA	bacterias mesófilas aerobias
E_a	energía de activación
k	constante de velocidad
Q	parámetro crítico de calidad
t	tiempo
θ	vida útil
(ΔH^\ddagger)	entalpía
Q_{10}	coeficiente de temperatura adimensional
A_0	factor preexponencial
R	constante de los gases ideales
(ΔS^\ddagger)	entropía
k_B	constante de Boltzmann
h	constante de Planck
R^2	coeficiente de determinación

Resumen

La base para helado es la materia prima para la elaboración del helado y está compuesta de leche, grasa, azúcares, emulsionantes y estabilizantes. La presente investigación tuvo por objetivo estimar la vida útil de bases para helado premium y económica. Para ello, se realizó el análisis microbiológico del producto inicial, de acuerdo a la normativa mexicana. Posteriormente se analizaron parámetros fisicoquímicos (pH, acidez titulable y a_w) para determinar cuáles tienen el mayor impacto sobre la vida de anaquel en función de la temperatura. Los recuentos de Bacterias Mesófilas Aerobias, Coliformes Totales, Hongos y Levaduras no rebasaron los límites máximos establecidos en la NOM-036-SSA1-1993 para bases lácteas por lo que se mantuvieron Buenas Prácticas de Fabricación. Los valores de acidez titulable fueron diferentes para la base premium en función de la temperatura, siendo mayor en la temperatura de refrigeración. Los cambios de pH fueron distintos según la temperatura para las bases económicas e iguales para las bases premium. Este aumento de acidez y descenso de pH puede estar causado por la producción de ácido láctico en productos lácteos. El pH fue considerado como atributo de calidad crítico para estimar la vida de anaquel de ambas formulaciones de base para helado. En conclusión, la vida de anaquel de las bases para helado depende de la temperatura de almacenamiento durante la distribución del producto y en el punto de ventas. Sería recomendable que los fabricantes incluyeran información en el producto, acerca de las temperaturas de manejo.

1. Introducción

Con el paso de los años, la industria de los lácteos ha ido trascendiendo y mejorando, al crear productos que puedan satisfacer al consumidor desde cualquier punto de vista, ya sea desde productos para niños hasta productos para adultos mayores, pues abarcar a toda la población nunca ha sido un problema debido a sus nutrientes y energía. Tal es el caso de los helados, producto derivado de los lácteos que ha logrado satisfacer los paladares de toda la población en todas sus presentaciones.

Actualmente, los helados han sido incluidos en la dieta de una gran parte de la población en México, especialmente en los niños debido a los atributos que este producto alimenticio brinda, siendo llamativo por sus colores, sabores, texturas, ingredientes como frutas, galletas, chocolate, gomitas, caramelos, bombones entre otros, que los helados pueden llevar.

Los helados se clasifican de acuerdo a la base, que puede ser de leche o agua, los de base láctea son aquellos que tienen como principal ingrediente la leche o crema, su valor nutritivo se debe al aporte de proteínas, azúcares, grasas, así como minerales principalmente calcio y vitaminas como la B₂. Los de base agua, como su nombre lo indica, tienen como principal ingrediente el agua; en ocasiones parte de esta agua se sustituye con jugos de fruta lo que incrementa su valor nutricional.

Haciendo referencia al mercado e industria de los helados, en el estado de Hidalgo se cuenta con tres cuencas lecheras, las cuales se dedican a generar productos de calidad entre los que se destacan las bases para helado. La industria Hidalguense se ha ido fortaleciendo con el paso de los años contratando nuevo personal, científicos, químicos, proveedores, etc., para así poder cubrir diferentes aspectos como es la demanda de los productos lácteos, ofrecer empleo a personas Hidalguenses, potenciar la investigación en la industria alimenticia y crear productos alimenticios de alta calidad.

Sin embargo, la preocupación de los productores es conocer los factores de deterioro, para poder monitorearlos y detenerlos, porque como todo alimento, los helados tienen vida útil, los productores de una industria aledaña al municipio de Pachuca de Soto proporcionaron al equipo de investigación diferentes bases para helado con el propósito de obtener estimaciones de vida

útil y así contribuir a la empresa productora y a fortalecer el nivel de calidad que ofrecen al consumidor.

En base a lo anterior, el objetivo de esta investigación fue estimar la vida útil de bases para helado premium y económica mediante el monitoreo de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos con el fin de proponer estrategias que prolonguen sus propiedades.

2. Antecedentes

2.1. Historia del helado

Se puede fijar como origen probable del helado la presencia de bebidas heladas o enfriadas con nieve o hielo, traídas generalmente por los esclavos en las cortes babilónicas, antes de la era cristiana (Ramírez-Navas, 2017).

Existen varias leyendas acerca de que el helado proviene de Asia, sin embargo, se ha reportado en escritos históricos romanos del siglo primero que este no fue inventado si no es el resultado de la evolución de prácticas empleadas para el enfriamiento de los alimentos y bebidas con nieve. En 1530 en Italia se llevó a cabo el desarrollo de procesos para la congelación de hielo con sal pero hasta el siglo XVII fue utilizado en alimentos donde ya se comenzaba a elaborar helados de agua (H. Douglas Goff & Hartel, 2013b).

Por otro lado según lo reportado por Pacheco-Coronel (2011) donde se hace referencia a las primeras neveras las cuales eran un grande armario de madera en donde se transfería nieve que era recolectada de varios picos donde esta se encontraba por lo tanto se utilizaba para la conservación de los alimentos en el interior del armario.

Quizá la primera receta publicada para helados de agua fue de Nicolas Audiger en 1692 consorcio francés y en 1712, Massialot agregó una receta a la que ya se incluía leche y la cual refirió como "Fromage à l'Angloise" (H. Douglas Goff & Hartel, 2013b).

Durante la evolución del helado se descubrió que los helados “calientes” son elaborados a base leche los cuales estuvieron asociados a climas fríos, por el contrario los helados “fríos” fueron elaborados a partir de agua asociados a los países de un clima cálido (H. Douglas Goff & Hartel, 2013b).

A lo largo del tiempo se encontró que el primer edulcorante utilizado para la elaboración de helados fue la miel, sin embargo, después con la producción de azúcar de caña, éste se convirtió en su edulcorante principal, además con la invención de un nuevo envase, el refrigerador, congelador y los tratamientos térmicos esto los hizo cada vez más fáciles de producir y distribuir a diferentes lugares, y dando como resultado hasta el día de hoy la adición de frutos, cubiertas de chocolate, colorantes, saborizantes, etcétera (H. Douglas Goff & Hartel, 2013b).

En 1913 fue inventada la primera máquina continua para elaborar helados que constaba de un congelador y de un batidor con aspas, que movía la mezcla continuamente hasta obtener la consistencia de una crema helada (Chacón-Villalobos, Pineda-Castro, & Jiménez-Goebel, 2016).

2.2. Definición de helado y de base para helado

2.2.1. Helados

Los postres lácteos congelados se caracterizan por contener sólidos lácteos (que pueden o no incluir grasa láctea) y se consumen en estado congelado, y con frecuencia también se airean. Dentro de la categoría de postres lácteos congelados, el helado es el producto más consumido (H. Douglas Goff & Hartel, 2013b).

Los helados son sistemas complejos que consisten en 3 componentes estructurales principales: celdas de aire, cristales de hielo y glóbulos de grasa parcialmente unidos o agregados, los cuales son distribuidos a través de una fase continua de solutos no congelados para formar una matriz semisólida, congelada y aireada; es decir, están rodeados por una matriz de azúcar, proteínas, sales, agua, hidrocoloides, estabilizantes, emulsionantes, colorantes y saborizantes. Cada uno de los ingredientes en la formulación influye en las propiedades del producto final (Pintor & Totosaus, 2012). Dicho de otra manera, la mezcla de helado constituye un sistema coloidal complejo en el que algunas sustancias están presentes en una solución verdadera (azúcares y sales), otras están suspendidas coloidalmente (caseína, estabilizadores, sólidos edulcorantes insolubles y algunos de los fosfatos de calcio y magnesio) y los glóbulos de grasa. Esto hace que el helado sea un sistema trifásico: gaseoso, sólido y líquido. La interfaz entre el agua y el aire se estabiliza mediante una película delgada de material no congelado y glóbulos de grasa parcialmente unidos que atraviesan las celdas de aire y limitan su espesor (Innocente, Comparin, & Corradini, 2002).

En consecuencia, un helado es una emulsión, una espuma y una dispersión simultáneamente. Debido a que la interacción entre los componentes resulta en un sistema polifásico constituido por cuatro fases, como se muestra a continuación (Abrate Deco, 2017):

- Fase líquida continua: donde azúcares, proteínas lácteas, hidrocoloides y otros solutos se hallan más o menos solubilizados.

- Fase sólida de grasa: glóbulos de grasa cristalizados, individuales o aglomerados.
- Fase sólida acuosa: cristales de hielo.
- Fase gaseosa: burbujas de aire.

Finalmente, la formulación y estabilidad de la emulsión del helado es una parte integral del proceso de manufactura y tiene un efecto significativo sobre las propiedades finales del helado de crema, ya que la estructura del helado determina importantes parámetros sensoriales sobre el producto final como la rigidez, resistencia al derretimiento y la textura (Abrate Deco, 2017). En ese sentido, las interfaces de grasa en el helado, están cubiertas por una capa de un agente emulsionante de grasa, normalmente agregado durante la fabricación para reducir la tensión interfacial y aumentar la susceptibilidad de los glóbulos de grasa a las fuerzas de desestabilización que existen en el congelador de helado (H. D. Goff & Jordan, 1989). El uso de emulsionantes da como resultado celdas de aire que son más pequeñas y se distribuyen de manera más uniforme en toda la estructura interna del helado. Los ingredientes emulsionantes más utilizados en la industria del helado para producir un producto terminado con una textura más suave y un cuerpo más rígido son los monoglicéridos y diglicéridos compuestos de glicerol y ácidos grasos seleccionados (H. D. Goff & Jordan, 1989; H. Douglas Goff, 1997).

2.2.2. Base para helado

La base para helado es la materia prima para la elaboración del helado y está compuesta de leche, grasa, azúcares, emulsionantes y estabilizantes. Esta combinación de ingredientes proporciona la textura al helado. De hecho, los hidrocoloides en la base para helado son importantes debido a su efecto sobre la formación de la estructura de los cristales de hielo y su estabilidad durante la congelación y la vida útil, características que se reflejan en la textura del helado. Los hidrocoloides mejoran la estabilidad de la emulsión y se unen al agua libre (Pintor & Totosaus, 2012).

Previamente se ha reportado que los parámetros estándar para una base para helado son 64% de agua, 18% de azúcares, el 10% de sólidos lácteos sin grasa y el 8% de grasas sólidas de la leche, esto para obtener un helado con características específicas de sabor, estructura y textura, determinadas por la calidad de los ingredientes (Fiol et al., 2017).

2.3. Clasificación de helados

El significado de helado varía a nivel mundial, debido a las diferentes regulaciones y tradiciones de composición, y por lo tanto se puede encontrar con muchas variaciones de formulación, los más representativos son (H. Douglas Goff & Hartel, 2013b):

- Helados regulares (generalmente definidos por niveles mínimos de grasa, que pueden ser lácteos o no lácteos, y también niveles mínimos de sólidos alimenticios o proteínas de la leche o sólidos lácteos, solos o en combinación).
- Productos premium de alto contenido graso, aunque por lo general también cumplen con las definiciones normales de los helados.
- Versiones bajas en grasa o sin grasa o versiones sin azúcar agregadas o sin azúcar, que pueden cumplir o no las definiciones habituales de helado.

Por otro lado, existen otras clasificaciones en función de los ingredientes que contienen los helados, así como en la concentración en la que se encuentran (Eras-López, 2013):

- Helados de crema, contienen de 7 a 10 % de grasa de leche, 6 a 8% de sólidos no grasos, 20 a 32% de sólidos totales de leche, 0.5% de estabilizador, 0.2% de monoglicéridos y diglicéridos, 0.1% de emulsificantes y una incorporación de aire de 100% del volumen de la mezcla.
- Helados de leche, contiene 2.5% de grasa de leche, 5% de sólidos de leche no grasos, 12% y 27% de sólidos totales y una incorporación de aire de 100% del volumen de la mezcla.
- Sherbets o sorbetes, son productos congelados compuestos de azúcar, agua, fruta, color, sabor, estabilizantes y a veces sólidos de leche en forma de leche descremada en polvo, leche entera en polvo o leche condensada.
- Helados de fruta, contiene una fracción de fruta del 20%. Hay cuatro tipos de helados de fruta: con componentes lácteos y con aire batido, con pocos componentes lácteos y con aire batido, sin componentes lácteos y con aire batido y sin componentes lácteos y sin aire batido.
- Helados de yogur, pueden contener fruta. Contiene de 3 a 6% de grasa, de 11 a 20% de azúcares, de 10 a 12% de sólidos no grasos, 0.85% de estabilizantes y emulsificantes y un promedio de 70% de agua.

- Helados dietéticos, tienen bajo contenido calórico. Contienen 14.4% de azúcar, 9.6% de jarabe o miel, 73% de agua y 3% de base fructosa. Pueden contener pulpa de fruta en diversos grados.

2.4. Descripción general de la composición y de la fabricación de los helados

2.4.1. Ingredientes para la elaboración de helados

Los helados son productos cuya formulación contiene sólidos de leche, grasas y azúcares, pero también contienen emulsificantes, estabilizantes, colorantes y saborizantes (Abrate Deco, 2017).

A continuación, se describen los principales ingredientes empleados en los helados.

- Grasa: Es el componente más importante del helado por ser el responsable del sabor rico, cremoso y suave. A medida que aumenta el contenido graso, hasta llegar a 16 % de la mezcla, mejora el sabor del helado; pero pasado este límite, su contribución al sabor es prácticamente nula. En algunos países es permitida la sustitución parcial o total de la grasa de origen lácteo por grasas de origen vegetal, tales como, aceite de soya, de girasol y muchos más; pero con ninguno de ellos se logra el sabor obtenido con la grasa de origen lácteo. La grasa da al helado suavidad, viscosidad, textura y resistencia al derretimiento y no afecta el punto de congelación. El porcentaje de grasa usado más frecuentemente en los helados es el 12 % y normalmente es suplido por la crema fresca y leche entera, sin embargo, también se puede usar crema congelada, crema plástica, mantequilla sin sal, aceite de mantequilla y leche condensada (Madrid-Lalangui, Onofre-Mendoza, Prieto-Bolaños, & Coello-Aguirre, 2010).
- Sólidos no grasos: están formados por la proteína, azúcares y sales minerales de la leche, son de alto valor nutritivo y además mejoran la textura del helado al ligar y reemplazar el agua. También influyen fuertemente sobre la correcta distribución del aire durante el batido y enfriamiento (Madrid-Lalangui et al., 2010).
- Sólidos lácteos no grasos: concentrados proteicos de la leche/soya: Mejora el cuerpo y la textura a través de la capacidad emulsificante y de retención de agua, también promueve el desarrollo del *overrun*.

- Sólidos de jarabe de maíz: menor costo que el azúcar, mejoran el cuerpo, la textura, incrementan la estabilidad del helado, sin embargo, perjudican el flavor y producen textura “gomosa” cuando se usan en exceso.
- *Sólidos de yema de huevo: mejoran la habilidad de espumante, imparten flavor a crema; sin embargo, el flavor a huevo puede ser indeseable (Abrate Deco, 2017).*
- Azúcar: la función principal del azúcar es impartir el gusto dulce al helado y al mismo tiempo, hacer resaltar el sabor cremoso y el delicado sabor de las frutas incorporadas. La falta de azúcar hace un producto desabrido y el exceso, opaca los sabores naturales de la mezcla. La cantidad de azúcar en la mezcla puede variar de 12 a 20 %, pero los mejores resultados se obtienen con 14 a 16 % de azúcar ya que cantidades mayores de 16 % hacen al helado muy pegajoso. El azúcar baja el punto de congelación de la mezcla porque aumenta la viscosidad y los sólidos totales, lo cual mejora la textura y el cuerpo del helado; siempre que no pase de 42 % de sólidos totales (Madrid-Lalangui et al., 2010).
- Estabilizador: produce suavidad, mejora la textura, reduce la formación de cristales de hielo y da al producto uniformidad y resistencia a la descongelación. Se utiliza para evitar la separación de azúcar y para que el helado no se desmorone, pero en exceso pueden producir una textura “gomosa”. Incrementan la resistencia al derretimiento (Abrate Deco, 2017). Los estabilizadores pueden ser compuestos proteínicos o carbohidratos. En el grupo proteínico se encuentran los productos conocidos como gelatina, caseína, pectina, albúmina, y globulina. El grupo de carbohidratos incluye el alginato de sodio, agar, carboximetil celulosa de sodio, musgo de Irlanda, goma de tragacanto, goma de avena, goma arábiga, goma de algarrobo. La cantidad de estabilizadores usados varía de 0.2 a 0.5 %, pero lo usual es 0.3 % (Madrid-Lalangui et al., 2010).
- Emulsificantes: permiten la emulsión de líquidos que no se mezclan, ayudan a que el helado sea más suave, de apariencia más seca y que haya más aireación (Abrate Deco, 2017). Los productos más usados son los monoglicéridos y diglicéridos en cantidades no mayores del 0.2 % de la mezcla; también se pueden usar ésteres de sorbitol en cantidades no mayores de 0.1 % de la mezcla. La yema de huevo produce efectos

similares a los emulsificantes pero no es tan efectivo y es más caro (Madrid-Lalangui et al., 2010).

