

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

#### ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA

#### LICENCIATURA EN QUÍMICA EN ALIMENTOS

## "CALIDAD SANITARIA DE UNA EMPRESA DE PRODUCTOS HELADOS Y CARACTERIZACIÓN FISICOOUÍMICA DE PALETAS"

#### **TESIS**

#### QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICA EN ALIMENTOS

#### **PRESENTA**

#### ZAIRA ESMERALDA CABRERA CANALES

#### **DIRECTORA**

DRA. ELIZABETH CONTRERAS LÓPEZ

#### **CODIRECTORES**

DRA. JUDITH JAIMEZ ORDAZ
DR. JOSÉ ANTONIO RODRÍGUEZ ÁVILA



MINERAL DE LA REFORMA, HGO., JULIO 2011



#### UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería Área Académica de Química

M. en A. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO. DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA U.A.E.H.. Presente:

Por este conducto le comunico que el jurado asignado a la pasante de Licenciatura en Química en Alimentos CABRERA CANALES ZAIRA ESMERALDA, quien presenta el trabajo de titulación "CALIDAD SANITARIA DE UNA EMPRESA DE PRODUCTOS HELADOS Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE PALETAS" después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Jurado:

Dr. Javier Añorve Morga Presidente

Dra. Elizabeth Contreras López Primer vocal

Dra. Judith Jaimez Ordaz Segundo vocal

Dra. Araceli Castañeda Ovando Tercer vocal

Dr. José Antonio Rodríguez Ávila Secretario

Q. A. Israel Oswaldo Ocampo Salinas Primer suplente

Segundo suplente Q. A. Andrés García Guerrero

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

**ATENTAMENTE** "Amor, Orden y Progreso"

Mineral de la Reforma Hidalgo, a 30 de junio de 2011.

Q. A. Israel Oswaldo Ocampo Salinas Coordinador Adjunto de la Licenciatura en Química en Alimentos

PERSIDAD AUTONOMIS



CENTRO DE INVESTIGACIO

Ciudad Universitaria Carretera Pachuca - Tulancingo Km. 4.5. s/n Col. Carboneras C.P. 42184 Mineral de la Reforma, Hidalgo. México. Tel: (771)7172000 ext. 2218 Fax. 6502 E mail: iocampo@uaeh.edu.mx





Este trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Fisicoquímica de Alimentos 2 del Área Académica de Química de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

La investigación se realizó gracias al financiamiento del proyecto CONACYT CB-2006-61310 "Diseño y validación de sistemas automatizados de separación magnética en flujo".

Parte de este trabajo ha sido presentado en:

Primer foro de trabajos de investigación para la generación y aplicación del conocimiento, con el trabajo:

"Calidad microbiológica de paletas elaboradas en Hidalgo, México".

4th Congreso Internacional sobre Ciencia de los Alimentos y Biotecnología de los Alimentos en los Países en Desarrollo con el trabajo:

"Perfil cromatográfico y cuantificación de ácidos grasos en paletas de leche".

XIII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, con el trabajo:

"Calidad microbiológica de paletas de base agua y base láctea elaboradas en el Estado de Hidalgo, México".

# *Agradecimientos*

Especialmente doy gracias a Dios por la vida y permitirme culminar una carrera universitaria la cual me ha dado grandes logros, la realización de esta tesis es uno de ellos.

Agradezco eternamente a mi familia, en especial a mis padres María de Lourdes y Victor Manuel, quienes siempre me han brindado todo su amor y apoyo en todo lo que he realizado. Así mismo, les agradezco sus consejos, comprensión, paciencia, motivaciones y sobre todo por creer en mí.

Mi agradecimiento sincero a mi hermana Vianey Victoria por los maravillosos años vividos a su lado, de igual manera, le agradezco su apoyo, comprensión, paciencia, y por darme un sobrino hermoso al cual adoro y una sobrinita o sobrinito que viene en camino.

Agradezco de manera especial a la Dra. Elizabeth Contreras López por confiar en mí para llevar a cabo este trabajo de investigación y caminar junto conmigo durante la realización esta tesis. Igualmente le agradezco su valioso apoyo, consejos, paciencia y conocimientos compartidos.

Mis más sinceras gracias a la Dra. Judith Jaimez Ordaz y al Dr. José Antonio Rodríguez Ávila por su colaboración en la realización de esta investigación, su entusiasmo, sus conocimientos e invaluable apoyo.

Agradezco a la Dra. Araceli Castañeda Ovando y al Dr. Javier Añorve Morga por compartirme sus conocimientos, su disposición y el gran apoyo brindado para llevar a cabo la presente investigación.

También agradezco a los Químicos en Alimentos, Israel Oswaldo Campo Salinas y. Andrés García Guerrero por su disposición y valiosa colaboración en la corrección del documento de tesis.

Mis más sinceras gracias a la T.L.C. Ernestina Viggiano Vargas por su amistad, ayuda y orientación brindada en algunas técnicas microbiológicas.

Mi agradecimiento a la empresa que proporcionó las muestras y permitió el acceso a sus instalaciones, sin ellos no hubiera sido posible cumplir este objetivo.

A mis compañeros de laboratorio, especialmente Juan, Nohemi Baños, Yhosany, Lupito, Miguelito y Guty, gracias por su ayuda y orientación en algunas técnicas.

A mis compañeros y amigos de licenciatura, gracias por los maravillosos momentos que compartimos juntos, en especial agradezco a Emmanuel, Ignacio y Viridiana por su amistad, ayuda y comprensión durante el desarrollo de este trabajo.

Agradezco a mi compañera y amiga Nohemi Baños quien siempre me apoyó en esta investigación, especialmente durante las visitas a la empresa.

A mis amigas Karina y Delia, les agradezco por estar siempre a mi lado en todo momento y demostrarme su amistad incondicional.

Por último y no menos importante, mi agradecimiento a todas aquellas personas que han sido parte de mi formación personal y profesional y que aunque no están aquí, también ayudaron a que este sueño se volviera realidad.

Zaira Esmeralda

## Dedicatorias

Dedico esta tesis a Dios, a mis padres, a mi hermana y a mis abuelitas Ma. Dolores y Ma. Natalia.

Especialmente la dedico a mi abuelita paterna, quien ya no está físicamente, pero que recuerdo y sé que siempre está conmigo.

A tres años de su partida he logrado culminar una etapa importante en mi vida, la cual ella, mis padres y yo anhelábamos.

Estoy segura que gracias a las bendiciones de Dios y a las suyas enviadas desde el cielo pude concluir este trabajo.

La quise, la quiero y la querré siempre a mi abuelita Natita.

## ÍNDICE

	Página
Índice de tablas	V
Índice de gráficas y figuras	VI
1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Historia de los helados	4
2.2 Definición de paleta	6
2.3 Clasificación de las paletas	6
2.3.1 Paletas de base láctea	6
2.3.2 Paletas de base agua	7
2.4 Producción y consumo de helados	8
2.5 Composición química de los helados	10
2.5.1 Ingredientes empleados en la fabricación de helados y su función	11
2.5.1.1 Grasa	11
2.5.1.2 Sólidos no grasos (SNG)	13
2.5.1.2.1 Lactosa	13
2.5.1.2.2 Proteínas	13
2.5.1.2.3 Sales minerales	14
2.5.1.3 Azúcares	15
2.5.1.4 Estabilizantes	16
2.5.1.5 Emulsionantes	17
2.5.1.6 Colorantes	18
2.5.1.7 Ácidos	18
2.5.1.8 Frutas	18
2.5.1.9 Agua	18
2.5.1.10 Huevo y derivados	19
2.5.1.11 Aire	19
2.6 Proceso de elaboración del helado	20
2.6.1 Recepción y almacenamiento de los ingredientes	21
2.6.2 Pesaje y dosificación de ingredientes	21
2.6.3 Preparación de la mezcla (mix)	22
2.6.4 Pasteurización	22

2.6.5 Homogenización	23
2.6.6 Refrigeración y maduración	24
2.6.7 Congelación y batido (incorporación de aire)	24
2.6.8 Adición de ingredientes de valor añadido	24
2.6.9 Moldeado	25
2.6.10 Endurecimiento o congelación profunda	25
2.6.11 Terminado y envasado	25
2.6.12 Embalado y paletización	25
2.6.13 Almacenamiento y distribución	26
2.7 Factores de deterioro que afectan a los helados	26
2.7.1 Deterioro fisicoquímico	26
2.7.2 Deterioro microbiológico	27
2.7.2.1 Microorganismos indicadores en los helados	28
2.7.2.1.1 Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA)	29
2.7.2.1.2 Organismos Coliformes	29
2.7.2.1.3 Levaduras	29
2.7.2.1.4 Mohos	30
2.8 Influencia de las Buenas Prácticas de Manufactura en la calidad del	
producto final	30
2.8.1 Instalaciones y edificaciones	31
2.8.2 Equipos y utensilios	32
2.8.3 Personal manipulador de alimentos	32
2.8.4 Proceso tecnológico	32
2.8.5 Aseguramiento y control de calidad	33
2.8.6 Saneamiento de instalaciones y equipos	33
2.8.7 Almacenamiento, distribución, transporte y comercialización	34
3. OBJETIVOS	36
3.1 Objetivo general	36
3.2 Objetivos específicos	36
4. MATERIAL Y MÉTODOS	38
4.1 Muestras	38
4.1.1 Recolección y transporte de las muestras	38
4.1.1.1 Paletas	39
4.1.1.2 Superficies inertes (equipos y utensilios)	39
4.1.1.3 Superficies vivas (manos de operarios)	39
4.1.1.4 Ambiente	39
4.2 Determinación de la calidad microbiológica	40
4.2.1 Preparación de medios de cultivo y soluciones diluyentes	40

4.2.2 Preparación de muestras	41
4.2.2.1 Paletas	41
4.2.2.2 Superficies inertes (equipos y utensilios)	41
4.2.2.3 Superficies vivas (manos del operario)	41
4.2.2.4 Ambiente	41
4.2.3 Recuento de Bacterias Mesófilas Aerobias en placa	41
4.2.4 Recuento de Coliformes Totales en placa	42
4.2.5 Recuento de Mohos y Levaduras	43
4.2.6 Cálculo y expresión de resultados	43
4.2.6.1 Bacterias Mesófilas Aerobias	43
4.2.6.2 Coliformes Totales	44
4.2.6.3 Mohos y Levaduras	44
4.3 Propiedades fisicoquímicas	44
4.3.1 Determinación de humedad	44
4.3.2 Determinación de cenizas	45
4.3.3 Determinación de proteína por el método Kjeldahl	46
4.3.4 Determinación de fibra cruda	49
4.3.5 Determinación de grasa por el método de Gerber	50
4.3.6 Determinación de carbohidratos	51
4.3.7 Determinación de ácidos grasos	51
4.3.8 Análisis de minerales (Ca, Mg y P)	54
4.4 Análisis estadístico	56
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
5.1 Calidad microbiológica de paletas de base agua y de base láctea	58
5.2 Calidad microbiológica del ambiente en el área de producción de	
paletas	63
5.3 Superficies vivas	67
5.4 Superficies inertes	69
5.5 Propiedades fisicoquímicas	71
5.5.1 Análisis proximal de paletas de base agua y de base láctea	71
5.5.1.1 Humedad	71
5.5.1.2 Cenizas	73
5.5.1.3 Proteína	74
5.5.1.4 Fibra cruda	75
5.5.1.5 Grasa	76
5.5.1.6 Carbohidratos	77
5.5.2 Ácidos grasos	79
5.5.3 Minerales	83