- Saborizantes: el sabor del helado resulta de la combinación de los sabores de cada uno de los componentes de la mezcla y del sabor específico que desea producir. Con respecto a este último, es necesario que sea lo suficiente fuerte como para identificarlo fácilmente y de gran palatabilidad. Los aromatizantes más utilizados son la vainilla, la cocoa, o chocolate y la fresa; sin embargo, hay buena aceptación de helados con otras frutas y nueces (Madrid-Lalangui et al., 2010).
- Aromatizantes: mejoran la aceptabilidad, pero se debe de tener cuidado de no abusar de estos o podrían resultar inaceptables para los consumidores.
- Colorantes: mejoran el atractivo del helado y ayudan a identificar sabores (Abrate Deco, 2017).

En la Tabla 2.1 se muestra la composición aproximada en peso (% p/p), de algunos tipos de helados agrupados por el tipo de formulación (H. Douglas Goff & Hartel, 2013b).

Tabla 2.1. Composición aproximada de helados (% p/p).

Categoría	Grasa de leche	Sólidos de leche no grasos	Edulcorantes^a	Estabilizantes^b y emulsificantes	Sólidos totales
Helado sin grasa	<0.5	12-14	18-22	1.00	28-32
Helado bajo en grasa	2-5	12-14	18-21	0.80	28-32
Helado light	5-7	11-12	18-20	0.50	30-35
Helado reducido en grasa	7-9	10-12	18-19	0.40	32-36
Helado económico	10	10-11	15-17	0.40	35-36
Helado estándar	10-12	9-11	14-17	0.20-0.40	36-38
Helado premium	12-14	8-10	13-16	0.20-0.40	38-40
Helado súper premium	14-18	5-8	14-17	0-0.20	40-42

^aIncluye sacarosa, glucosa, sólidos de jarabe de maíz, maltodextrinas, povidona y otros agentes de carga, algunos de los cuales aportan poca dulzura.

^bIncluye ingredientes como goma de algarrobo, goma guar, carragenina, goma de celulosa y gel de celulosa, como estabilizadores, y también mono y diglicéridos y polisorbato 80, como emulsionantes.

2.4.2. Proceso para la elaboración de helados

Para la elaboración de helados, se pesan los ingredientes y en seguida con la ayuda de una bomba mezcladora se integran para luego ser transferidos a un tanque mezclador. El líquido obtenido se pasteuriza preferentemente usando sistemas UHT (ultra high temperature) que no alteran el sabor, para después mantenerlos algunas horas en tanques de “maduración” a una temperatura de 4°C a 5°C por un periodo de 4 a 5 horas (Ramírez-Navas, 2017). Este tiempo es fundamental para obtener la cristalización de la grasa, así como la absorción de agua por proteínas y estabilizantes obteniendo finalmente una buena consistencia. La mezcla absorberá mejor el aire

que se le incorporará en el proceso de batido, mayor resistencia al derretimiento; en algunos casos y por razones de producción la mezcla puede permanecer en los tanques hasta 24 horas sin riesgos para la calidad del producto. En estos tanques de maduración son adicionados los ingredientes como agua, grasas, azúcares y saborizantes (Ávila-Vega & Silva-Rubio, 2008).

El siguiente paso es el congelamiento rápido para favorecer la formación de un gran número de cristales de hielo muy pequeños que confieren cremosidad y no se perciben en la boca; el 50% del agua se congela y sale del equipo a -8°C que al mismo tiempo le adiciona aire de un 40 a un 100%, lo que representa un paso decisivo en la fabricación, ya que sin éste se produciría una mezcla láctea congelada y no un helado. Después de este congelamiento parcial, se introduce en cámaras (-30°C) en donde se lleva a cabo el congelamiento total del agua restante (Ramírez Nava, 2019). En la Figura 2.1 puede ser observado el diagrama general del proceso de elaboración de los helados (H. Douglas Goff & Hartel, 2013b).

Cabe mencionar que los materiales aromatizantes que son homogéneos en todo el producto se agregan antes del primer paso de congelación, mientras que los materiales aromatizantes que permanecerán discretos en el producto (frutas, nueces, dulces o piezas de panadería, salsas) se agregan después del primer paso de congelación (H. Douglas Goff & Hartel, 2013b).

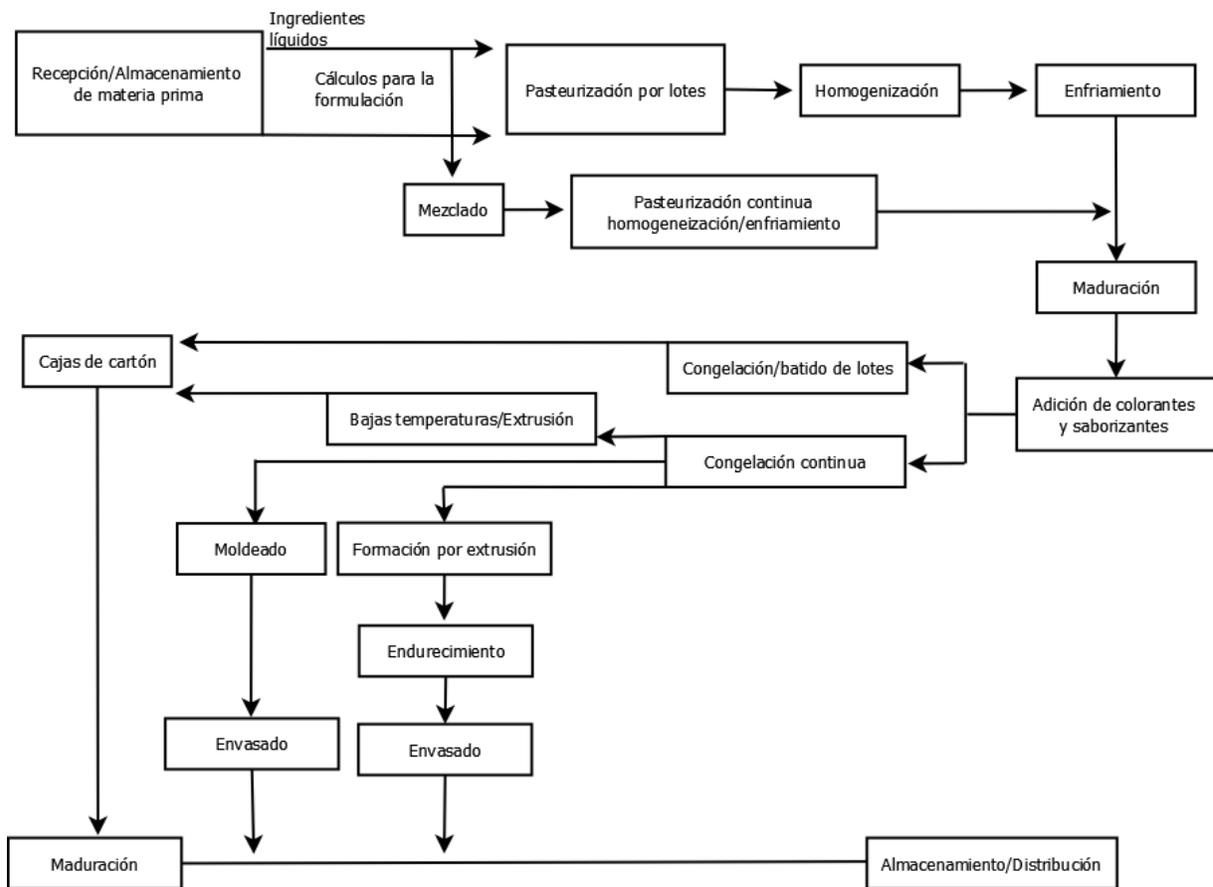


Figura 2.1. Principales etapas en la elaboración de helados (H. Douglas Goff, 1997).

2.5. Características fisicoquímicas y nutricionales de los helados

Lo más importante del color en los helados debe ser su intensidad; esto es algo relativo, dependiendo del gusto de los clientes, pero el color debe ser homogéneo y por supuesto, relativo al sabor (Eras-López, 2013).

Respecto al olor, este es característico de cada fruta o mezcla, lo más importante debe ser que la fragancia que emitan los helados sea acorde a los ingredientes o materias primas usadas para su elaboración, es importante no usar ingredientes caducados o en mal estado, esto reduciría la aceptación del producto. En cuanto al sabor, cada componente de la mezcla tiene un sabor característico. En una mezcla no debe predominar ningún sabor especial. Entre los sabores de los ingredientes básicos, deben formar un aroma que produzca una agradable sensación al paladar (Eras-López, 2013).

En relación con la textura del helado, ésta se vuelve compleja con la presencia de aire. Un helado es en realidad una espuma sólida de células de aire cubiertas por la grasa emulsificada junto con una red de microcristales de hielo, que a su vez están rodeados de un líquido acuoso en forma de sol. Por lo que, la textura depende de muchos factores, entre estos el contenido de grasa y de derivados lácteos, aditivos añadidos, tratamientos térmicos, homogeneización, velocidad de congelación, cantidad de aire añadida, entre otros (Badui-Dergal, 2006). El conjunto de componentes debe proporcionar una estructura cremosa, ligera y suave (Eras-López, 2013). Entre los factores que influyen en la calidad de los helados se pueden mencionar la cantidad de aire incorporado (proceso de aireamiento), el derretimiento, la acidez, la textura, el color y el sabor. La incorporación de aire, que es fundamental para conseguir una textura adecuada, se lleva a cabo mediante el batido y la congelación simultánea de la mixtura de helado. Al incorporar más del 50% del aire a la mixtura del helado, se obtiene un producto de consistencia muy ligera mientras que la escasa incorporación resulta en un helado muy espeso (Chacón-Villalobos et al., 2016); el aire queda incorporado en forma de pequeñas burbujas o células de 50- 80 μm .

El derretimiento es una medida del comportamiento del helado a temperaturas elevadas, lo que permite evaluar la retención de la consistencia, eventuales separaciones de fases y las características de los líquidos provenientes del derretimiento. En el caso de los helados a los cuales se les añade fruta, es de vital importancia el contenido de acidez, el cual no debe ser demasiado bajo, pues puede producir la precipitación de la caseína, por lo que es necesario determinar el pH de este tipo de producto. Entre los componentes del helado, la grasa es la que más se asocia con una textura deseable (Chacón-Villalobos et al., 2016). Respecto al valor nutritivo de los helados, éste oscila aproximadamente entre 200 y 250 kcal/100g en los helados cremosos. En los helados a base de agua, aportan mucho menos calorías, debido a que no contienen grasa en su composición. Son considerados como una fuente de:

- Proteínas de alto valor biológico (en helados cremosos o que contengan leche).
- Vitaminas hidrosolubles y liposolubles.
- Energía calórica proveniente de carbohidratos y lípidos (lípidos en caso de helados cremosos).
- Sales minerales diversas.

El valor nutritivo de los helados depende del tipo de materias primas utilizadas y de la cantidad en que las mismas participan en el producto terminado. Por consiguiente, el valor nutritivo del helado depende decisivamente del correspondiente a las diversas sustancias de partida con las que se elabora el producto (Eras-López, 2013).

La cantidad de proteínas que aportan los helados, depende principalmente de la cantidad de leche que contengan en su composición, aproximadamente aportan 5 g de proteína por cada 100 g de helado cremoso; los helados a base de agua tienen un contenido proteico casi nulo (Hernandez-Galvez, 2014).

En grasa generalmente aportan más del 10% en peso. Esta grasa proviene principalmente de origen vegetal y es mayormente saturada. Asimismo, suelen estar presentes en su composición algunos fosfolípidos (lecitinas), mono y diglicéridos de ácidos grasos como emulsificantes, los cuales contribuyen en alguna medida a incrementar el contenido de grasas en los productos de heladería. Los helados a base de hielo no contienen grasa en su composición, únicamente los cremosos, en la Tabla 2.2 se puede observar la composición general de la mezcla utilizada en la elaboración de helados:

Tabla 2.2. Composición general media de la mezcla utilizada en la elaboración de helados
(Madrid-Vicente & Cenzano, 2003).

Componente	Contenido por cada 100 g
Hidratos de carbono	13-22 g
Grasas	2-14 g
Proteínas	1-6 g
Agua	50-78 g
Sales minerales:	
Ca	80-138 mg
P	45-150 mg
Mg	10-20 mg
Fe	0.05-2 mg
Cl	30-205 mg
Na	50-180 mg
K	60-175 mg
Vitaminas:	
A	0.02-0.13 mg
B ₁	0.02-0.07 mg
B ₂	0.17-0.23 mg
B ₃	0.05-1 mg
C	0.9-18 mg
E	0.1-0.5 µg
D	0.05-0.7 mg

2.6. Vida útil

La vida útil de un alimento se define como el tiempo finito después de su producción en condiciones controladas de almacenamiento, en las que tendrá una pérdida de sus propiedades sensoriales y fisicoquímicas, y sufrirá un cambio en su perfil microbiológico (Jaimez-Ordaz et al., 2019).

Entre los factores que pueden afectar la duración de la vida útil de un alimento se encuentran el tipo de materia prima, la formulación del producto, el proceso aplicado, las condiciones sanitarias del proceso, envasado, almacenamiento y distribución y las prácticas de los consumidores. A continuación, se describen algunos de estos factores que afectan la vida útil de los alimentos.

- La composición de las materias primas es determinante para las reacciones de deterioro que se llevarán a cabo en el producto. En la materia prima para elaborar un alimento, pueden predominar las proteínas, las grasas o los carbohidratos. También pueden tener un alto contenido de humedad, o no ser de buena calidad. Un alto contenido de grasas, en el producto final, posiblemente correrá el riesgo de enranciarse, o bien si contiene carbohidratos, el alimento elaborado será susceptible al deterioro por hongos y levaduras.
- Los alimentos pueden someterse a procesos de pasteurización, de esterilización, pero puede poner en riesgo la seguridad y calidad del producto si no se usan los factores de conservación de una manera adecuada.
- Dependiendo de las condiciones sanitarias que se sigan durante el proceso de elaboración de un producto, será el tiempo de vida útil del mismo. Si no se mantiene un adecuado manejo higiénico durante todo el proceso de elaboración, es posible que el producto final contenga una carga microbiana que, de tener condiciones favorables, pueda desarrollarse y descomponer el alimento o aún más, causar infecciones o intoxicaciones a los consumidores.
- Un producto envasado asépticamente, tendrá una vida útil mayor que aquel que se envasó y luego se sometió a un tratamiento térmico. El envasado puede favorecer condiciones de anaerobiosis o modificar la atmósfera entre el alimento y el material de empaque, de tal manera que en tales condiciones se pueda prolongar la vida útil del alimento.

- El lugar donde se almacenen los productos terminados, así como el tiempo en que estos se distribuyan puede acortar la vida útil de un alimento, si esto no se realiza en condiciones apropiadas. Debe cuidarse que el transporte de los productos se haga en unidades de transporte con enfriamiento (Carrillo Inungaray & Reyes Munguía, 2013).

2.6.1. Cinéticas de deterioro

En general, los ensayos de vida de anaquel en condiciones reales de almacenamiento, siguen siendo el método principal utilizado para determinar la vida útil de los alimentos. Sin embargo, si la vida útil de un producto es mayor a 3 meses, las pruebas pueden durar mucho tiempo y serían costosas. Por lo tanto, las pruebas aceleradas de vida útil se aplican a una variedad de productos para estimar el cambio en las características en un período corto de tiempo (Park, Koh, & Kim, 2018).

En ese sentido, la metodología de trabajo para estimar la vida útil consiste en identificar primero las reacciones que influyen en la calidad y seguridad del alimento. Entonces, a través del monitoreo de los parámetros químicos, fisicoquímicos, microbiológicos o sensoriales cuantificables de un sistema alimentario concreto, se determinan las reacciones que representan el impacto más crítico. En la práctica, la degradación y pérdida de vida útil de los alimentos se expresa matemáticamente con ecuaciones en las que se representa la pérdida de los factores de calidad deseados (nutrientes, flavor característico, color, olor, etc.) o la formación de factores de calidad indeseables. En la Tabla 2 se muestra cómo las constantes de velocidad de reacción (k) se pueden determinar controlando cómo varía la concentración de los parámetros críticos de calidad (Q) con respecto al tiempo (t) (Petrou, Roulia, & Tampouris, 2002).

Tabla 2.3. Ecuaciones de velocidad de reacción.

Orden de reacción	Ecuación diferencial	Ecuación integrada	Representación gráfica
0	$v = k$	$Q = Q_0 \pm kt$	$Q(t)$ vs t
1	$v = kQ$	$\ln Q = \ln Q_0 \pm kt$	$\ln Q(t)$ vs t
2	$v = kQ^2$	$\frac{1}{Q} = \frac{1}{Q_0} \pm kt$	$\frac{1}{Q}(t)$ vs t

2.6.2. Conversión fraccional de primer orden

Para una reacción de primer orden irreversible a temperatura constante, la expresión de velocidad es:

$$\frac{dC}{dt} = k \times C$$

donde: C es la concentración del reactivo; k es la constante de velocidad con una unidad de $1 /$ tiempo; t es el tiempo de calentamiento, tras la integración, la expresión se convierte en:

$$\ln \frac{C}{C_0} = -k \times t$$

donde: C_0 es la concentración en el tiempo, 0.

Una gráfica lineal de la concentración frente al tiempo exhibe una disminución exponencial cercana a cero. Una gráfica semilógica de la concentración frente al tiempo es lineal con una

pendiente igual a $-k$. La dependencia de la temperatura de la constante de velocidad normalmente sigue la ecuación de Arrhenius:

$$\ln k = \ln A_0 - \frac{E_a}{R \times T}$$

donde: A_0 es la constante pre-exponencial; E_a es la energía de activación (cal / mol); R es la constante de gas universal (1.987 cal / mol z K); T es la temperatura (K). La energía de activación y la constante pre-exponencial se pueden obtener mediante regresión lineal cuando el logaritmo de la constante de velocidad se traza frente al inverso de la temperatura. Las ecuaciones anteriores se utilizan para describir la cinética de reacción desde el punto de vista molecular, es decir, a través de la medición del cambio en la concentración de un reactivo específico con el tiempo.