5.5.3.1 Calcio	83
5.5.3.2 Magnesio	84
5.5.3.3 Fósforo	86
6. CONCLUSIONES	89
7. RECOMENDACIONES	91
8. REFERENCIAS	93
9. ANEXOS	107
Anexo 1. Cromatográmas del perfil de ácidos grasos en paletas de base	
láctea	107

### ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Composición general de un helado	11
Tabla 2. Ingredientes del helado y sus funciones principales	11
Tabla 3. Descenso del punto crioscópico y sabor dulce en los helados	15
Tabla 4. Estabilizantes empleados en la elaboración del helado y su función	16
Tabla 5. Muestras estudiadas	38
Tabla 6. Medios de cultivo y soluciones diluyentes	40
Tabla 7. Composición de estándares multielementales	55
Tabla 8. Resultados del análisis microbiológico para las paletas de base agua y de	
base láctea	59
Tabla 9. Análisis microbiológico del ambiente del área de producción de las	
paletas analizadas	63
Tabla 10. Resultados del análisis microbiológico de las manos de los operarios	67
Tabla 11. Resultados de recuentos microbiológicos de superficies inertes	70
Tabla 12. Resultados del análisis proximal de paletas de base agua y de base	
láctea (g/100 g muestra)	72
Tabla 13. Ácidos grasos presentes en paletas de base láctea (media y desviación	
estándar de tres réplicas expresadas como mg/100 g)	80

## ÍNDICE DE GRÁFICAS Y FIGURAS

	Página
Gráfica 1. Producción anual de paletas y helados a nivel mundial	8
Gráfica 2. Consumo anual <i>per cápita</i> de paletas y helados a nivel mundial	9
Gráfica 3. Contenido de calcio en paletas de base láctea	83
Gráfica 4. Contenido de magnesio en paletas de base láctea	85
Gráfica 5. Contenido de fósforo en paletas de base láctea	86
Figura 1. Proceso de elaboración de helados	20
Figura 2. Cromatográma de la mezcla de 37 MEAG (estándar de 10 mg/mL)	79
Figura 3. Cromatográma de la paleta sabor galleta	82





#### 1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, los helados han sido incluidos en la dieta de una gran parte de la población mundial, debido principalmente a sus atributos sensoriales. En México, una paleta es un helado "empalillado". Las paletas, al igual que los helados, se clasifican de acuerdo a la base, que puede ser láctea y de agua. Las de base láctea son aquellas 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 B<sub>2</sub>. Las 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.

El mercado de los helados y paletas se encuentra en un período de expansión, especialmente en el segmento de los helados industriales, lo que ha sido aprovechado por una empresa ubicada en el estado de Hidalgo dedicada a la elaboración y comercialización regional y nacional de bases para helados y paletas. Sin embargo, la fabricación tanto artesanal como industrial de dichos productos conlleva ciertos riesgos de origen microbiológico relacionados con los diversos ingredientes utilizados en su elaboración así como con las condiciones higiénico-sanitarias que prevalecen durante el proceso. Tomando en cuenta lo anterior y considerando la falta de información referente a la calidad global de los productos elaborados en dicha empresa, el objetivo de este trabajo fue determinar, mediante técnicas oficiales establecidas en normas mexicanas e internacionales; la calidad microbiológica de paletas, superficies y ambiente del área de producción así como las propiedades fisicoquímicas del producto. La información obtenida contribuirá al crecimiento y fortalecimiento de la empresa al permitirle conocer la calidad del producto final ofrecido al consumidor así como tomar medidas de control en caso de que las especificaciones tanto sanitarias como fisicoquímicas no se cumplan.

# Antecedentes



#### 2. ANTECEDENTES

#### 2.1 HISTORIA DE LOS HELADOS

Los helados surgieron mucho antes de la era cristiana, en China y otras regiones asiáticas. Los chinos mezclaban la nieve de las montañas con miel y frutas, y los califas de Bagdad la mezclaban con jugos de frutas, a los cuales nombraron *sharbets*, que significa bebida, de donde procede la palabra sorbete empleada hoy en día. Otro antecedente interesante es que Alejandro Magno y el emperador romano Nerón (37-68 d. C.) enterraban ánforas conteniendo frutas mezcladas con miel, jugos de frutas o vinos en la nieve, para conservarlas mejor y poderlas consumir frías (Mantello, 2007a).

En el siglo XII, Marco Polo al regresar de sus viajes de Oriente introdujo en Europa recetas tradicionales de postres helados aprendidas durante sus viajes, las cuales se implantaron con cierta popularidad en las cortes italianas durante mucho tiempo; por los pocos medios de que se disponía para su preparación, fueron únicamente manjar de reyes. A estos primeros helados de agua siguieron los de leche, que comenzaron a popularizarse cuando en 1660 el italiano Procopio inventó una máquina que homogeneizaba las frutas, el azúcar y el hielo, con lo que se obtenía una verdadera crema helada, similar a la que hoy conocemos.