El concepto de conversión fraccional, ampliamente utilizado en ingeniería química, proporciona un método preciso para correlacionar el alcance de una reacción química con la medición de una propiedad física. Para la aplicación de la conversión fraccional, se supone una reacción teórica simple de primer orden, $A \rightarrow B$.

Para determinar la cinética de reacción, es necesario conocer el alcance de la reacción, o la fracción de reactivo que se ha convertido en producto en cualquier momento, t . La conversión fraccional, f , de una reacción se define como la siguiente:

$$\frac{\text{lo que ha reaccionado en el tiempo especificado, } t}{\text{lo que debe reaccionar para que la reacción se complete}}$$

Para una reacción de primer orden, la gráfica del logaritmo del tiempo arrojaría una línea recta con una constante de velocidad expresada por el negativo de la pendiente:

$$\ln \frac{C_t}{C_0} = \ln (1 - f) = -k \times t$$

2.6.3. Efecto de la temperatura

Un modelo cinético completo de pérdida de vida útil debe considerar las condiciones ambientales en las que se desarrolla el experimento, se deberán incluir como variables los factores ambientales que afectan fuertemente a las constantes de velocidad de reacción y que sean más susceptibles de sufrir variaciones durante la vida útil del alimento, entre los factores ambientales que se han citado anteriormente el que se incluye en los modelos matemáticos es la temperatura, ya que además de afectar las constantes de velocidad de las reacciones, es el único factor que, la mayoría de veces, le es impuesto externamente al alimento y no puede ser controlado por un envase apropiado.

Según la ecuación de Arrhenius, la reacción que se considere sólo cuando el calor ha conseguido la activación de las moléculas. La energía de activación se puede definir como la mínima energía que deben poseer las moléculas antes de que ocurra la reacción y término exponencial es la fracción de moléculas que poseen esta energía mínima.

Los test de vida útil acelerada implican el uso de altas temperaturas en las experiencias para conocer las pérdidas de calidad del alimento y su vida útil, y la extrapolación de los resultados a las condiciones normales de almacenamiento utilizando la ecuación de Arrhenius. De esta forma una experiencia que debía durar un año se puede completar en un mes (Casp Vanaclocha & Abril Requena, 2003).

2.7. Factores de deterioro que afectan a los helados

En los helados no es tan fácil encontrar importantes cambios de deterioro, aunque si pueden darse, pero no se aprecian tanto como pudiera notarse en otros productos. Sin embargo, existen algunos cambios indeseables originados por cambios físicos y químicos que se dan en el producto (Frazier & Westhoff, 1993). Debido a que el helado es un sistema coloidal muy complejo, muchos factores tienen un impacto sobre las propiedades físicas de la mezcla. Dentro de estas propiedades se incluyen la estabilidad, la densidad, acidez, la viscosidad, la tensión superficial, el calor específico, y el punto de congelación (Abrate Deco, 2017).

2.7.1. Deterioro fisicoquímico

Los principales problemas de deterioro están relacionados con algunas materias primas como lo son la leche y el huevo. Las alteraciones que éstos pueden sufrir son, entre otras, desdoblamiento de proteínas provocando productos malolientes, fermentación con producción de ácidos y lipólisis que se manifiesta generalmente con el enranciamiento del producto y por consiguiente el sabor se modifica (Frazier & Westhoff, 1993).

2.7.1.1. Estabilidad

La estabilidad de la mezcla se refiere a la resistencia a la separación de las proteínas de la leche en la suspensión coloidal y la grasa de la leche en emulsión. La inestabilidad trae como resultado la separación de: los glóbulos de grasa debido a la formación de crema/nata (aglutinamiento), partículas de proteína como coagulados o materiales precipitados, o un suero claro (suero de la mezcla) o el helado derretido.

La mezcla del helado se homogeneiza para reducir los grandes glóbulos de grasa a partículas pequeñas con un alto grado de dispersión. Una distribución normal de los glóbulos de grasa da como resultado una media de alrededor de 0,5 a 1,0 μm centrados y un tamaño máximo de alrededor de 2 μm . Los glóbulos de grasa en la mezcla homogeneizada están rodeados por una capa interfacial de proteínas y fibras emulsionantes. El estado de dispersión de la grasa láctea en los helados depende de las fuerzas que tienden a unir los glóbulos de grasa junto con los efectos del emulsionante durante el proceso de homogeneización, y la repulsión mutua de los glóbulos debido a sus cargas eléctricas. Las fuerzas que tienden a llevar a los glóbulos juntos son las colisiones de dichos glóbulos a medida que emergen de la válvula del homogeneizador, el movimiento browniano de los muy pequeños glóbulos, la cohesión de las capas adsorbidas que lo rodean, la tensión interfacial entre las fases grasa y suero, y el efecto de concentración de congelamiento en la proximidad de los glóbulos de grasa entre sí y con el suero.

La grasa es menos densa que el agua y normalmente separará la capa de grasa cuando los glóbulos de grasa lleguen a la superficie.

La estabilidad óptima es aquella que permite que la mezcla pase a través de las etapas de procesamiento (pasteurización) permitiendo al mismo tiempo el batido y posterior proceso de congelación, para desestabilizar una cantidad adecuada de grasa. El desplazamiento de las

proteínas por emulsionantes ayuda a crear esta estabilidad óptima, disminuyendo la tensión interfacial de la emulsión.

La estabilidad de la proteína resulta del estado de dichas proteínas y el equilibrio adecuado en la solución de pH y sales minerales. El calor excesivo en la pasteurización, por ejemplo, puede cambiar la conformación de las proteínas de suero de leche (desnaturalización), lo que lleva a su adsorción en la micela de caseína y su eventual precipitación. Del mismo modo, cualquier cambio en las condiciones del solvente puede dar lugar a una mayor precipitación de proteínas. Esto causa un aumento indeseable de la viscosidad de la mezcla, lo que puede afectar negativamente (Abrate Deco, 2017).

2.7.1.2. Viscosidad

La mezcla de helado es principalmente un sistema viscoso, mientras que el helado es ante todo un sistema viscoelástico. Se ha dado considerable atención a los factores que afectan la viscosidad de esta mezcla, ya que tiene un gran impacto en el procesamiento y las características del producto final.

Los valores de viscosidad de mezcla de helado son útiles como indicadores de los factores que pueden estar influyendo en la mezcla indebidamente, aunque la viscosidad de la mezcla varía en gran medida, sobre todo debido a los estabilizantes utilizados. Además, los valores entre 0,1 y 0,8 Pa.s son los que normalmente se encuentran a 4 °C , después de la maduración. Se reportaron valores de viscosidad de 0,58-0,69 Pa.s a una velocidad de cizallamiento de 115 s⁻¹ para las mezclas de helado que contienen un 12% de grasa de leche, 11% S L N G ; 16,5% de edulcorante, 0,1 % emulsionante, y 0,3 % de goma de algarroba / mezcla de carragenina (Abrate Deco, 2017).

2.7.2. Deterioro microbiológico

En los helados si las BMA (Bacterias Mesófilas Aerobias) se encuentran en altas cantidades fuera del límite puede indicar que la pasteurización no está siendo llevada a cabo de manera adecuada. Además, este grupo de microorganismos podría sugerir malas condiciones de almacenamiento y manejos higiénicos deficientes. Los fabricantes de helado deben de tener especial precaución con semejantes conteos ya que las BMA incrementan el ritmo de descomposición de cualquier alimento, además de alterar el olor, sabor y aspecto del helado.

Los mohos y levaduras se relacionan con una limpieza y desinfección de los utensilios y equipos deficientes o que, durante la producción, no se está teniendo precaución de evitar la contaminación debida a contacto con agua no potable o aire que pueda contener esporas u hongos directamente. Puesto de manera más sencilla, los mohos y levaduras hablan de las buenas prácticas de manufactura (BPM) presentes (o ausentes) en un alimento. Este indicador afecta directamente el alimento, tendiendo a reducir la vida de anaquel de cualquier producto y por tanto, a descomponerlo rápidamente. Pero, probablemente lo que hace más peligrosos a los mohos no es su capacidad de descomponer alimentos, sino, su capacidad de producir compuestos conocidos como micotoxinas. Estas son metabolitos las cuales son hoy en día el contaminante alimentario natural más expandido en el mundo y es seguramente el más peligroso de todos. Las micotoxinas pueden ser mutagénicas, oncogénicas, teratógenas y/o inmunosupresoras. Esto aunado a que dichas toxinas son difíciles de eliminar de los alimentos ya que la mayoría de los procesos térmicos para tratarlos no son efectivos para eliminarlas, esto debido a que cuentan con termorresistencia. Por ende, los alimentos deben de tener la menor cantidad de hongos posibles para así disminuir también la posibilidad de tener micotoxinas (Jiménez Lara, Velázquez Lupercio, Zúñiga Hernández, Martínez Esquivias, & Méndez Robles, 2019).

En los helados los variados ingredientes utilizados como materia prima y los aditivos, son, antes de congelar, susceptibles a la descomposición. Los principales problemas de descomposición están relacionados con las materias primas, principalmente aquellas ricas en proteínas, como los huevos y la leche ya que ofrecen a los microorganismos, en especial a la mayoría de las bacterias patógenas, la oportunidad para que se multipliquen rápidamente, además de que pueden sufrir alteraciones como el desdoblamiento de proteínas originando productos malolientes, fermentación con producción de ácidos y lipólisis (Bejarano-Villamar & Silva-Ochoa, 2010).

Diversos estudios sobre la microbiología del helado han demostrado que la carga microbiana de los helados está determinada por un mal proceso de pasteurización, materias primas contaminadas, operarios vehiculizadores de gérmenes (enfermos o portadores), la insuficiente refrigeración, exposición a nuevas fuentes de contaminación, es decir, las condiciones higiénicas en las que hay que destacar el equipo, prolongados tiempos de reposo de la mezcla, el acceso a la fauna y el medio ambiente. Durante la fabricación de paletas son fuentes adicionales los moldes y palos de madera (Fernández-Escartín, 2008).

3. Planteamiento del problema

Las bases para helado son productos lácteos elaborados principalmente por leche y aditivos alimentarios. Desde un punto de vista fisicoquímico son emulsiones que pueden mantener durante largos períodos de tiempo sus propiedades, esto debido en parte a que se almacenan a bajas temperaturas. Sin embargo, fluctuaciones en la temperatura de almacenamiento, y una deficiente calidad microbiológica inicial del producto, provocan un deterioro de este. El estudio de los factores que afectan este tipo de productos permitirá comprender los fenómenos fisicoquímicos que ocurren en estas matrices alimentarias y que afectan su calidad. Esto permitirá proponer estrategias que prolonguen las propiedades del producto.

4. Justificación

Las bases para helado son productos lácteos vulnerables de sufrir cambios en sus propiedades estructurales por efecto de la fluctuación de la temperatura de almacenamiento, ya que esto puede desestabilizar la emulsión modificando la textura del producto, afectando así sus propiedades fisicoquímicas, así como su calidad microbiológica y sensorial. Por otro lado, la presencia de *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Lysteria monocytogenes*, *Staphylococcus* que causan una gran variedad de enfermedades, en su mayoría gastrointestinales, no están descartadas de este tipo de matrices; principalmente sino se cuenta con un adecuado control de calidad. Es por esto que en este trabajo se pretende estudiar los factores que afectan la vida útil de bases para helado, a fin de proponer estrategias que permitan la conservación de sus propiedades, fisicoquímicas y microbiológicas, por largos períodos de tiempo.

5. Objetivos

5.1. General

Estimar la vida útil de bases para helado mediante el modelado cinético de atributos de calidad fisicoquímicos y microbiológicos, con el fin de proponer estrategias que prolonguen sus propiedades.

5.2. Específicos

- Determinar la composición proximal de bases para helado mediante técnicas establecidas en el AOAC para establecer si ésta se encuentra acorde a los parámetros estándar.
- Conocer la calidad microbiológica inicial de las bases para helado a través del recuento de bacterias mesófilas, coliformes totales, mohos y levaduras con el fin de conocer las condiciones de Buenas Prácticas de Fabricación ejercidas por la empresa productora.
- Estimar la vida útil de las bases para helado mediante el monitoreo de los parámetros de deterioro seleccionados y la ecuación de Arrhenius con la finalidad de brindar recomendaciones de control de calidad a la empresa.

6. Materiales y métodos

El desarrollo experimental de la presente investigación fue realizado como se describe en la Figura 6.1.

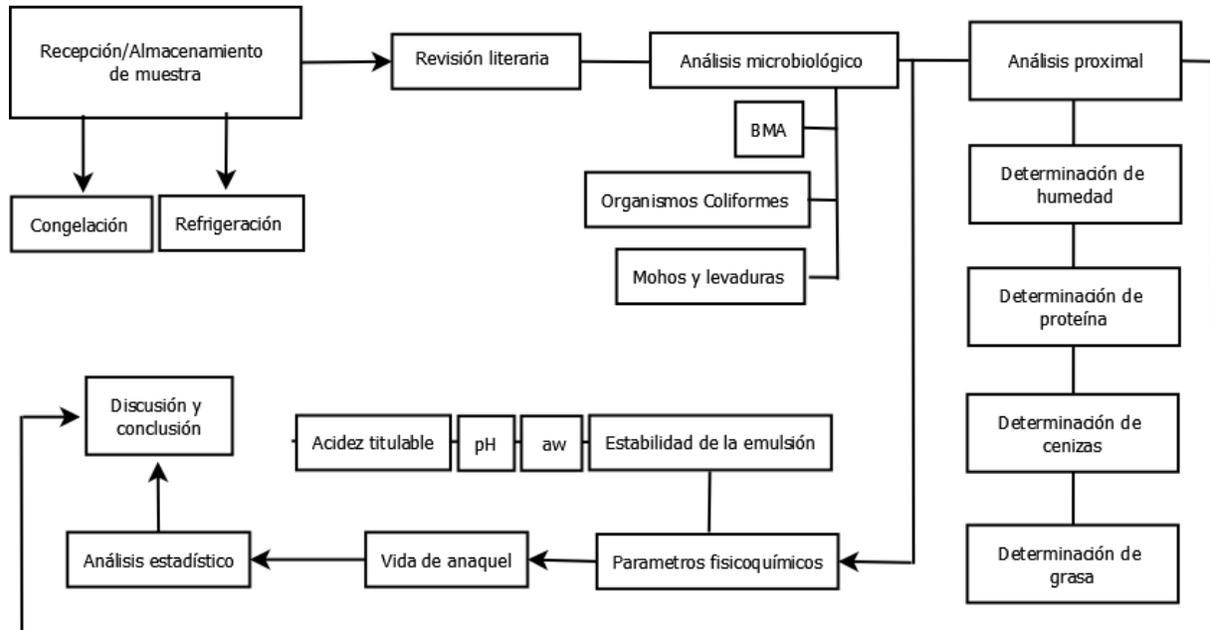


Figura 6.1. Diagrama general de la investigación.

6.1. Muestras

En la presente investigación, fueron utilizados 2 tipos de bases para helado de diferente composición química y de diferente calidad (premium y económica), que fueron proporcionadas por una empresa hidalguense ubicada en Ciudad Sahagún, Hidalgo, México.

6.2. Determinación de la composición proximal

La composición proximal de las bases para helado fue determinada de acuerdo a las metodologías establecidas por la AOAC.

6.2.1. Determinación de humedad

Fundamento: La determinación se basa en la pérdida de agua que sufre la muestra al ser calentada en una estufa de vacío a 65°C (para evitar la caramelización de la muestra) hasta peso constante. Generalmente a la pérdida del material que se volatiliza bajo estas condiciones, se le denomina humedad.

Equipo y material: Estufa de vacío (Lab-Line), balanza analítica (Ohaus), desecador, pinzas para crisol, charolas de aluminio y espátula.

Procedimiento: El método utilizado fue el 925.10 de la AOAC (1990).

Las charolas de aluminio (limpias y sin tocar) fueron mantenidas secas y a peso constante, para lo cual fueron colocadas en la estufa de vacío a 65°C durante 24 horas. Una vez a peso constante, fueron depositados 5 g de muestra. Ésta fue distribuida uniformemente de manera que la humedad pudiera evaporarse fácilmente. Las charolas fueron almacenadas en la estufa de vacío a 65°C y permanecieron ahí hasta alcanzar un peso constante.

6.2.2. Determinación de cenizas

Fundamento: La determinación de cenizas en seco es el método más común para cuantificar la totalidad de minerales en alimentos y se basa en la descomposición de la materia orgánica quedando solamente materia inorgánica en la muestra, es eficiente ya que determina tanto cenizas solubles en agua, como insolubles y solubles en medio ácido. En este método toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a una temperatura de 550°C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza.

Equipo y material: Crisoles de porcelana, pinzas para crisol, desecador, espátula, estufa (Felisa), parrilla de calentamiento y mufla (Ter lab).

Procedimiento: El método utilizado fue el 923.03 de la AOAC (1990).

Fueron colocados de 2 a 3 g de muestra en crisoles previamente limpios, lavados y puestos a peso constante en una mufla a 550°C. La muestra contenida en los crisoles fue incinerada en una parrilla de calentamiento (a su máxima temperatura), hasta observar la eliminación de todo el humo de la muestra, posteriormente, los crisoles fueron introducidos en una mufla a 550°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, los crisoles fueron pesados hasta obtener un peso constante.

6.2.3. Determinación de proteína por el método Kjeldahl

Fundamento: La proteína equivale al nitrógeno total tanto orgánico (nitrógeno amino y amido) como nitrógeno no proteico (urea, aminoácidos; etc.), obtenido mediante la digestión de la muestra con ácido sulfúrico (H_2SO_4) y la formación de hidróxido de amonio (NH_4OH) que es recibido en ácido para finalmente titularlo con álcali de una concentración conocida.

Equipo y material: Espátulas, vidrios de reloj, piceta, probeta (50 mL), agitador de vidrio, vasos de precipitado (250 y 1000 mL), perilla, agitador magnético, parrilla de agitación, matraz aforado (1000 mL), pipeta graduada (10 mL), matraces aforados (100 mL), tubos de digestión, digestor Kjeldahl 8U (ESEVE), matraces erlenmeyer (50 mL), destilador automático (Gerhardt®; modelo Vapodest 20).

Reactivos: Mezcla digestiva, solución indicadora, sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), ácido ortofosfórico (H_3PO_4), ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado, ácido bórico (H_3BO_3), fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$), verde de bromocresol ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$), rojo de metilo ($C_{15}H_{15}N_3O_2$), alcohol etílico (CH_3CH_2OH), sulfato de potasio (K_2SO_4), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 30%, hidróxido de sodio ($NaOH$) al 50%, ácido clorhídrico (HCl) 0.01 N y agua destilada.

Mezcla digestiva: Fueron pesados 3 g de sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) (el Cu actúa como catalizador) y fueron disueltos en 20 mL de agua destilada. Posteriormente, fueron adicionados 50 mL de ácido ortofosfórico (H_3PO_4) y se procedió a disolver completamente. Posteriormente, fueron adicionados por las paredes del recipiente que contenía la mezcla, 430 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. La mezcla fue agitada aproximadamente por 30 minutos.

Solución indicadora: Fueron pesados 5g de ácido bórico (H_3BO_3) y disueltos en agua destilada. Posteriormente, fueron adicionados 35 mL de indicador A (100 mg de fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$) aforados a 100 mL con alcohol etílico (CH_3CH_2OH)) y 10 mL de indicador B (33 mg de verde de bromocresol ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$) + 66 mg de rojo de metilo ($C_{15}H_{15}N_3O_2$) aforados a 100 mL con alcohol etílico (CH_3CH_2OH)). La mezcla resultante fue ajustada a un color café rojizo con ácido o álcali según se requiriera y fue aforada a 1 L con agua destilada.

Procedimiento: La determinación de proteína por el método Kjeldahl fue realizada como se describe en el método 930.33 de la AOAC (1990).

Digestión: En un tubo de digestión se fueron colocados 70 mg de muestra, 0.5 g de sulfato de potasio (K_2SO_4) (para aumentar la ebullición) y 3 mL de mezcla digestiva. Los tubos fueron introducidos en el digestor y fueron calentados a $370^\circ C$ por 15 minutos. Transcurrido el tiempo, cada tubo fue retirado y enfriado. Una vez fríos, fueron adicionados 1.5 mL de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 30% y fueron calentados nuevamente $370^\circ C$ hasta el final de la digestión. Los tubos fueron retirados del digestor hasta que el contenido fue completamente traslúcido, sin partículas negras en suspensión (que indican materia orgánica no digerida). De igual manera, en forma simultánea fueron preparados los blancos con sacarosa o glucosa en lugar de la muestra.

Destilación: La muestra previamente digerida, fue transferida al tubo de destilación y se fue colocado un matraz Erlenmeyer con 50 mL de solución indicadora, como recipiente de destilación. En este caso el destilador automático fue programado para adicionar al contenido del tubo 60 mL de NaOH al 50%, con un tiempo de destilación de 6 minutos al 60% de potencia de vapor.

Titulación: El contenido del matraz de recolección fue titulado con HCl 0.01 mol L^{-1} hasta el vire del indicador, de verde esmeralda a café rojizo.

6.2.4. Determinación de grasa por el método Gerber

Fundamento: La separación completa de la grasa precisa la destrucción de la envoltura protectora de los glóbulos grasos, llevada a cabo por medio del H_2SO_4 concentrado el cual oxida e hidroliza los componentes orgánicos de la envoltura protectora de los glóbulos de grasa, las fracciones de las albúminas de leche y la lactosa. Se produce calor por la dilución y también un fuerte calor debido a la reacción. La grasa liberada de esta forma se separa a continuación por centrifugación. Añadiendo alcohol isoamílico se facilita la separación de la fase y, al final, resulta una línea divisoria clara entre la grasa y la solución ácida. En la escala del butirómetro se puede leer el contenido en grasa de la muestra problema.

Equipo y material: Vasos de precipitado (50 mL), perilla, pipeta graduada (10 mL), pipeta graduada (1 mL), butirómetro (35%) y baño María (Boekel Grant).

Reactivos: H_2SO_4 al 90%, alcohol isoamílico ($(CH_3)_2CHCH_2CH_2OH$) y agua destilada.

Procedimiento: El método utilizado fue el 2000.18 de la AOAC (2005).

Fueron pesados 5 g de muestra y fueron depositados en el butirómetro. Posteriormente, fueron adicionados 10 mL de H_2SO_4 al 90%, 10 mL de agua y 1 mL de alcohol isoamílico

$((\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH})$. Después, el butirómetro fue tapado, fue invertido al menos dos veces para mezclar los componentes y fue agitado manualmente con fuerza. Posteriormente, el butirómetro fue introducido en baño María a 45°C por 5 minutos para que la muestra fuera estabilizada. Transcurrido este tiempo, directamente en la escala del butirómetro, fue tomada la lectura del porcentaje de grasa en la muestra.

6.3. Análisis microbiológico

La preparación de la muestra fue realizada de acuerdo con la NOM-110-SSA1-1994 (Secretaría de Salud, 1994b). Posteriormente, el análisis microbiológico de las 2 muestras de bases para helado, económica y premium, fue realizado de acuerdo con la normativa mexicana. El recuento de bacterias mesófilas aerobias (BMA) y la expresión de los resultados, fueron realizados de acuerdo con la NOM-092-SSA1-1994 (Secretaría de Salud, 1994a), los de coliformes totales de acuerdo con la NOM-113-SSA1-1994 (Secretaría de Salud, 1994d) y los del recuento de mohos y levaduras de acuerdo con la NOM-111-SSA1-1994 (Secretaría de Salud, 1994c).

6.4. Determinación de vida de anaquel

6.4.1. Acondicionamiento de las muestras

Fueron aplicadas las pruebas de vida útil en tiempo real. Por lo tanto, cada tipo de base para helado (premium y económica), fue almacenado asépticamente en 16 frascos de plástico con 250 g cada uno. Posteriormente, los frascos fueron almacenados a 2 temperaturas diferentes: 8 en congelación (T_1 , 0°C) y 8 en refrigeración (T_2 , 4°C), hasta su uso en la determinación de la vida de anaquel.

6.4.2. Parámetros fisicoquímicos

Los cambios en los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de las bases para helado (premium y económica), fueron monitoreados mediante la aplicación de un enfoque cinético para estimar la vida útil del producto.

Los parámetros fisicoquímicos a evaluar fueron pH, actividad del agua (a_w), acidez titulable (% de ácido láctico) y estabilidad de la emulsión. Las determinaciones se llevaron a cabo cada 7 días durante 8 semanas.

Debido a la calidad microbiológica inicial de las bases para helado, las pruebas microbiológicas fueron realizadas al final de las 8 semanas de monitoreo.

Para discutir los cambios en los atributos de calidad (Q) en las muestras, los datos fueron agrupados y codificados en 4 conjuntos, según la formulación de la base para helado y la temperatura de almacenamiento, como se muestra a continuación:

- prem_T1: bases premium almacenadas en congelación (0°C).
- prem_T2: bases premium almacenadas en refrigeración (4°C).
- econo_T1: bases económicas almacenadas en congelación.
- econo_T2: bases económicas almacenadas en refrigeración.

6.4.2.1. a_w

Los valores de a_w fueron determinados con un equipo Aqualab® (DECAGON Pullman WA, USA), el cual fue calibrado con una solución estándar de LiCl 0.1 mol L⁻¹ y con agua destilada. Fue colocado 1 g de la muestra en las cápsulas del equipo para la medición. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado (Flores et al., 2017).

6.4.2.2. Acidez titulable

La acidez titulable (AT) fue determinada mediante una valoración ácido-base. En matraces Erlenmeyer de 250 mL, fueron colocados 10 mL de la muestra de base para helado, previamente homogeneizada con 20 mL de agua destilada, después, fueron añadidas 200 µL de fenolftaleína (0.10% p/v, en etanol 95%). Finalmente, la mezcla fue valorada con NaOH 0.10 mol L⁻¹ (Cao et al., 2017). La determinación fue realizada por triplicado. Los resultados fueron calculados de acuerdo con la Ecuación 6.1 y expresados en términos de g de ácido láctico por 100 g de muestra.

$$AT = \frac{C \times (V_1 - V_0) \times K \times F}{m} \times 100 \quad \text{Ec. 6.1}$$

Donde C es la concentración de la solución de NaOH (mol L^{-1}), V_1 es el volumen de la solución de NaOH utilizada para la determinación de la muestra (mL), V_0 es el volumen de la solución de NaOH utilizada para la determinación del blanco (mL), K es el factor de dilución, F es 0.09 (el factor apropiado para el ácido láctico) y m es la masa de la muestra diluida (g) (Cao et al., 2017).

6.4.2.3. pH

Para la determinación del pH, fueron dispersados 10 mL de muestra en 10 mL de agua desionizada. Se procedió a la lectura con un potenciómetro (AM-7, Nissei, Japan). Las determinaciones fueron realizadas por triplicado (Park et al., 2018).

6.4.2.4. Estabilidad de la emulsión

La estabilidad de la emulsión fue determinada mediante el monitoreo de la separación de fases. Para ello, 20 mL de la muestra de base para helado (premium y económica), fueron depositadas en una probeta durante 30 minutos para medir el volumen de las fases. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

6.4.3. Análisis cinético

Las Ecuaciones 6.2 a 6.4, fueron utilizadas para describir la degradación cinética de los parámetros de calidad en función del tiempo (Dermesonlouoglou, Giannakourou, & Taoukis, 2016; Jaimez-Ordaz et al., 2019; Park et al., 2018).

$$Q = Q_0 \pm kt \quad \text{Ec. 6.2}$$

$$\ln Q = \ln Q_0 \pm kt \quad \text{Ec. 6.3}$$

$$\frac{I}{Q} = \frac{I}{Q_0} \pm kt \quad \text{Ec. 6.4}$$

Donde, Q es el parámetro de calidad monitoreado, k es la constante de velocidad de reacción (día^{-1}) y t es el tiempo (días).

Por otro lado, la influencia de la temperatura sobre la k , fue modelada con la ecuación de Arrhenius, Ecuación 6.5.

$$k = k_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad \text{Ec. 6.5}$$

Donde, k es la constante de velocidad de reacción (día^{-1}), k_0 es el factor preexponencial (día^{-1}), E_a es la energía de activación (J mol^{-1}), R es la constante de los gases ideales ($8.3145 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) y T es la temperatura de reacción en la escala absoluta (K) (Jafari, Ganje, Dehnad, Ghanbari, & Hajitabar, 2017).

Adicionalmente, el factor Q_{10} (coeficiente de temperatura, adimensional) es otro parámetro que describe la relación entre la temperatura y la constante de velocidad de reacción, y fue calculado mediante la Ecuación 6.6 (Jafari et al., 2017; Jaimez-Ordaz et al., 2019).

$$\ln Q_{10} = \frac{E_a}{R} \left[\frac{10}{T(T+10)} \right] \quad \text{Ec. 6.6}$$

Los valores de la entalpía (ΔH^\ddagger) y de la entropía (ΔS^\ddagger) de activación fueron determinados mediante la regresión de $\ln k/T$ en función del inverso de temperatura (T , K) a través de la ecuación derivada de la teoría del complejo activado, Ecuación 6.7 (Jaimez-Ordaz et al., 2019).

$$\ln \frac{k}{T} = -\frac{\Delta H^\ddagger}{R} \frac{1}{T} + \ln \frac{k_B}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \quad \text{Ec. 6.6}$$

Donde, k_B es la constante de Boltzmann ($1.380658 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$), la relación entre R y el número de Avogadro, $6.022 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$) y h es la constante de Planck ($6.6260755 \times 10^{-34} \text{ Js}$). A partir de la pendiente y de la intersección en el eje, los valores de ΔH^\ddagger y de ΔS^\ddagger fueron calculados. Finalmente, para una reacción a una temperatura dada, la energía libre de activación (ΔG^\ddagger) se puede escribir en términos de ΔH^\ddagger y ΔS^\ddagger mediante la Ecuación 6.7 (Hashemi et al., 2016).

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad \text{Ec. 6.7}$$

6.5. Análisis estadístico

Todas las pruebas estadísticas fueron realizadas mediante el uso del software estadístico R. De hecho, los comandos y paquetes utilizados se muestran detalladamente en el anexo “A.1. Paquetes y comandos utilizados para el análisis estadístico de los datos con R”, del presente documento.

En primer lugar, fue realizado un análisis de varianza (ANOVA), con la finalidad de predecir los efectos ($p < 0.05$); de la formulación, de la temperatura y del tiempo de almacenamiento, sobre la evolución de los atributos de calidad (actividad acuosa, pH y acidez titulable), de las bases para helado estudiadas (económica y premium), a las temperaturas de almacenamiento (congelación y refrigeración). Posteriormente, como análisis *post hoc*, fue realizada la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Finalmente, la estimación de los parámetros de los modelos se realizó minimizando la suma de cuadrados de residuos, mediante Microsoft Excel 2007. Mientras que la adaptación de los parámetros de calidad a un modelo cinético, fue evaluado por medio del coeficiente de determinación (R^2).

7. Resultados y discusión

7.1. Análisis proximal

En la Tabla 7.1 pueden ser observados los resultados obtenidos del análisis proximal.

Tabla 7.1. Composición proximal de las bases para helado, económica y premium.

Componente	Contenido en Muestra premium (g 100 g ⁻¹)	Contenido en Muestra económica (g 100 g ⁻¹)
Humedad	61.21±0.08	66.88±0.09
Cenizas	1.16±0.09	0.93±0.1
Extracto etéreo	5.3±0.02	4.1±0.03
Proteína	6.509 ± 0.379	3.049 ± 0.047
Carbohidratos	18.587	14.943

7.2. Análisis microbiológico

En la Tabla 7.2, pueden ser observados los resultados obtenidos del análisis microbiológico.

La contaminación de los alimentos es una consecuencia directa de las deficiencias sanitarias durante su proceso de elaboración, manipulación, transporte, almacenamiento y las condiciones en que son suministrados al consumidor. Los microorganismos provenientes de diferentes fuentes de contaminación, son transferidos a la superficie de los alimentos donde encuentran los nutrientes necesarios para proliferar. Sin embargo, su velocidad de crecimiento se ve influenciada también por nuevas condiciones ambientales en su entorno (Blanco-Ríos, Casadiego-Ardila, & Pacheco, 2011).

Entre los principales microorganismos indicadores presentes en los helados se encuentran bacterias mesófilas, coliformes totales, mohos y levaduras; entre otros. Los cuales funcionan de manera aceptable como indicadores del nivel de higiene en el equipo, de las condiciones

generales de higiene en la línea de fabricación y en la calidad de los ingredientes utilizados (Fernández-Escartín, 2008). Enseguida se detalla cada uno de los microorganismos que más destacan en los helados.

Para identificar los límites permisibles de Bacterias Mesófilas Aerobias, Coliformes Totales, Hongos y Levaduras se tomó como referencia la NOM-036-SSA1-1993 para bases lácteas, donde establece que los límites máximos son de (100000 UFC/mL, 50 UFC/mL y 50 UFC/mL respectivamente), por lo tanto, los recuentos obtenidos no rebasan los límites máximos, de forma que estos se utilizan como indicadores de buenas prácticas de higiene durante su elaboración, según (Ávila-Vega & Silva-Rubio, 2008) los mesófilos son indicadores de la calidad de conservación de los alimentos, su presencia confirma las condiciones adversas en relación al tiempo y la temperatura durante la producción y conservación de los alimentos. Sin embargo, su presencia indica además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma en como fueron manipulados durante su elaboración. Los Coliformes totales por otra parte nos dice (Doyle & Beuchat, 2007) que pueden proliferar en gran cantidad de alimentos, en agua y productos lácteos, pueden ser fácilmente destruidos por el calor utilizado en las diversas etapas de elaboración. En productos lácteos – y otros - no indica contaminación fecal, sino que refleja la higiene general de la planta industrial (Jay, 2002), basándose en estas referencias se puede deducir que la planta cumple con buena higiene en la elaboración de las bases para helado tanto como la económica y la premium. Al consultar la bibliografía de Castro-Gamero (2014) se argumenta que es difícil controlar el desarrollo de las levaduras en los helados debido a la presencia de esporas que las hace más resistentes, además de la presencia de azúcares, y aire en los helados. Sin embargo, un control rápido de la temperatura podría disminuir estos valores, a diferencia de las muestras analizadas de base para helado económica y premium se puede observar que el crecimiento de mohos y levaduras está por debajo de lo permitido en la norma y se debe a que se ha mantenido las condiciones de temperatura controladas para evitar el crecimiento de estos y que se ha tenido cuidado en la manipulación de las muestras para no contaminarlas.

Tabla 7.2. Resultados del análisis microbiológico inicial de las bases para helado premium y económica, reportadas en UFC / mL de muestra.

	Muestra premium (UFC mL ⁻¹ de muestra)	Muestra económica (UFC mL ⁻¹ de muestra)
Hongos y levaduras	10	<10
Bacterias mesófilas aerobias	1.4x10 ⁴	7.4x10 ⁴
Coliformes totales	<10	<10

7.3. Evaluación de los atributos de calidad

7.3.1. Actividad acuosa

En la Figura 7.1, se muestra la evolución de la aw en función del tiempo, de las bases para helado almacenadas a las diferentes temperaturas de ensayo. Los valores de aw mostraron un descenso.