En el mismo año abrió en París el Café Procope, donde además de café se servían helados, así se popularizó el delicioso postre. Por muchos años los heladeros italianos, guardaron celosamente el secreto de preparación de los helados, aunque como vendedores ambulantes lo difundieron por toda Europa. Posteriormente, en el siglo XVI los helados fueron traídos a México por los españoles, viéndose favorecido su desarrollo gracias a la variedad de frutas propias del país. Hacia el mismo siglo, en Francia, al casarse Catalina de Medicis con Enrique II, su cocinero llevó a la corte francesa las primeras recetas para la elaboración de helados a los cuales se les adicionaba leche y huevo, por lo que eran mucho más atractivos



en sabor, se cuenta incluso que el rey le dio una gran recompensa para que reservase la fórmula únicamente para el uso de la mesa real. Posteriormente, una nieta de Catalina se casó con un príncipe inglés, llevando así el helado a Inglaterra. Y fue para el siglo XVIII, cuando las recetas de helados empezaron a incluirse en los libros de cocina (Mejía y Sepúlveda, 2001).

En el siglo XVII, en Europa, especialmente en la isla de Sicilia, se introdujeron varias novedades en la preparación de los helados como la incorporación de azúcar y la adición de sal al hielo con la finalidad de prolongar su vida útil. A partir de esta modificación comenzó la venta masiva al público, sentando las bases para la aparición de las modernas heladerías (Di Bartolo, 2005). En el año 1700, los helados llegaron a América del Norte y se hicieron populares en Estados Unidos, en donde, para el siglo XIX, el helado fue uno de los productos más consumidos en ese país. En 1846, Nancy Johnson, una norteamericana, inventó la primera heladora automática, con lo que puso la base para el surgimiento del helado industrial. Unos años después, en 1851, Jacobo Fussel fundó la primera empresa productora de helados de los Estados Unidos (León, 2009).

Con el transcurso de los años estos productos fueron perfeccionados y fue hasta el año 1905, que se inventó la primera paleta helada gracias a un niño de nombre Frank Epperson quien cuando tenía once años de edad, dejó un vaso de refresco con un palito al aire libre durante toda una noche fría. La bebida se congeló con el palito, y en 1923 él patentó su invento y la paleta helada se hizo famosa con el nombre en inglés de *Popsicle* (Bellis, 1997).

Gracias a esta invención, desde 1930, en México, las paletas vinieron a ser una de las delicias preferidas de los niños al salir de la escuela. En 1940 varios migrantes que habían salido del pequeño pueblo de Tocumbo, en el norte de Michoacán, hacia las grandes ciudades, empezaron a establecer paleterías utilizando el nombre de *La Michoacana*. Con el paso del tiempo, los paleteros de Tocumbo crearon un emporio basado en redes familiares y de compadrazgo que se extendió por todo el país (González de la Vara, 2006).



#### 2.2 DEFINICIÓN DE PALETA

De acuerdo a Mejía y Sepúlveda (2001), paleta se le denomina al producto congelado, elaborado a partir de productos lácteos o sin ellos, con agua, azúcar, frutas, jugos de frutas y/o sabores a frutas o sabores artificiales ácidos y estabilizantes y otras sustancias permitidas que pueden o no contener colorantes y que tienen en común un palito para facilitar su consumo. Sin embargo, dependiendo de las regiones y los países, a este producto también se le conoce con el nombre de polos, palitos, pop, popsicle, esquimo o turrón, pero universalmente se le identifica por tener un palo de madera o de plástico y no necesita recipiente para ser almacenado y ser mercadeado.

En base a la normatividad mexicana, paleta también suele denominárseles a aquellos helados producidos mediante la congelación "con o sin agitación" de una mezcla pasteurizada compuesta por una combinación de ingredientes lácteos pudiendo contener grasas vegetales, frutas, huevo y sus derivados, saborizantes, edulcorantes y otros aditivos alimentarios, cuya presentación es empalillada (NOM-036-SSA1-1993).

#### 2.3 CLASIFICACIÓN DE LAS PALETAS

Son varias las clasificaciones que se pueden hacer a los helados dependiendo su composición, ingredientes o envasado y su elaboración. Sin embargo, para las paletas su clasificación básica es paletas de base láctea y paletas de base agua (Madrid, 1999).

#### 2.3.1 Paletas de base láctea

Son aquellas que tienen como principal ingrediente la leche, su valor nutritivo se debe al aporte de proteínas, azúcares, grasas, así como minerales principalmente calcio y vitaminas como la B<sub>2</sub>. Dentro de esta categoría y en función del contenido de grasa, las paletas también se clasifican en paletas de leche cuando poseen menos del 8% de grasa láctea, paletas de crema cuando su contenido de grasa de leche es 10% ó más y paletas de yogurt, las cuales generalmente poseen 3% de grasa láctea (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003).