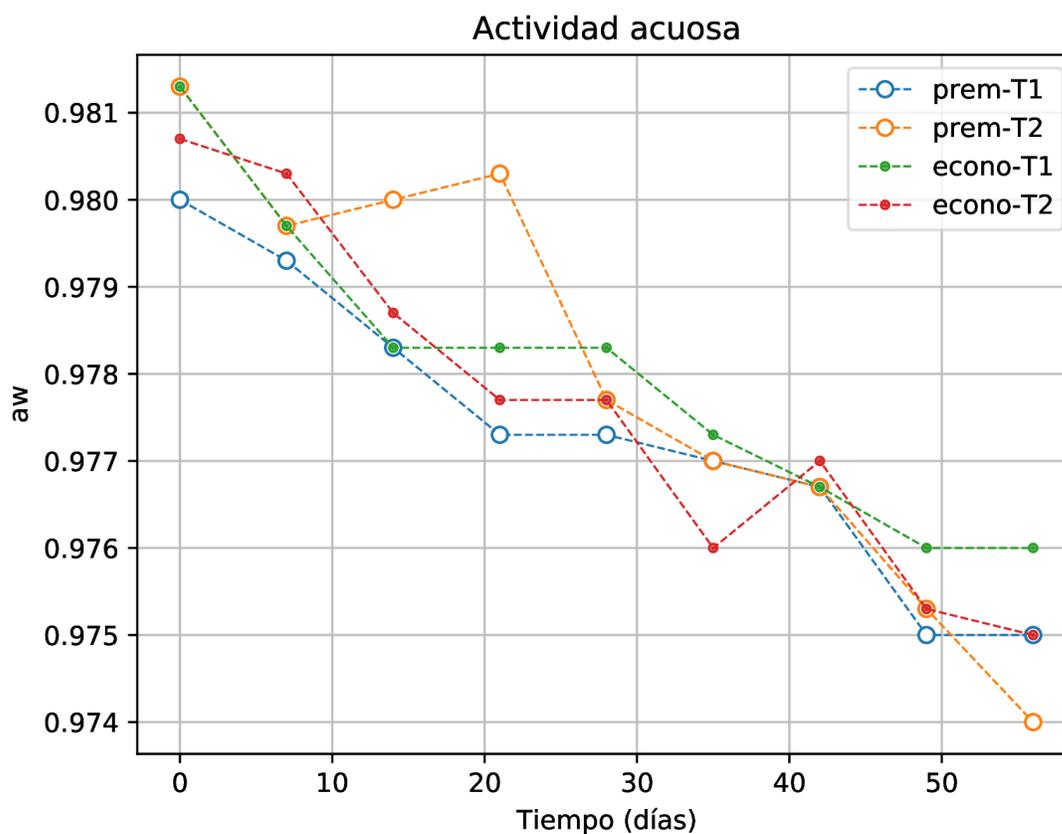


Figura 7.1. Evolución de la actividad acuosa en bases para helado durante el tiempo de almacenamiento.

En la Tabla A2.1, se presentan los resultados obtenidos del análisis de varianza (ANOVA) de la evolución de la actividad acuosa (a_w) en función del tiempo de almacenamiento, en las bases para helado premium y económica.

De acuerdo con la información obtenida, no hubo diferencias significativas de los valores de a_w entre las formulaciones de bases para helado (económica y premium), almacenadas a temperaturas de congelación y de refrigeración (FT, Formulación~Temperatura), por lo que la evolución de a_w no fue influenciada por la formulación de la base para helado ni por la temperatura de almacenamiento ($p > 0.05$). De hecho, esto puede ser observado en la Figura 7.2.

Por otro lado, el tiempo de almacenamiento si influyó de manera significativa sobre los cambios en los valores de a_w ($p < 0.05$). Estos cambios pueden ser observados en la Figura 7.2.

Finalmente, no hubo interacción entre la formulación, la temperatura y el tiempo de almacenamiento (FT~Tiempo), que influyera sobre los cambios en los valores de a_w de las bases para helado económica y premium ($p > 0.05$).

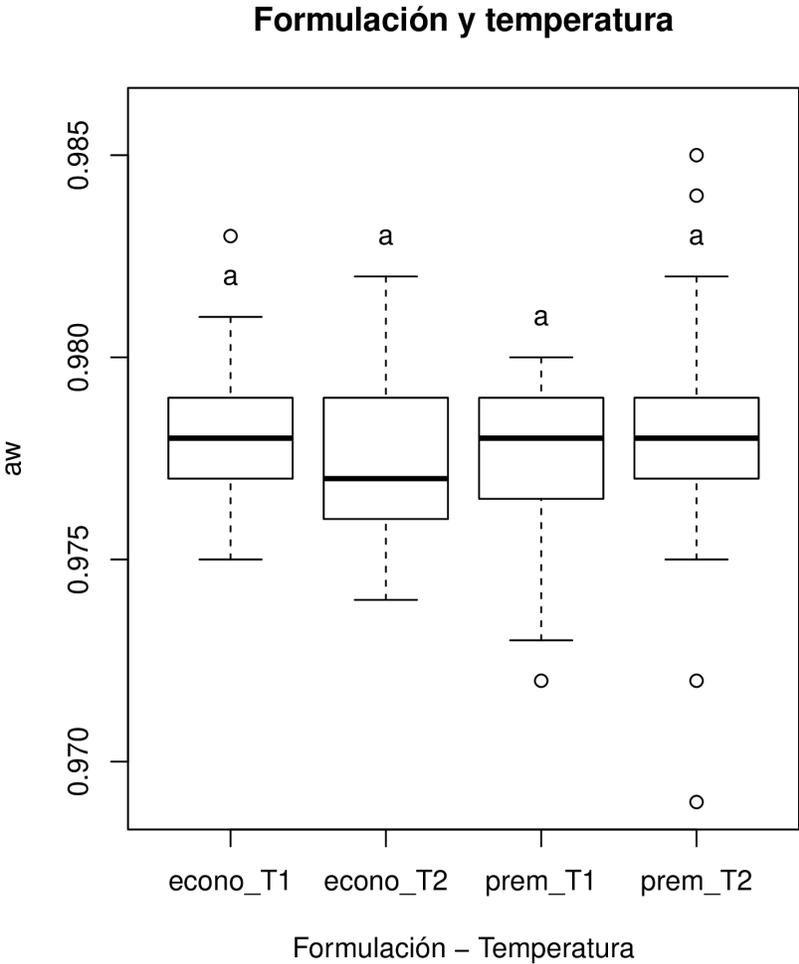


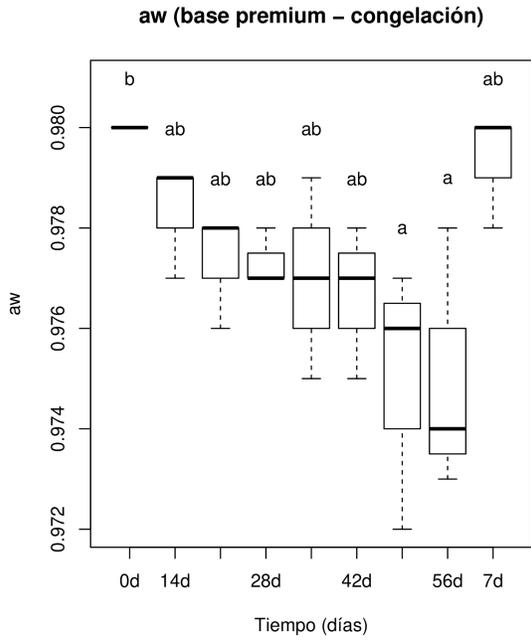
Figura 7.2. Valores de a_w de las bases para helado (económica y premium), obtenidas en las diferentes temperaturas de almacenamiento (congelación y refrigeración).

En relación con lo anterior, dado que fueron detectadas diferencias significativas en los valores de a_w , en función del tiempo de almacenamiento ($p < 0.05$), fue necesario realizar la prueba de

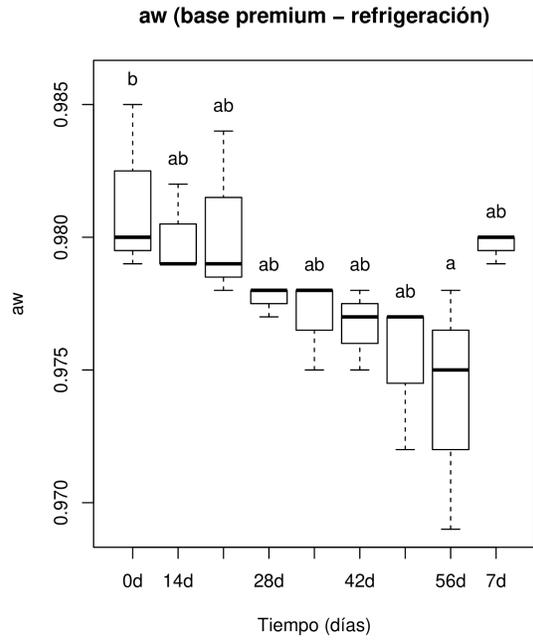
Tukey para determinar específicamente qué valores de aw fueron diferentes. Por lo tanto, en la Figura 7.3, se muestran las gráficas de caja y bigotes de la evolución de los valores de aw de las bases para helado (premium y económica), durante el tiempo de almacenamiento, a las temperaturas de almacenamiento (congelación y refrigeración).

La congelación provoca un gran aumento de la presión osmótica debido a la concentración de solutos y desencadena el flujo de agua desde el interior hacia el exterior del medio, lo que se denomina deshidratación osmótica inducida por congelación. En bacterias este proceso continúa hasta que la solución intracelular ha alcanzado un estado vítreo evitando la congelación intracelular, la célula tiene una mayor probabilidad de supervivencia (Miyawaki, 2018).

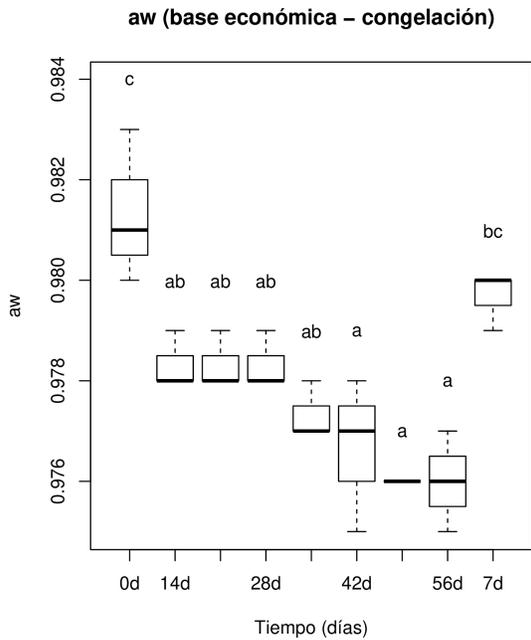
La migración de la humedad es el principal cambio físico que se produce en los alimentos congelados y tiene efectos importantes sobre las propiedades químicas y bioquímicas de los alimentos. Aparte de la apariencia, la pérdida de humedad también afectará la jugosidad y textura de los alimentos (Pham & F., 1997). La actividad de agua está relacionada con la humedad, de tal modo en que también este término es utilizado para la definición del parámetro de actividad de agua, si bien no son lo mismo, están relacionadas, por lo que, un cambio en la humedad representa o afecta de igual modo una variación del parámetro de actividad acuosa.



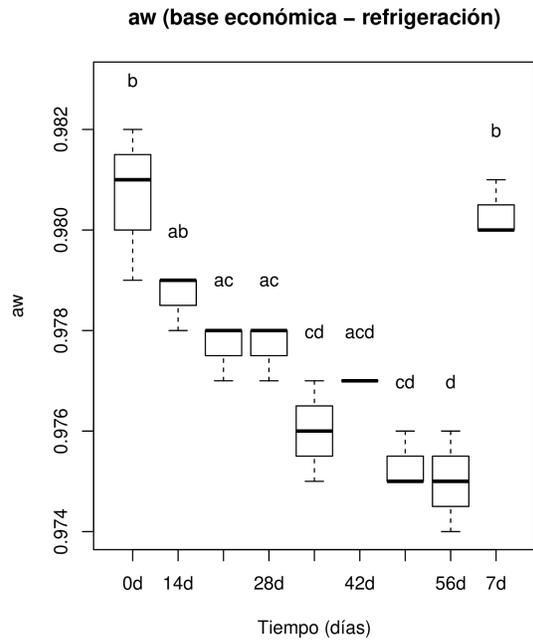
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 7.3. Valores de a_w de las bases para helado, obtenidas en diferentes tiempos de almacenamiento.

7.3.3. Acidez titulable total

En la Figura 7.4, se muestra la evolución de la AT en función del tiempo, de las bases para helado almacenadas a las diferentes temperaturas de ensayo.

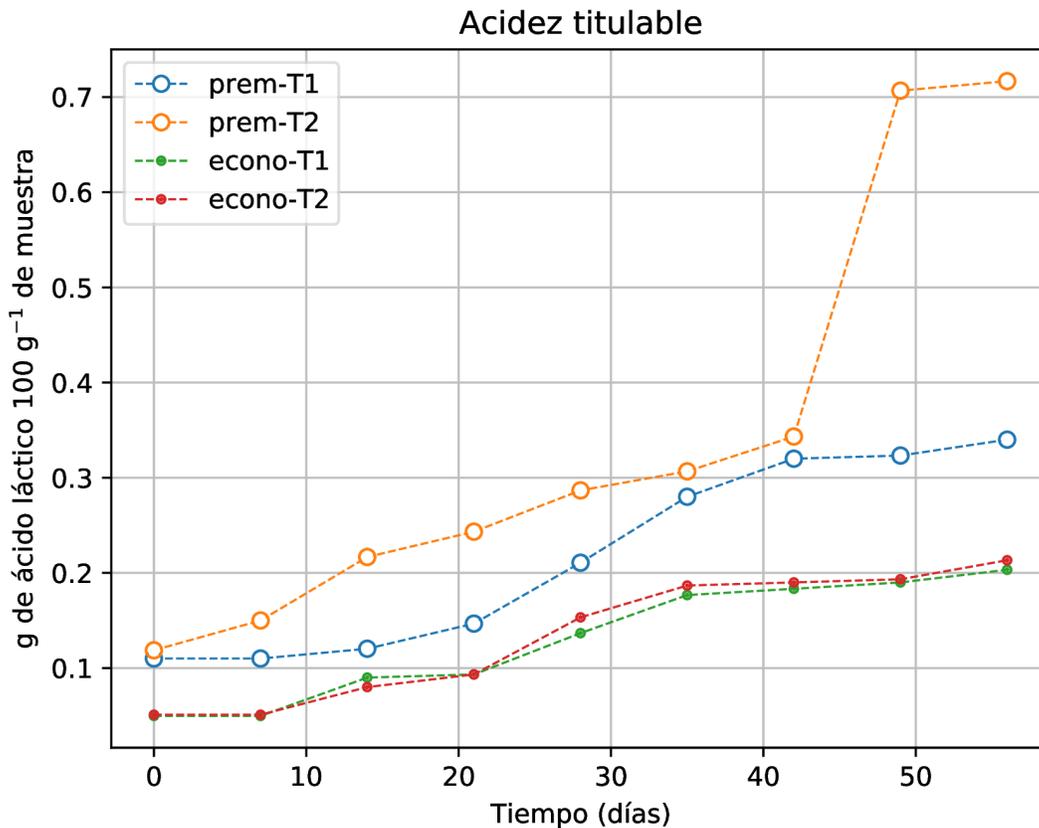


Figura 7.4. Evolución de la acidez titulable en bases para helado durante el tiempo de almacenamiento.

En el Tabla A2.2, se presentan los resultados obtenidos del análisis de varianza (ANOVA) de la evolución de la acidez titulable total (ATT) en función del tiempo de almacenamiento, en las bases para helado premium y económica.

De acuerdo con la información obtenida, los valores de la acidez titulable total (ATT) fueron diferentes entre las formulaciones y entre las temperaturas de almacenamiento de las bases para helado (FT, Formulación~Temperatura). De hecho, esto puede ser observado en la Figura 7.5. En donde los valores de AT de las bases premium son diferentes, en función de la temperatura

de almacenamiento. Mientras que, los valores de AT en las bases económicas son iguales en ambas temperaturas de almacenamiento, pero son diferentes de las bases para helado premium ($p > 0.05$). Un comportamiento similar fue observado para los valores de pH.

Por otro lado, el tiempo de almacenamiento influyó de manera significativa sobre los cambios en los valores de AT. De hecho, existen diferencias significativas entre los valores de AT en función del tiempo de almacenamiento, estos cambios pueden ser observados en la Figura 7.6 ($p < 0.05$).

Finalmente, hubo interacción entre la formulación, la temperatura y el tiempo de almacenamiento (FT~Tiempo), lo cual influyó sobre los cambios en los valores de AT de las bases para helado económica y premium ($p > 0.05$).

Formulación y temperatura

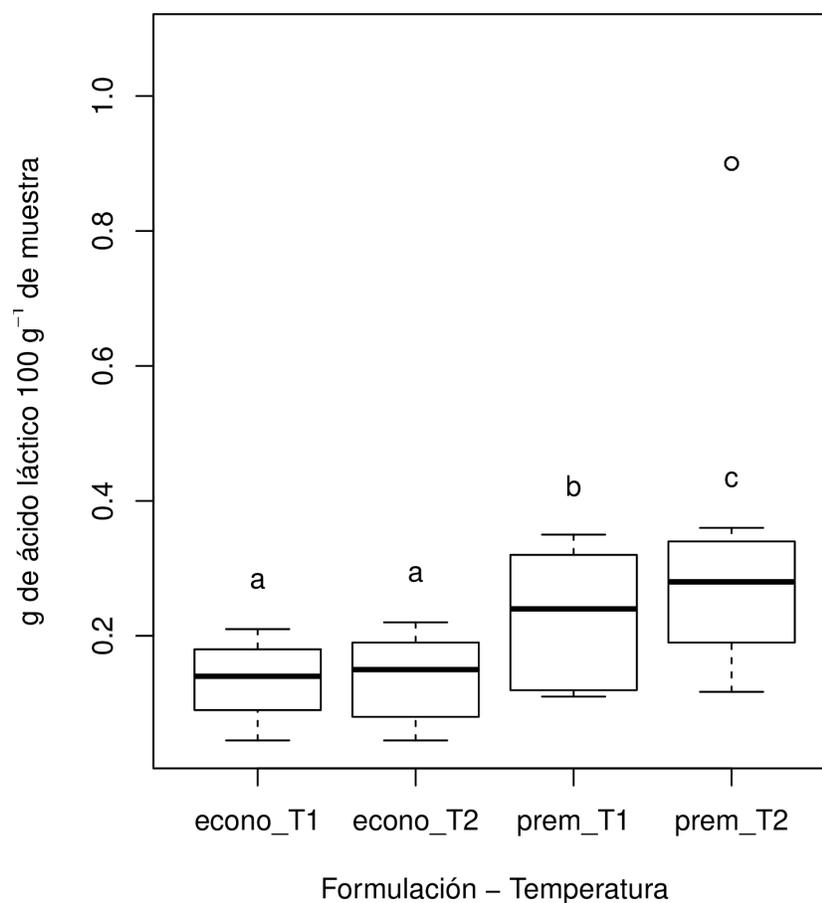


Figura 7.5. Valores de acidez titulable total de las bases para helado (económica y premium), obtenidas en las diferentes temperaturas de almacenamiento (congelación y refrigeración).