A continuación se mencionan los distintos tipos de paletas de leche y de crema existentes en el mercado:

- 1. Paletas de sabores básicos como vainilla y chocolate
- 2. Paletas con agregados por ejemplo cacahuate, pasas, nueces o coco
- 3. Paletas con trozos o pulpa de fruta denominadas frutacrema
- 4. Paletas total o parcialmente cubiertas con chocolate
- 5. Paletas rellenas de frutas o mermeladas
- 6. Paletas de 2 ó 3 sabores, ya sean sabores horizontales o verticales
- 7. Paletas con porción de agua y leche
- 8. Paletas fantasías

En el caso de las paletas de yogurt no existen tantos tipos como los hay para las paletas de leche y de crema, generalmente sólo se observan de una fruta, por ejemplo de mora, fresa, durazno, frambuesa, guanábana, cereza, fruta con cereales o únicamente cereales como el trigo, avena, etcétera (Mejía y Sepúlveda, 2001).

#### 2.3.2 Paletas de base agua

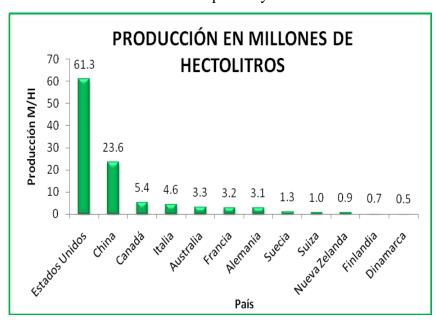
Su principal ingrediente es el agua; en ocasiones se sustituye parte del agua con jugos de fruta, también pueden contener frutas o sabores artificiales pero no contienen grasa, ni sólidos de leche (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003; Di Bartolo, 2005). Las paletas de base agua se presentan en distintos tipos y a continuación se mencionan algunos de ellos:

- 1. Paletas sólo de fruta, las cuales emplean más del 20% de la pulpa
- 2. Paletas de fruta, cuyos contenidos de pulpa o jarabe es de entre el 5% y 20%
- 3. Paletas de frutas picadas, también llamadas salpicón
- 4. Paletas de agua sin fruta, entre las que destacan las paletas de esencias únicamente y de jarabes imitación fruta (Mejía y Sepúlveda, 2001).



#### 2.4 PRODUCCIÓN Y CONSUMO DE HELADOS

La producción y consumo de helados en la mayoría de los países se engloba en el sector lácteo, por ello, en la actualidad, no se dispone de gran información a nivel nacional ni estatal de la producción y consumo de dichos productos. Sin embargo, de acuerdo a un informe publicado por la Asociación Internacional de Productos Lácteos, sólo se han podido obtener datos a nivel mundial, en la gráfica 1 se presenta la producción mundial de helados para el año 2002 (Mantello, 2007d).



**Gráfica 1.** Producción anual de paletas y helados a nivel mundial

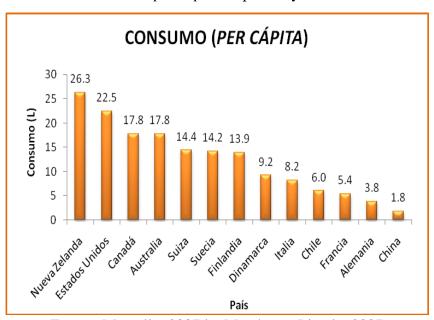
Fuente: Mantello, 2007d y Martínez y Liendo, 2007

En base a la información del Departamento de Agricultura de EEUU (USDA), en el año 2004 dicho país encabezaba la producción total de helados y postres helados, con aproximadamente 6,056 billones de litros, siendo el estado de California el mayor productor. Sin embargo, se desconoce si actualmente Estados Unidos se mantiene en el primer lugar de producción de tales productos (Martínez y Liendo, 2007).



Con respecto a la producción en México, ésta es muy poca comparada con lo que produce Nueva Zelanda, Finlandia y Dinamarca. Según informes de la USDA y la Asociación Internacional de Productos Lácteos, en el año 2006 México fue el mercado más grande para las exportaciones de helados y postres congelados de EE.UU.; con un valor estimado de casi \$24 millones de dólares. Canadá fue el segundo destino de las exportaciones de EE.UU. de postres congelados con un valor de \$5.7 millones de dólares, el Reino Unido (\$3.6 millones de dólares), Bahamas (\$2 millones de dólares) y Hong Kong (\$2.8 millones de dólares) son tercero, cuarto y quinto respectivamente (IVEX, 2007).

Mientras Estados Unidos es el mayor productor de helados y postres lácteos en el mundo, según estadísticas de la Asociación Internacional de Productos Lácteos, Nueva Zelanda es el país que más consume helados en el mundo, seguido por Estados Unidos y Canadá (gráfica 2). El único país latinoamericano que aparece en el décimo puesto es Chile, con un consumo *per cápita* de 6 litros anuales (Martínez y Liendo, 2007).



**Gráfica 2.** Consumo anual *per cápita* de paletas y helados a nivel mundial

Fuente: Mantello, 2007d y Martínez y Liendo, 2007



En México el consumo de helados aumenta hasta el 30% en primavera y verano. Sin embargo, se dice que la industria de los helados en México, está en riesgo de derretirse debido al bajo consumo de estos productos pues el consumo *per cápita* anual de helados es de 1.5 a 2 litros, una cifra similar a la de países de América Latina, pero muy baja si se compara con los 26.3 litros que se consumen en Nueva Zelanda, o los más de 22 litros que se consumen en Estados Unidos (Velazco, 2003).

#### 2.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS HELADOS

El producto más común dentro de la categoría de postres congelados es el helado (Hui *et al.*, 2004), este producto contiene muchos ingredientes en distintos estados, entre los cuales se destaca la leche, donde la materia grasa se encuentra en emulsión, las proteínas en suspensión coloidal y la lactosa y las sales en disolución verdadera (Early, 2000). Otro de los componentes mayoritarios e importantes en el helado es el agua, encontrándose en estado líquido, como solvente de sales y azúcares y en forma sólida como cristales de hielo (Varnam y Sutherland, 1995).