De acuerdo con lo anterior, debido a que fueron detectadas diferencias significativas en los valores de AT, en función del tiempo de almacenamiento ($p < 0.05$), fue necesario realizar la prueba de Tukey para determinar específicamente qué valores de AT fueron diferentes. Por lo tanto, en la Figura 7.8, se muestran las gráficas de caja y bigotes de la evolución de los valores de AT de las bases para helado (premium y económica), durante el tiempo de almacenamiento, a las temperaturas de almacenamiento (congelación y refrigeración).

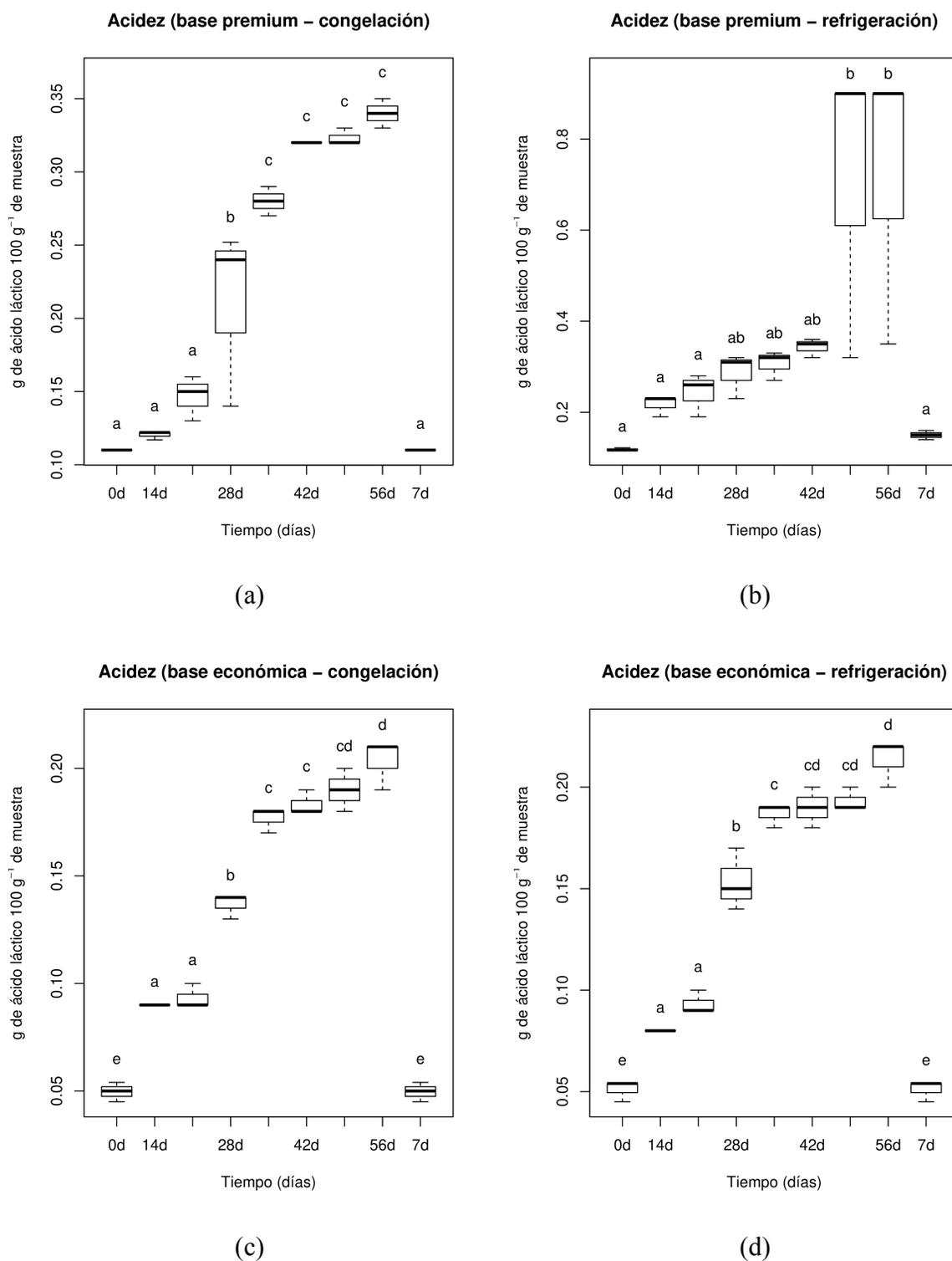


Figura 7.6. Valores de acidez titulable total, de las bases para helado, obtenidas en diferentes tiempos de almacenamiento.

Las mezclas con valores de AT que muestran un incremento de 0.50% o incluso un 0.60% de ácido tienen un mejor aspecto, sin embargo el sabor resulta más agrio, lo que supone un atributo indeseable (Masurovsky, 1923). El estudio realizado por (Masurovsky, 1923) muestra que el parámetro de acidez fue variable durante el estudio, sin embargo, el contraste del valor inicial al final (cerca de dos meses) muestra un aumento en el valor; de igual modo el cambio de temperatura afecta, puesto que el valor de acidez fue el más alto cuando la temperatura también era más alta; esto demuestra que el comportamiento obtenido para este trabajo coincide con otros.

El cambio de la acidez a través del tiempo se le puede atribuir a la presencia de bacterias fermentadoras de la lactosa, de acuerdo con (Badui-Dergal, 2006) alguno de los cambios producidos en los alimentos en función del agua es el crecimiento de bacterias, este cambio se logra apreciar a partir de un valor de actividad de agua de 0.8 y aumenta su velocidad de reacción conforme aumenta también la actividad de agua. En este trabajo los valores de actividad de agua en la muestra fueron mayores a 0.9 por lo que es factible la presencia de dichos microorganismos. El mismo autor menciona que aun a temperaturas de congelación existe agua para reaccionar, a una temperatura de -2°C el valor de agua no congelable para leche con 9.3% de sólidos fue de 25%, mientras que para una leche con 26% de sólidos a la misma temperatura fue de 80%, esto debido a que los alimentos por tener moléculas de bajo peso molecular como azúcares disueltas presentan zonas ricas en soluto cuya temperatura de congelación no convierte toda el agua en hielo, si no, que quedan secciones líquidas ricas en solutos; en el microambiente no congelado se modifica el pH, la concentración de reactivos, la misma actividad de agua, fuerza iónica, viscosidad, potencial redox, tensión superficial, etc. por lo tanto aún a bajas temperaturas pueden ocurrir reacciones químicas.

Si los alimentos se mantienen frescos a temperaturas menores a 4°C la posibilidad de que se desarrollen microorganismos será muy baja; aunque no significa que sean eliminados, se pueden activar cuando la temperatura aumenta, ya que el crecimiento es retardado, no detenido (Aguilar-Morales, 2012).

La acidez titulable en la leche se debe a varios factores: la caseína, ácidos orgánicos, minerales, reacciones debidas a los fosfatos, de los cuales la caseína representa al menos un 40% y el resto el 60% restante (Negri, 2005).

Los principales mecanismos antagónicos de las bacterias ácido-lácticas son su capacidad de reducir el pH del medio, la producción de biocinas y la producción de ácidos orgánicos. *Lactobacillus lactis* es una bacteria ácido-láctica, reduce el pH del medio y produce ácidos orgánicos. Cuando esta bacteria es incubada a 32°C y un pH de 4 se observa que el pH del medio descendió hasta un valor de 3.8 demostrando el efecto de reducción del medio producido por la cepa láctica (Jurado-Gámez & Jarrín-Jarrín, 2015). Otra bacteria fermentadora de lactosa es *Bifidobacterium*;

Aunque la congelación se aplicó a los productos lácteos para su conservación alrededor de la década de 1930 para uso después de la Segunda Guerra Mundial. Se identificaron algunos factores relacionados con la estabilidad en el almacenamiento de productos lácteos congelados. Estos factores son la alteración de la emulsión, la floculación de proteínas, problemas bacteriológicos y mal sabor al descongelar productos. (Tavman & Yilmaz, 2017). En el mismo trabajo se demostró que no hubo diferencia significativa entre las muestras de leche fresca y congelada, incluyendo propiedades como pH, acidez, índice de peróxido, sedimento proteico, viscosidad aparente o recuentos de coliformes.

7.3.2. pH

Finalmente, en la Figura 7.7, se muestra la evolución del pH en función del tiempo, de las bases para helado almacenadas a las diferentes temperaturas de ensayo. Los valores de pH mostraron un descenso.

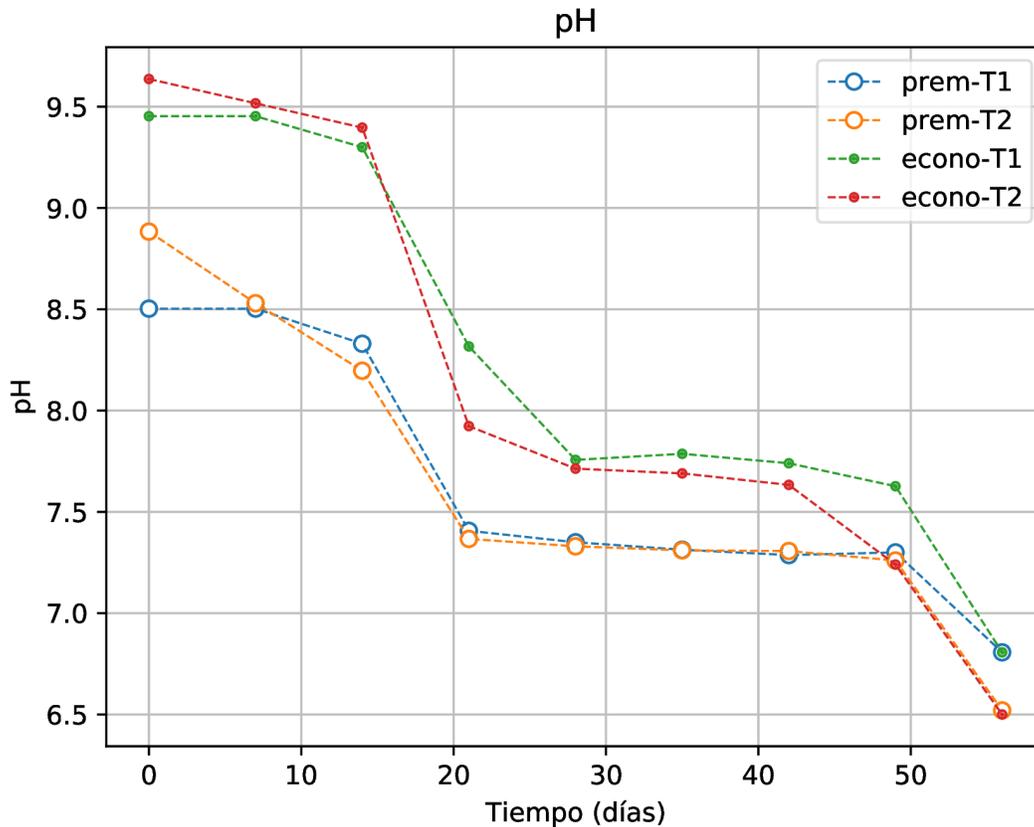


Figura 7.7. Evolución del pH en función en bases para helado durante el tiempo de almacenamiento.

En la Tabla A2.3, se presentan los resultados obtenidos del análisis de varianza (ANOVA) de la evolución del pH en función del tiempo de almacenamiento, en las bases para helado premium y económica.

De acuerdo con la información obtenida, los valores de pH fueron diferentes entre las formulaciones y entre las temperaturas de almacenamiento de las bases para helado (FT, Formulación~Temperatura). De hecho, esto puede ser observado en la Figura 7.8. En donde los valores de pH de las bases económicas son diferentes, en función de la temperatura de almacenamiento. Mientras que, los valores de pH en las bases premium son iguales en ambas temperaturas de almacenamiento, pero son diferentes de las bases económicas ($p > 0.05$).

Por otro lado, el tiempo de almacenamiento influyó de manera significativa sobre los cambios en los valores de pH. De hecho, existen diferencias significativas entre los valores de pH en función del tiempo de almacenamiento, estos cambios pueden ser observados en la Figura 7.9 ($p < 0.05$).

Finalmente, hubo interacción entre la formulación, la temperatura y el tiempo de almacenamiento (FT~Tiempo), lo cual influyó sobre los cambios en los valores de pH de las bases para helado económica y premium ($p > 0.05$).

Formulación y temperatura

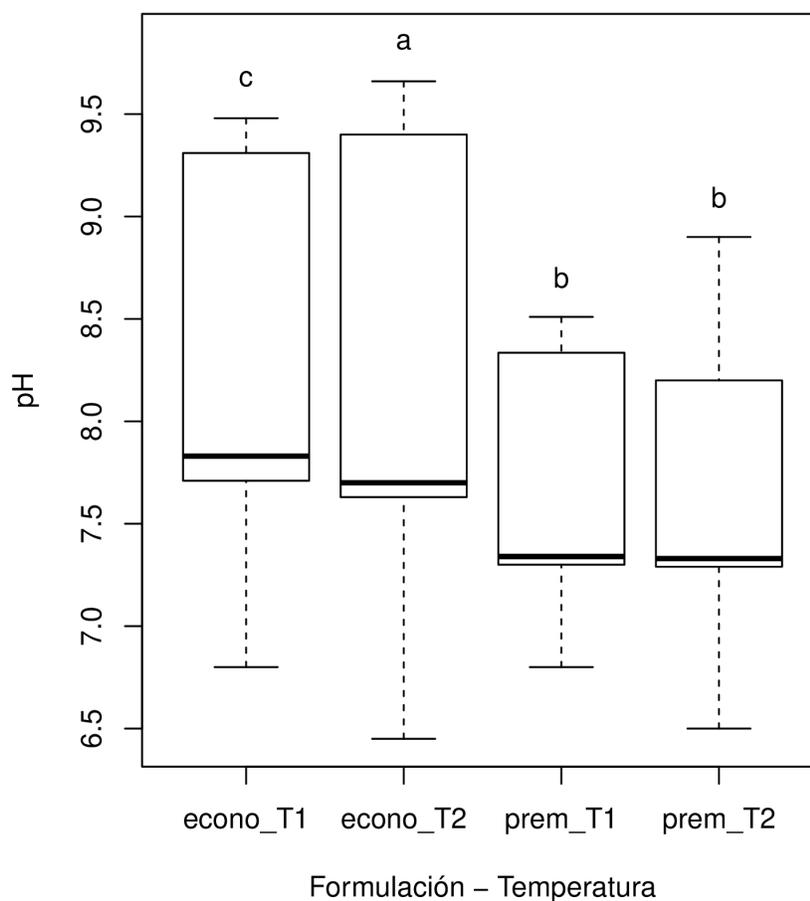
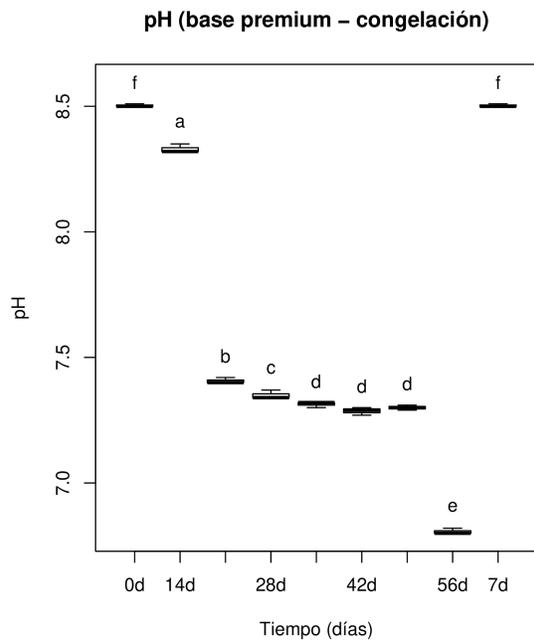
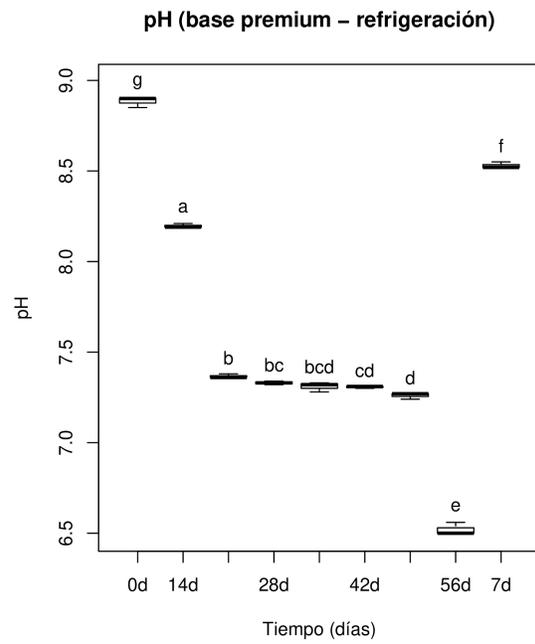


Figura 7.8. Valores de pH de las bases para helado (económica y premium), obtenidas en las diferentes temperaturas de almacenamiento (congelación y refrigeración).