Además de la leche y el agua, los helados también contienen azúcares, emulsionantes y estabilizantes que se añaden durante el proceso de elaboración. Sin embargo, la composición de este tipo de productos puede variar dependiendo de las materias primas que se utilicen y del tipo de producto a elaborar (Hui *et al.*, 2004). En la tabla 1 se presenta la composición general de un helado y en los apartados siguientes se describen cada uno de los componentes y su función.

En muchas ocasiones y dependiendo del helado que se trate, suelen añadirse aromas naturales a frutas, frutas frescas, congeladas, en pulpa, en puré, en jugo fresco y pasterizado. También pueden agregarse accesorios de decoración, como frutas confitadas, frutos secos, chocolate, granos de café, entre otros (Luquet y Deveaux, 1993).



Tabla 1. Composición general de un helado

Componente	Rango de
	concentración
Leche grasa	>10% - 16%
Sólidos de leche no grasa	9% - 12%
Proteínas, lactosa, minerales	1% - 6%
Edulcorantes: sucralosa	10% -14%
Jarabe de maíz	3% - 5%
Estabilizadores: goma guar, algarrobo, carragenina, goma de	0% - 0.25%
celulosa, gel de celulosa, alginato sódico, xantana y gelatina	
Emulsionantes: mono y di-glicéridos, polisorbato 80	0% - 0.25%
Agua	55% - 64%

Fuente: Hui et al., 2004

#### 2.5.1 Ingredientes empleados en la fabricación de helados y su función

En este apartado, se mencionan los principales ingredientes utilizados como materia prima para la fabricación de helados, así como la función de los mismos (tabla 2).

Tabla 2. Ingredientes del helado y sus funciones principales

Ingrediente	Funciones principales	
Grasa	Proporcionan sabor y aroma, cuerpo, textura y suavidad en la boca	
Sólidos lácteos no grasos	Proporcionan cuerpo, textura y contribuyen al sabor dulce e incorporación de aire	
Azúcar	Imparte sabor dulce y mejoran la textura	
Aromatizantes	Dan los sabores no lácteos	
Colorantes	Mejoran la apariencia y refuerzan los aromas y sabores	
Emulsionantes	Mejoran la capacidad de batido y la textura	
Estabilizantes	Mejoran la viscosidad de la mezcla, la incorporación de aire, la textura y las características de fusión	
Ingredientes de valor añadido	Proporcionan aromas y sabores adicionales y mejoran la apariencia	

Fuente: Varnam y Sutherland, 1995

#### 2.5.1.1 Grasa

Imparte buenas características de textura, proporciona un delicado aroma y actúa sinérgicamente con los aromas añadidos, aunque produce una cierta disminución en la velocidad de batido (Varnam y Sutherland, 1995), además tiene una gran importancia en el



flavor y en la formación de la estructura sólida durante la congelación; determina la consistencia, aspecto y resistencia al fundido del helado. Un helado con elevado contenido graso origina una textura granulosa, mientras que si el porcentaje es muy bajo, el helado será muy homogéneo y con una textura excesivamente viscosa (Walstra *et al.*, 2001).

La grasa presente en el helado es proporcionada por la grasa de la leche, ya sea en forma entera, nata líquida, mantequilla natural, mantequilla anhidra o aceite de mantequilla (Luquet y Deveaux, 1993). Por ello, el helado contiene una variabilidad de ácidos grasos proporcionados por la leche como el ácido butírico (C4:0), caproico (C6:0), caprílico (C8:0), cáprico (C10:0), caproleico (C10:1), laúrico (C12:0), lauroleico (C12:1), tridecílico (C13:0), iso-mirístico (C14:0 iso), mirístico (C14:0), miristoleico (C14:1), iso-pentadecílico (C15:0 iso), pentadecílico (C15:0), pentadecenoico (C15:1), iso-palmítico (C16:0 iso), palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), iso-margárico (C17:0) iso), margárico (C17:0), heptadecenoico (C17:1), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), elaídico (C18:1 trans), linoleico (C18:2), linolénico (C18:3) y por algunos ingredientes que lo constituyen (Romero del Castillo y Mestres, 2004).

El tipo de grasa, su composición y punto de fusión tienen una influencia decisiva sobre las características organolépticas y la estabilidad del helado durante su conservación. En los helados, la grasa es el tipo de nutriente que presenta mayor variabilidad de contenido, y dicho contenido es lo que hace que un helado sea diferente a otro (A.E.F. Helados, 2006).

En la fabricación de helados la materia grasa puede ser sustituída por grasas vegetales, entre las cuales destaca el aceite de coco, el aceite de palma, aceite de semilla de palma o mezclas de los tres; normalmente estos aceites son refinados o hidrogenados parcialmente hasta que su punto de fusión es de 27-35°C, por lo cual imparten a los helados unas propiedades de textura muy similares a la grasa láctea, además, el 90% de esta grasa cristaliza durante el período de maduración de la mezcla a 0-5°C, lo cual es muy importante para la calidad del producto final (Early, 2000).