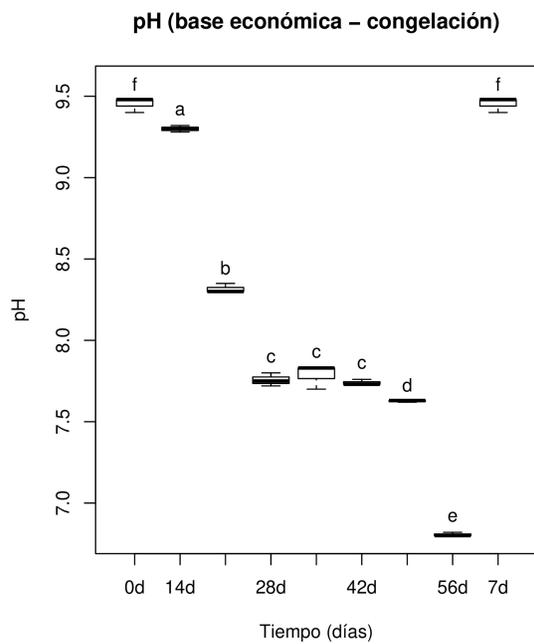
De acuerdo con lo anterior, debido a que fueron detectadas diferencias significativas en los valores de pH, en función del tiempo de almacenamiento ($p < 0.05$), fue necesario realizar la prueba de Tukey para determinar específicamente qué valores de pH fueron diferentes. Por lo tanto, en la Figura 7.9, se muestran las gráficas de caja y bigotes de la evolución de los valores de pH de las bases para helado (premium y económica), durante el tiempo de almacenamiento, a las temperaturas de almacenamiento (congelación y refrigeración).



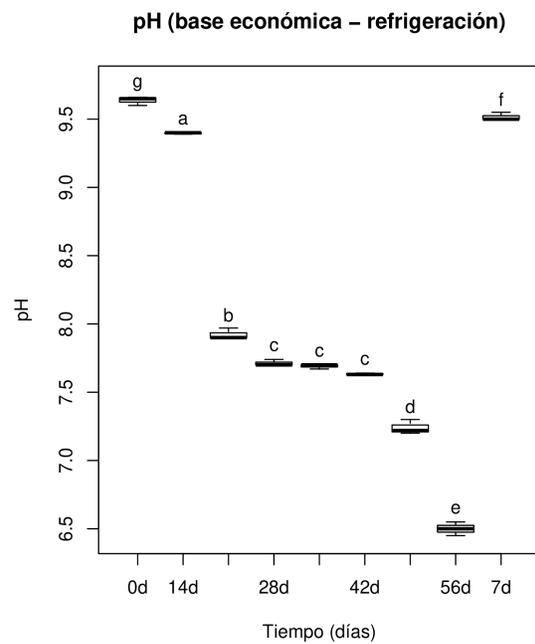
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 7.9. Valores de pH, de las bases para helado, obtenidas en diferentes tiempos de almacenamiento.

El aumento de acidez y descenso de pH puede ser causado por la producción de ácido láctico por bacterias fermentación de la lactosa en productos lácteos (Bajad, Kalyankar, Dehmukh, Bachanti, & Bajad, 2016). En el trabajo realizado por (Masurovsky, 1923) se muestra que a partir del día 4 hay un cambio en el valor de pH, el cual nuevamente cambia al día 5. Algunas reacciones químicas se aceleran en estado congelado. Este mecanismo se explica por el efecto de concentración con la congelación. (Miyawaki, 2018). El pH óptimo de crecimiento de bacterias ácido lácticas es de 6.5-7.5, que es justo el rango en el que se encuentra el producto analizado.

Los tipos de solutos y sus concentraciones en la fase de agua no congelada tienen una gran influencia en el pH, la capacidad buffer, la entrada y salida de sal de las macromoléculas y la solubilidad de oxígeno (Powrie, 1984). Los cambios en el pH de la leche, carne y alimentos frescos ocurren como resultado de la formación de hielo durante la congelación. La leche, la cual contiene cantidades relativamente altas de fosfatos de sodio y calcio, disminuye en pH durante las dos primeras semanas de almacenamiento congelado a -10°C debido a la precipitación de estas sales alcalinas.

7.4. Vida útil

7.4.1. Análisis cinético

En las Tablas 7.3 y 7.4 se muestran los parámetros cinéticos obtenidos del modelado con las reacciones de orden cero, primero y segundo orden, de la evolución de los atributos de calidad (Q) de las bases para helado. En ambas tablas, se muestran los valores de la intersección en el eje de los atributos de calidad (Q_0 , $\ln Q_0$ y $1/Q_0$), de la constante de velocidad de reacción (k) y de los coeficientes de determinación de los modelos utilizados (R^2), para las bases premium y económicas, respectivamente.

El modelado de los atributos de calidad de las base para helado premium con una cinética de reacción de orden cero (Tabla 7.4), mostró que los cambios del pH en función del tiempo sucedieron con mayor velocidad que los cambios en la a_w y en la acidez titulable, lo anterior de

acuerdo con los valores de las constantes de velocidad de reacción en congelación ($k = -0.0299 \pm 0.0003$ días) y en refrigeración ($k = -0.0360 \pm 0.0009$ días). La misma tendencia fue observada con los atributos de calidad de las bases para helado económicas en congelación ($k = -0.0469 \pm 0.0007$ días) y en refrigeración ($k = -0.0551 \pm 0.0010$ días), de acuerdo con la Tabla 7.5. Esa fue la razón por la cual, el pH fue considerado como atributo de calidad crítico para estimar la vida de anaquel de ambas formulaciones de base para helado.

Por otro lado, los coeficientes de determinación obtenidos al modelar los cambios del pH en función del tiempo, con una cinética de primer orden, presentaron el mejor ajuste lineal. De hecho, este comportamiento fue observado en las bases para helado premium en congelación ($R^2 = 0.8435 \pm 0.0033$) y en refrigeración ($R^2 = 0.8599 \pm 0.0074$). La misma tendencia fue observada con los coeficientes de determinación de las bases para helado económicas almacenadas en refrigeración ($R^2 = 0.9020 \pm 0.0107$) y en congelación ($R^2 = 0.9070 \pm 0.0089$). Por lo tanto, se determinó que los cambios en el pH en función del tiempo se ajustan mejor a una cinética de reacción de primer orden.

Tabla 7.3. Parámetros cinéticos de la evolución de los atributos de calidad de las bases para helado premium, durante el tiempo de almacenamiento.

		orden 0			Orden 1			Orden 2		
T°C	Q	Q ₀	k (días)	R ²	ln Q ₀	k (días ⁻¹)	R ²	1/Q ₀	k (días ⁻¹)	R ²
0	aw	0.9798±0.0014	-0.0001±0.0001	0.6426±0.5116	-0.0204±0.0014	-0.0001±0.0001	0.6423±0.5115	1.0206±0.0015	0.0001±0.0001	0.6421±0.5114
	pH	8.4829±0.0122	-0.0299±0.0003	0.8376±0.0032	2.1396±0.0015	-0.0039±0.0000	0.8435±0.0033	0.1175±0.0002	0.0005±0.0000	0.8484±0.0034
	AT	0.0784±0.0093	0.0050±0.0001	0.9075±0.00358	-2.3199±0.00520	0.0247±0.0003	0.9030±0.00175	9.4386±0.3020	-0.1339±0.0010	0.8917±0.00115
4	aw	0.9815±0.0018	-0.0001±0.0001	0.7114±0.2940	-0.0187±0.0018	-0.0001±0.0001	0.7116±0.2937	1.0189±0.0019	0.0001±0.0001	0.7118±0.2933
	pH	8.6404±0.0246	-0.0360±0.0009	0.8562±0.0071	2.1590±0.0031	-0.0047±0.0001	0.8599±0.0074	0.1150±0.0004	0.0006±0.0000	0.8594±0.0076
	AT	0.0513±0.00610	0.0104±0.00054	0.8365±0.1212	-2.0880±0.00653	0.0294±0.00093	0.9280±0.00230	7.2094±0.1149	-0.1097±0.00170	0.8846±0.00130

Q: atributo de calidad, AT: acidez titulable.

Tabla 7.4. Parámetros cinéticos de la evolución de los atributos de calidad de las bases para helado económicas, durante el tiempo de almacenamiento.

		orden 0			Orden 1			Orden 2		
T°C	Q	Q ₀	k (días)	R ²	ln Q ₀	k (días ⁻¹)	R ²	1/Q ₀	k (días ⁻¹)	R ²
0	aw	0.9804±0.0008	-0.0001±0.0000	0.8185±0.0869	-0.0197±0.0008	-0.0001±0.0000	0.8187±0.0870	1.0199±0.0009	0.0001±0.0000	0.8188±0.0871
	pH	9.5633±0.0399	-0.0469±0.0007	0.9000±0.0115	2.2636±0.0045	-0.0057±0.0001	0.9020±0.0107	0.1032±0.0005	0.0007±0.0000	0.8992±0.0095
	AT	0.0433±0.0067	0.0031±0.0003	0.9449±0.0203	-2.9456±0.0846	0.0279±0.0024	0.9048±0.0159	18.2824±1.4338	-0.2918±0.0353	0.8171±0.0199
4	aw	0.9804±0.0009	-0.0001±0.0000	0.8502±0.0735	-0.0198±0.0009	-0.0001±0.0000	0.8502±0.0734	1.0200±0.0009	0.0001±0.0000	0.8503±0.0734
	pH	9.6813±0.0263	-0.0551±0.0010	0.9005±0.0081	2.2778±0.0031	-0.0068±0.0001	0.9070±0.0089	0.1014±0.0004	0.0008±0.0000	0.9068±0.0099
	AT	0.0420±0.0063	0.0033±0.0003	0.9259±0.0284	-2.9516±0.0873	0.0290±0.0026	0.9014±0.0242	18.2324±1.5754	-0.2947±0.0401	0.8384±0.0207

Q: atributo de calidad, AT: acidez titulable.

7.4.2. Estimación de vida útil

De acuerdo con los resultados reportados en “7.4.1. Análisis cinético”, los valores del pH fueron seleccionados para predecir la vida útil de las bases para helado (económicas y premium). Para ello, fue necesario contar con un valor crítico de pH.

En ese sentido, en una investigación, fue evaluada la influencia de diferentes polioles (xilitol, eritritol, maltitol e isomalt) sobre las propiedades físicas y sensoriales de un helado, así como sobre la supervivencia de *Bifidobacterium* BB-12 durante la congelación durante 28 días de almacenamiento en congelación. Fue necesario mantener un pH en el intervalo de 5.74 - 6.00 para asegurar las condiciones óptimas del producto (Kalicka, Znamirowska, Pawlos, Buniowska, & Szajnar, 2019). Mientras que en otra investigación acerca del desarrollo de helados utilizando aceites de diferentes fuentes vegetales, el valor del pH osciló entre 6.61 - 6.64 (Güven, Kalender, & Taşpınar, 2018). Por lo tanto, se decidió utilizar un pH de 6.50 como valor crítico para estimar la vida de anaquel de las bases para helado.

A continuación, fue calculada la vida útil utilizando las intersecciones en el eje ($\ln Q_0$) y las constantes de velocidad (k , días⁻¹) obtenidas para las bases premium y económicas, y reportadas en las Tablas 7.4 y 7.5 respectivamente. No obstante, las ecuaciones cinéticas de primer orden utilizadas para estimar la vida útil de las bases para helado (premium y económicas), almacenadas en congelación (0°C) y refrigeración (4°C), se expresan en la Tabla 7.5 para una mayor comodidad al momento de leer el texto. Además, se presentan los valores de vida útil (θ).

Tabla 7.5. Ecuaciones cinéticas de primer orden para estimar la vida útil de las bases para helado.

Bases para helado	T (°C)	Ecuación	R ²	θ (días)
premium	0	$\ln pH = 2.1396 - 0.0039 \theta$	0.8435±0.0033	69.0762±0.3300
	4	$\ln pH = 2.1590 - 0.0047 \theta$	0.8599±0.0074	61.6009±0.9209
económicas	0	$\ln pH = 2.2636 - 0.0057 \theta$	0.9020±0.0107	68.8242±0.1550
	4	$\ln pH = 2.2778 - 0.0068 \theta$	0.9070±0.0089	60.0291±0.7323

Con los resultados obtenidos, fueron determinadas las ecuaciones logísticas que se encuentran en la Tabla 7.6, las cuales permitirán estimar la vida útil (θ) de las bases para helado en función de la temperatura de almacenamiento.

Tabla 7.6. Ecuaciones logísticas para estimar la vida útil de las bases para helado en función de la temperatura.

Base para helado	Ecuación logística	Ea (kJ mol ⁻¹)	A (día ⁻¹)	ΔH^\ddagger (kJ mol ⁻¹)	ΔS^\ddagger (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	Q ₁₀
premium	$\theta = 10^{1.8393 - 0.0124T}$	29.053	1393.813	26.766	-192.377	1.561
económica	$\theta = 10^{1.8377 - 0.0148T}$	27.133	878.661	24.845	-196.213	1.516

8. Conclusiones

Fue determinada la composición proximal de las bases para helado premium y económica encontrándose dentro de los parámetros estándar. La calidad microbiológica de las bases para helado fue adecuada ya que los recuentos fueron inferiores a los límites establecidos por la NOM correspondiente. Fue estimada la vida de anaquel de ambos tipos de base para helado encontrándose como parámetro crítico el pH y con diferencias entre el tipo de base, y el tiempo y la temperatura de almacenamiento. Sería deseable que los fabricantes incluyeran en las etiquetas de sus productos las temperaturas de manejo recomendadas durante la cadena de distribución y en el punto de ventas con el fin de preservar este tipo de productos en las condiciones óptimas por mayor tiempo.

9. Perspectivas

Previamente se ha reportado que la vida de anaquel en los helados depende totalmente de la temperatura, y las limitaciones de la vida útil están relacionadas principalmente con la recristalización del hielo u otros reordenamientos estructurales que conducen a defectos estructurales o de textura. Los microorganismos no crecen a temperaturas de congelador, las reacciones enzimáticas ocurren muy lentamente y los cambios de sabor son raros; por lo tanto, en el caso de los helados, el "final" de la vida útil suele ser una consideración textural. En el caso de los helados, la vida útil puede variar desde muchos meses a -30°C hasta algunos días a -14°C antes de que los cambios comiencen a notarse (H. Douglas Goff & Hartel, 2013a). Por lo que sería recomendable que en investigaciones futuras en las que se determine la vida de anaquel de bases para helado, fueran monitoreados parámetros de textura para detectar la formación de cristales. Y lo anterior sería bueno complementarlo con análisis sensorial con un panel semi entrenado.

Anexos

A.1. Paquetes y comandos utilizados para el análisis estadístico de los datos con R

En la sección “6.5. Análisis estadísticos”, fue mencionado que las pruebas estadísticas aplicadas a los atributos de calidad (Q), monitoreados en las bases para helado estudiadas (económica y premium), fueron realizadas utilizando el software estadístico R. Los paquetes y los comandos utilizados se muestran en los Recuadros A.1 a A.3, en donde los comentarios han sido precedidos por el signo #.