#### 2.5.1.2 Sólidos no grasos (SNG)

Los SNG proceden principalmente de la leche, pueden añadirse en forma de diferentes productos o subproductos lácteos. El más utilizado es la leche descremada concentrada o en polvo, también se emplea lactosuero concentrado o en polvo y concentrados proteicos del mismo origen (Amiot, 1991). Los SNG están compuestos por 52-55% lactosa, 36% proteína y 9% de minerales de origen lácteo y su proporción en el helado es muy variable (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003). Los sólidos no grasos contribuyen al flavor, son los responsables del descenso del punto crioscópico y del incremento de la viscosidad (Walstra *et al.*, 2001).

#### 2.5.1.2.1 Lactosa

Es el azúcar de la leche y contribuye al sabor dulce del helado, aparece en los helados como consecuencia de la adición de leche en polvo, suero de leche, leche fluida, etc; y contribuye al sabor dulce del helado (Varnam y Sutherland, 1995). Su solubilidad es relativamente baja y en determinadas condiciones puede cristalizar en grandes cristales (>15 μm) puntiagudos. Cuando esta cristalización se produce, el helado presenta una textura arenosa que origina una desagradable sensación en la boca (Early, 2000; Di Bartolo, 2005).

En los helados donde se añaden frutos secos, las partículas sólidas actúan como núcleos de cristalización de la lactosa pero a pesar de este inconveniente la lactosa ejerce efectos positivos, contribuyendo a aumentar el contenido en sólidos totales e influyendo en la consistencia del helado por su efecto sobre la disminución del punto crioscópico (Early, 2000).

#### **2.5.1.2.2 Proteínas**

Además de su contribución al valor nutritivo, las proteínas determinan la capacidad de batido y proporcionan características físicas y sensoriales al helado. También presentan interesantes propiedades funcionales como la interacción con algunos estabilizantes y mantener estable la emulsión grasa después de la homogenización. Además de contribuir a dar la estructura del helado y poseer capacidad para retener agua (Early, 2000).



La leche descremada en polvo y las yemas de huevo son dos de los productos que más proteínas aportan a los helados, éstas además de tener las propiedades ya mencionadas, distribuyen el aire en el proceso de batido aumentando el tiempo de derretimiento al mezclar los ingredientes (Mejía y Sepúlveda, 2001).

#### 2.5.1.2.3 Sales minerales

Se utilizan para mejorar o ayudar al producto en ciertos aspectos, como aumentar la capacidad del estabilizante, a ligar agua, evitar la precipitación de las proteínas de la leche y evitar la sinéresis. Las principales materias primas utilizadas son los fosfatos disódicos y los citratos de sodio, los cuales cambian el balance de las sales en la leche a través de la formación de complejos con los iones de calcio y de magnesio (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003). En el helado también se encuentran presentes algunos minerales como los que se describen a continuación.

- 1. Calcio y fósforo: En los helados de base láctea el contenido de calcio se encuentra entre 80-138 mg/100 g de helado, mientras que el de fósforo oscila entre 45 y 150 mg/100 g. El calcio de los helados de base láctea, como el de la leche y del resto de derivados lácteos, es más biodisponible y asimilable para el organismo que el del resto de alimentos. La relación calcio/fósforo en el alimento es determinante para la absorción de ambos minerales y en estos helados es óptima. Tanto su contenido en lactosa como en proteína láctea o en vitamina D favorecen la asimilación del calcio. Los productos que contienen frutos secos, es decir, un aporte de fibra, no la contienen en proporción suficiente como para que pueda llegar a influir significativamente en la absorción del mineral. La cobertura de chocolate añade aún más calcio al producto. Los helados realizan un aporte de calcio realmente significativo y es su rasgo nutricional más interesante (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003; González, 2007).
- 2. Otros minerales: El consumo de magnesio a través de los helados de base láctea, aunque no es muy importante (9.3-11 mg/100 g), no es despreciable como en los helados de base agua. Otro de los minerales presentes en los helados de base láctea es el sodio, que



se encuentra entre 44.8 y 86.6 mg/100 g. En este tipo de producto también suele encontrarse el potasio, sin embargo dicho mineral está presente en mayor proporción con respecto al sodio (65-213 mg/100 g) (González, 2007).

#### **2.5.1.3 Azúcares**

Los azúcares o edulcorantes mejoran la textura, proporcionan sabor, contribuyen a aumentar la viscosidad cuando toda el agua está congelada, suelen ser la fuente más económica de sólidos totales y descienden el punto crioscópico, es decir, el punto de congelación, con lo cual se obtiene un helado pesado, cuyo tiempo de almacenaje y distribución es más prolongado (Walstra *et al.*, 2001; Di Bartolo, 2005). El agente edulcorante que más se emplea es la sacarosa, si la cantidad de este azúcar es insuficiente se forma una gran cantidad de hielo y si es excesiva el helado resulta demasiado dulce, por ello, suelen emplearse otros edulcorantes o combinaciones de ellos ya que son menos dulces, por ejemplo una de las combinaciones que más se utiliza es 10-12% de sacarosa y 4.5% de sólidos de jarabe de maíz (Hui *et al.*, 2004), En la tabla 3 se presentan los edulcorantes más utilizados en la elaboración de helados comparando su efecto sobre el sabor dulce y el punto crioscópico con respecto a la sacarosa.