Recuadro A.1. Contenido del archivo “anova-2vias.R”.

```
## =====  
# Análisis estadístico de los atributos de calidad (anova-factorial.R)  
# Autor: Elisa López Gómez  
# Muestra: bases para helado (económica y premium)  
# Atributos de calidad: actividad acuosa, pH y acidez titulable  
# Pachuca de Soto, Hgo., México. 2021  
## =====  
  
# Cargar las librerías a utilizar  
  
library(readxl)  
library(rapportools)  
  
# Importar la base de datos desde un archivo de Excel ®  
(base_de_datos.xlsx), el cual debe estar en la misma carpeta que el  
archivo de R (anova_factorial.R), de lo contrario, se debe especificar la  
ruta del archivo de excel en el argumento de read_excel()  
  
datos_Q <- read_excel("base_de_datos.xlsx")  
  
# Adjuntar los datos  
  
attach(datos_Q)  
  
# Mostrar los datos de manera compacta  
  
str(datos_Q)  
  
# Definir las variables y los factores  
  
class(formulacion)  
class(temperatura)  
class(tiempo)  
class(atributo_Q)
```

```

factor(formulación)
factor(temperatura)
factor(tiempo)

# Realizar el análisis de varianza de 2 vías

anova2vias = aov(atributo_Q~formulacion*temperatura*tiempo, data =
datos_atributo_Q)
summary(anova2vias)

```

Recuadro A.2. Contenido del documento “boxplot-anova2vias-tukey.R”.

```

## =====
# Boxplot + ANOVA de 2 vías + Tukey test (boxplot-anova2vias-tukey.R)
# Autor: Elisa López Gómez
# Muestra: bases para helado (económica y premium)
# Atributos de calidad: actividad acuosa, pH y acidez titulable
# Pachuca de Soto, Hgo., México. 2021
## =====

# Cargar las librerías:

library(readxl)
library(multcompView)

# Importar la base de datos:

datos_atributo_Q <- read_excel("base_de_datos.xlsx")

# Adjuntar los datos:

attach(datos_atributo_Q)

# Mostrar de forma compacta los datos

str(datos_atributo_Q)

# Creación del vector datos

datos <- data.frame(formulacion_temperatura, tiempo, atributo_de_calidad)

# Determinar el efecto del tiempo sobre el atributo de calidad

model = lm( datos$atributo_de_calidad ~
datos$formulacion_temperatura*tiempo )
ANOVA = aov(model)
summary(ANOVA)

# La prueba de Tukey estudia cada par de tiempo:

TUKEY <- TukeyHSD(x=ANOVA, 'datos$formulacion_temperatura',
conf.level=0.95)

```

```

# Representación gráfica de la prueba de Tukey:
plot(TUKEY , las=1)

# Agrupar los términos que no son diferentes entre sí
generate_label_df <- function(TUKEY, variable){
  # Extraer las etiquetas y los niveles del factor (el tiempo) de la
  prueba de Tukey post-hoc
  Tukey.levels <- TUKEY[[variable]][,4]
  Tukey.labels <- data.frame(multcompLetters(Tukey.levels) ['Letters'])

  # Poner las etiquetas en el mismo orden que en la boxplot
  Tukey.labels$formulacion_temperatura=rownames(Tukey.labels)
  Tukey.labels=Tukey.labels[order(Tukey.labels$formulacion_temperatura) ,
]
  return(Tukey.labels)
}

# Aplicar la función a mis datos
LABELS <- generate_label_df(TUKEY , "datos$formulacion_temperatura")

# Generar la boxplot
a <- boxplot(datos$atributo_de_calidad ~ datos$tiempo ,
ylim=c(min(datos$atributo_de_calidad) ,
1.001*max(datos$atributo_de_calidad)) , main="Título de la gráfica", xlab
= "Etiqueta del eje X", ylab = "Etiqueta del eje Y")

# Escribir la letra sobre cada caja a la distancia deseada
over <- 0.001*max( a$stats[nrow(a$stats),] )

# Agregar las letras a la boxplot
text( c(1:nlevels(datos$formulacion_temperatura)) ,
a$stats[nrow(a$stats),]+over , LABELS[,1] )

```

Recuadro A.3. Contenido del documento “boxplot-anova-tukey.R”.

```

## =====
# Boxplot + ANOVA + Tukey test (boxplot-anova-tukey.R)
# Autor: Elisa López Gómez
# Muestra: bases para helado (económica y premium)
# Atributos de calidad: actividad acuosa, pH y acidez titulable
# Pachuca de Soto, Hgo., México. 2021
## =====

# Cargar las librerías:

```

```

library(readxl)
library(multcompView)

# Importar la base de datos:
datos_atributo_Q <- read_excel("base_de_datos.xlsx")

# Adjuntar los datos:
attach(datos_atributo_Q)

# Mostrar de forma compacta los datos
str(datos_atributo_Q)

# Creación del vector datos
datos <- data.frame(tiempo, atributo_de_calidad)

# Determinar el efecto del tiempo sobre el atributo de calidad
model = lm( datos$atributo_de_calidad ~ datos$tiempo )
ANOVA = aov(model)

# La prueba de Tukey estudia cada par de tiempo:
TUKEY <- TukeyHSD(x=ANOVA, 'datos$tiempo', conf.level=0.95)

# Representación gráfica de la prueba de Tukey:
plot(TUKEY , las=1)

# Agrupar los términos que no son diferentes entre sí
generate_label_df <- function(TUKEY, variable){

  # Extraer las etiquetas y los niveles del factor (el tiempo) de la
  prueba de Tukey post-hoc
  Tukey.levels <- TUKEY[[variable]][,4]
  Tukey.labels <- data.frame(multcompLetters(Tukey.levels) ['Letters'])

  # Poner las etiquetas en el mismo orden que en la boxplot
  Tukey.labels$tiempo=rownames(Tukey.labels)
  Tukey.labels=Tukey.labels[order(Tukey.labels$tiempo) , ]
  return(Tukey.labels)
}

# Aplicar la función a mis datos
LABELS <- generate_label_df(TUKEY , "datos$tiempo")

# Generar la boxplot
a <- boxplot(datos$atributo_de_calidad ~ datos$tiempo ,
ylim=c(min(datos$atributo_de_calidad) ,

```

```
1.001*max(datos$atributo_de_calidad)) , main="Título de la gráfica", xlab
= "Etiqueta del eje X", ylab = "Etiqueta del eje Y")

# Escribir la letra sobre cada caja a la distancia deseada

over <- 0.001*max( a$stats[nrow(a$stats),] )

# Agregar las letras a la boxplot

text( c(1:nlevels(datos$tiempo)) , a$stats[nrow(a$stats),]+over ,
LABELS[,1] )
```

A.2. Tablas de ANOVA

Tabla A2.1. ANOVA del efecto del tiempo y de la temperatura de almacenamiento sobre los valores de la actividad acuosa de las bases para helado.

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor de F	Pr (>F)
FT (Formulación~Temperatura)	3	0.0000087	2.900×10^{-6}	1.076	0.365
Tiempo	8	0.0003596	4.495×10^{-5}	16.684	$1.05 \times 10^{-13}***$
FT~Tiempo	24	0.0000309	1.290×10^{-6}	0.478	0.978
Residuales	72	0.0001940	2.690×10^{-6}		

FT: formulación - temperatura de almacenamiento, Pr (>F): Valor p asociado con el estadístico F de una fuente determinada.

$p < 1$; $p < 0.1$; $*p < 0.05$; $**p < 0.01$; $***p < 0.001$. Los símbolos que preceden a las p , indican el nivel de significancia de α .

Tabla A2.2. ANOVA del efecto del tiempo y de la temperatura de almacenamiento sobre los valores de la acidez titulable total de las bases para helado.

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor de F	Pr (>F)
FT (Formulación~Temperatura)	3	0.8040	0.26802	42.878	5.24×10^{-16}
Tiempo	8	1.0893	0.13616	21.783	$< 2 \times 10^{-16}$
FT~Tiempo	24	0.5079	0.02116	3.386	3.35×10^{-5}
Residuales	72	0.4501	0.00625		

FT: formulación - temperatura de almacenamiento, Pr (>F): Valor p asociado con el estadístico F de una fuente determinada.

$p < 1$; $p < 0.1$; $*p < 0.05$; $**p < 0.01$; $***p < 0.001$. Los símbolos que preceden a las p , indican el nivel de significancia de α .

Tabla A2.3. ANOVA del efecto del tiempo y de la temperatura de almacenamiento sobre los valores del pH de las bases para helado.

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor de F	Pr (>F)
FT (Formulación~Temperatura)	3	8.48	2.825	3624.0	$<2 \times 10^{-16}$
Tiempo	8	69.76	8.720	11185.1	$<2 \times 10^{-16}$
FT~Tiempo	24	4.27	0.178	228.5	$<2 \times 10^{-16}$
Residuales	72	0.06	0.001		

FT: formulación - temperatura de almacenamiento, Pr (>F): Valor p asociado con el estadístico F de una fuente determinada.

$p < 1$; $p < 0.1$; $*p < 0.05$; $**p < 0.01$; $***p < 0.001$. Los símbolos que preceden a las p , indican el nivel de significancia de α .

Referencias

- Abrate Deco, F. (2017). *Evaluación de la estabilidad en helados de crema utilizando diferentes tipos de proteínas* (Universidad Católica de Córdoba). Universidad Católica de Córdoba, Córdoba. Retrieved from <http://pa.bibdigital.uccor.edu.ar/1453/1/AbrateDeco.FR11.pdf>
- Aguilar-Morales, J. (2012). *Métodos de conservación de alimentos*. Edo. de México.
- Ávila-Vega, V. A., & Silva-Rubio, M. F. (2008). *Evaluación de la calidad microbiológica de los helados elaborados en una empresa del municipio de Soacha y su impacto a nivel local* (Pontificia Universidad Javeriana). Pontificia Universidad Javeriana. Retrieved from <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8533/tesis139.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Badui-Dergal, S. (2006). *Química de los Alimentos* (Cuarta). Edo. de México: Pearson Educación.
- Bajad, D. N., Kalyankar, S. D., Dehmukh, S. D., Bachanti, P. R., & Bajad, G. S. (2016). Impact of physico-chemical properties of mix on the final quality of ice-cream. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 35(4). <https://doi.org/10.18805/ajdfr.v35i4.6627>
- Bejarano-Villamar, A., & Silva-Ochoa, A. (2010). *Estabilidad del helado de crema de leche* (Escuela Superior del Litoral). Escuela Superior del Litoral, Ecuador. Retrieved from <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/9096/1/Estabilidad%20del%20helado%20de%20crema%20de%20leche.pdf>
- Blanco-Ríos, F. A., Casadiego-Ardila, G., & Pacheco, P. A. (2011). Calidad Microbiológica de alimentos remitidos al laboratorio Departamental de Salud Pública de Santander durante el año 2009. *Revista de Salud Pública*, 13(6), 953–965. (alimentos).
- Cao, J., Yang, J., Hou, Q., Xu, H., Zheng, Y., Zhang, H., & Zhang, L. (2017). Assessment of bacterial profiles in aged, home-made Sichuan paocai brine with varying titratable acidity by PacBio SMRT sequencing technology. *Food Control*, 78, 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.006>

- Carrillo Inungaray, M. L., & Reyes Munguía, A. (2013). Vida útil de los alimentos. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 2(3), 2–23.
- Casp Vanaclocha, A., & Abril Requena, J. (2003). *Procesos de conservación de alimentos*. Madrid: A. Madrid Vicente : Mundi-Prensa.
- Castro-Gamero, A. (2014). Estudio de la calidad microbiológica de helados que se expenden en la ciudad de Tacna. *Ciencia & desarrollo*, 5.
- Chacón-Villalobos, A., Pineda-Castro, M. L., & Jiménez-Goebel, C. (2016). Características fisicoquímicas y sensoriales de helados de leche caprina y bovina con grasa vegetal. *Agronomía Mesoamericana*, 27(1), 19–36.
- Dermesonlouoglou, E. K., Giannakourou, M., & Taoukis, P. S. (2016). Kinetic study of the effect of the osmotic dehydration pre-treatment with alternative osmotic solutes to the shelf life of frozen strawberry. *Food and Bioproducts Processing*, 99, 212–221.
<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.05.006>
- Doyle, M., & Beuchat, L. (2007). *Food Microbiology* (3ra edición). Editorial ASM Press.
- Eras-López, J. D. (2013). *Determinación de parámetros técnicos para la elaboración de helados con frutas nativas del Cantón Loja*. Retrieved from <https://studylib.es/doc/6477576/tesis-helado---repositorio-universidad-nacional-de-loja>
- Fernández-Escartín, E. (2008). *Microbiología e inocuidad de los alimentos* (Universidad Autónoma de Querétaro). México.
- Flores, J. G. P., Ordaz, J. J., Morga, J. A., Olivares, L. G. G., Ovando, A. C., & López, E. C. (2017). Influence of Water Sorption Phenomena on the Shelf Life of Third Generation Snacks. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1), e12328. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12328>
- Frazier, W. C., & Westhoff, D. C. (1993). *Microbiología de los alimentos* (cuarta). España: Acribia, S.A.
- Goff, H. D., & Jordan, W. K. (1989). Action of Emulsifiers in Promoting Fat Destabilization During the Manufacture of Ice Cream. *Journal of Dairy Science*, 72(1), 18–29.

[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79075-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79075-5)

- Goff, H. Douglas. (1997). Colloidal aspects of ice cream—A review. *International Dairy Journal*, 7(6), 363–373. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(97\)00040-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(97)00040-X)
- Goff, H. Douglas, & Hartel, R. W. (2013a). Shelf Life. In H. Douglas Goff & R. W. Hartel (Eds.), *Ice Cream* (pp. 353–378). Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6096-1_12
- Goff, H. Douglas, & Hartel, R. W. (2013b). The Ice Cream Industry. In H. Douglas Goff & R. W. Hartel (Eds.), *Ice Cream* (pp. 1–17). Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6096-1_1
- Güven, M., Kalender, M., & Taşpınar, T. (2018). Effect of Using Different Kinds and Ratios of Vegetable Oils on Ice Cream Quality Characteristics. *Foods*, 7(7), 104. <https://doi.org/10.3390/foods7070104>
- Hashemi, S. M. B., Brewer, M. S., Safari, J., Nowroozi, M., Sherahi, M. H. A., Sadeghi, B., & Ghafoori, M. (2016). Antioxidant Activity, Reaction Mechanisms, and Kinetics of *Matricaria recutita* Extract in Commercial Blended Oil Oxidation. *International Journal of Food Properties*, 19(2), 257–271. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1020438>
- Hernandez-Galvez, M. A. (2014). *Desarrollo de cuatro formulaciones de helados a base de agua con bajo contenido de azúcar y enriquecidos con vitamina C*. (Universidad Rafael Landívar). Universidad Rafael Landívar. Retrieved from <http://biblio3.url.edu.gt/Tesario/2014/09/15/Hernandez-Maria.pdf>
- Innocente, N., Comparin, D., & Corradini, C. (2002). Proteose-peptone whey fraction as emulsifier in ice-cream preparation. *International Dairy Journal*, 12(1), 69–74. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00166-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00166-2)
- Jafari, S. M., Ganje, M., Dehnad, D., Ghanbari, V., & Hajitabar, J. (2017). Arrhenius equation modeling for the shelf life prediction of tomato paste containing a natural preservative. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(15), 5216–5222. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8404>

- Jaimez-Ordaz, J., Pérez-Flores, J. G., Castañeda-Ovando, A., González-Olivares, L. G., Añorve-Morga, J., & Contreras-López, E. (2019). Kinetic parameters of lipid oxidation in third generation (3G) snacks and its influence on shelf-life. *Food Science and Technology*, 39(suppl 1), 136–140. <https://doi.org/10.1590/fst.38917>
- Jay, J. M. (2002). *Microbiología moderna de los alimentos*. (4ta edición). Acribia, S.A.
- Jiménez Lara, M., Velázquez Lupercio, S., Zúñiga Hernández, S. R., Martínez Esquivias, F., & Méndez Robles, M. D. (2019). Cuantificación de microorganismos indicadores en helados que se expenden a granel en Tepatlán, Jalisco. *Avances de Investigación en Inocuidad de alimentos*, 2. Retrieved from <http://www.e-gnosis.udg.mx/index.php/trabajosinocuidad>
- Jurado-Gámez, H., & Jarrín-Jarrín, V. (2015). Cinética de crecimiento de *Lactobacillus lactis* y determinación del efecto probiótico en cepas patógenas. *Biosalud*, 14(2), 49–62. <https://doi.org/10.17151/biosa.2015.14.2.5>
- Kalicka, D., Znamirska, A., Pawlos, M., Buniowska, M., & Szajnar, K. (2019). Physical and sensory characteristics and probiotic survival in ice cream sweetened with various polyols. *International Journal of Dairy Technology*, 72(3), 456–465. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12605>
- LOS ANGELES REGIONAL FOOD BANK. (2018). *A SHELF LIFE GUIDE*. Los Angeles. Retrieved from https://www.cerritos.edu/basic-needs/_includes/docs/ShelfLifeGuide.pdf
- Madrid-Lalangui, D. F., Onofre-Mendoza, H. F., Prieto-Bolaños, D. H., & Coello-Aguirre, A. A. (2010). *Implementación de un punto de comercialización de productos agroalimentarios en la facultad de educación técnica de la universidad católica* (Universidad Católica de Santiago de Guayaquil). Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Ecuador. Retrieved from <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/988/1/T-UCSG-PRE-TEC-EADR-2.pdf>
- Madrid-Vicente, A., & Cenzano, I. (2003). *Helados: Elaboración, análisis y control de calidad*. España: Mundi Prensa Libros.
- Masurovsky, B. I. (1923). The Acidity Phase of the Ice Cream Mix. *Journal of Dairy Science*, 6(6),

- 591–607. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(23\)94123-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(23)94123-8)
- Miyawaki, O. (2018). Water and Freezing in Food. *Food Science and Technology Research*, 24(1), 1–21. <https://doi.org/10.3136/fstr.24.1>
- Negri, L. M. (2005). *Manual de Referencias técnicas para el logro de leche de calidad. 2º ed.* (2nd ed.). INTA. Retrieved from <http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/pH-y-acidez-en-leche2.pdf>
- Pacheco-Coronel, J. A. (2011). *Mejora de la calidad organo léptica de los helados con la aplicación de ingredientes funcionales*. Universidad de Cuenca, Cuenca.
- Park, J.-M., Koh, J.-H., & Kim, J.-M. (2018). Predicting Shelf-life of Ice Cream by Accelerated Conditions. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(6), 1216–1225. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.e55>
- Petrou, A. L., Roulia, M., & Tampouris, K. (2002). The use of the Arrhenius equation in the study of deterioration and of cooking of foods—some scientific and pedagogic aspects. *Science-Technology-Environment-Society (STES)*, 3(1), 1–8.
- Pham, Q. T., & F., R. (1997). Moisture Migration and Ice Recrystallization in Frozen Foods. In M. C. Erickson & Y.-C. Hung (Eds.), *Quality in Frozen Foods* (pp. 67–91). Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5975-7_5
- Pintor, A., & Totosaus, A. (2012). *Ice cream properties affected by lambda-carrageenan or iota-carrageenan interactions with locust bean gum/carboxymethylcellulose mixtures*. Retrieved from <http://agris.upm.edu.my:8080/dspace/handle/0/11759>
- Powrie, W. D. (1984). Chemical effects during storage of frozen foods. *Journal of Chemical Education*, 61(4), 340. <https://doi.org/10.1021/ed061p340>
- Ramírez-Navas, J. (2017, October 26). *La Ciencia de los helados*.
- Secretaría de Salud. *Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.* , Pub. L. No. 092, § 9 y 10 (1994).
- Secretaría de Salud. *Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, bienes y servicios. Preparación y*

dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. , Pub. L. No. 110 (1994).
Secretaría de Salud. *Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.* , Pub. L. No. 111, § 6 y 7, 6 (1994).
Secretaría de Salud. *Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.* , Pub. L. No. 113, 9 (1994).
Tavman, S., & Yilmaz, T. (2017). Freezing of Dairy Products. In F. Conto (Ed.), *Advances in Dairy Products* (pp. 263–273). Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd.
<https://doi.org/10.1002/9781118906460.ch3a>