**Tabla 3.** Descenso del punto crioscópico y sabor dulce en los helados

Carbohidrato	Peso molecular (g/mol)	Factor del descenso del punto crioscópico	Poder edulcorante relativo
Sacarosa	342	1.0	1.0
Jarabe de glucosa 42 equivalentes dextrosa	445	0.8	0.3
Jarabe de maíz rico en fructosa (42% fructosa)	190	1.8	1.0
Dextrosa	180	1.9	0.8
Fructosa	180	1.9	1.7
Azúcar invertido	180	1.9	1.3
Lactosa	342	1.0	0.2
Sorbitol	182	1.9	0.5
Glicerol	92	3.7	0.8
Etanol	46	7.4	0

Fuente: Adaptada de Early, 2000



#### 2.5.1.4 Estabilizantes

Controlan los movimientos del agua, gracias a su capacidad para formar puentes de hidrógeno y además porque en la mezcla conforman una red tridimensional que atrapa e inmoviliza el líquido; esta acción de captación/inmovilización, mejora la estabilidad del helado durante la conservación (Early, 2000).

**Tabla 4.** Estabilizantes empleados en la elaboración del helado y su función

Estabilizante	Función	
Proteína	Tiene gran capacidad de absorción de agua,	
Gelatina	previene la formación de cristales y	
	proporciona una estructura de gel al producto	
Derivados de algas	Interaccionan con las proteínas lácteas	
Carragenato (musgo Irlandés, Chondrus crispus)	produciendo en la mezcla una viscosidad	
Alginatos (spp. Laminaria)	relativamente elevada	
Agar-agar (Gelidium amansi)		
Derivados de celulosa	Poseen alta capacidad de hidratación (retención	
Carboximetil celulosa (CMC)	de agua), se disuelven con facilidad, ayudan al	
Celulosa microcristalina	correcto batido de la mezcla, proporcionan	
	textura suave al helado, permiten un rápido	
	derretimiento. Sin embargo, otorgan sabor	
	desagradable y textura un tanto granulosa	
Gomas	Incrementan la resistencia a la fusión y evitan	
	la separación del suero mientras el helado se	
	derrite	
Guar (Cyamopsis spp.)	Imparte mayor consistencia, pero cuando se	
	añade en gran cantidad el helado resulta	
	pegajoso y de textura gomosa	
Algarroba (Ceratonia siliqua)	Imparte al helado cuerpo y tiene una buena	
	resistencia a la fluctuaciones de temperatura	
Xantana (Xanthomonas campestris)	Imparte una viscosidad elevada, retrasa el	
	crecimiento de cristales de hielo y actúa	
	sinérgicamente con la goma guar y de	
	algarroba	

Fuente: Varnam y Sutherland, 1995; Mejía y Sepúlveda, 2001; Madrid y Cenzano del Castillo, 2003; Naresh y Shailaja, 2006

Otras de sus funciones son modificar la viscosidad de la mezcla y dificultar la formación de cristales grandes, haciendo que el helado tenga una textura más suave, una mayor resistencia a fundirse y la consistencia adecuada (Amiot, 1991). También suelen mejorar las condiciones de batido y favorecen la formación de burbujas de aire muy pequeñas que dan



rigidez a la estructura en la interface aire-mezcla, sin embargo, al aplicar sobredosis de estabilizantes, la consistencia de los helados se torna viscosa, gomosa, pegajosa o espesa (Mejía y Sepúlveda, 2001). La cantidad y tipo de estabilizante depende de la composición de la mezcla, la naturaleza del resto de los ingredientes, los parámetros del tratamiento y la vida útil prevista para el tratamiento final. Actualmente se emplean muchos estabilizantes cuyas funciones son específicas (tabla 4), pero los más utilizados son los derivados de algas, en especial la carragenina y el alginato ya que son efectivos en la prevención de la precipitación de las proteínas del suero y la sinéresis que tiene lugar con algunos otros estabilizantes (Varnam y Sutherland, 1995).

#### 2.5.1.5 Emulsionantes

Reducen la tensión entre fases, haciendo que la fase grasa y acuosa del helado se distribuyan uniformemente (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003). Su acción no sólo se limita a la estabilización de la emulsión grasa; también contribuyen a mejorar la consistencia, resistir el derretimiento o fusión, mejoran el aspecto de los helados y la textura, produciendo un helado suave y seco, ya que evitan la separación de agua durante el batido y mejoran el rendimiento (Varnam y Sutherland, 1995). Tales efectos son consecuencia de la rigidez de la membrana que rodea los glóbulos grasos y de la formación de una red más sólida alrededor de las burbujas de aire (Amiot, 1991).

En la práctica, los emulsionantes suelen añadirse en conjunto con los estabilizantes. La cantidad total de estos ingredientes en el mix es del 0.4-0.7% p/p. Su empleo facilita el proceso de fabricación y la obtención de helados de calidad más uniforme (Early, 2000). Los tipos de emulsionantes existentes son:

- Ésteres de glicerol: Mono y diglicéridos.
- Ésteres de sorbitol: Derivados del sorbitán y derivados de polioxietileno.
- Polisorbatos: Polisorbato 80 (polioxietilen-sorbitán-monooleato), Polisorbato 65 (polietilen-sorbitán-triestearato), Polisorbato 60 (polioxietilen-sorbitán-monoestearato) (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003; Hui *et al.*, 2004).



En la elaboración del helado un emulsionante comúnmente empleado es la lecitina, la cual se encuentra de manera natural en la yema de huevo, sus funciones son ayudar a dispersar los glóbulos de grasa a través de la mezcla e impedir que se junten en racimos y salgan en forma de glóbulos de mantequilla durante la operación de congelación y mezcla. También facilitan el batido del producto y lo mantiene con una consistencia firme (Di Bartolo, 2005).

#### 2.5.1.6 Colorantes

En la elaboración de helados suelen emplearse como aditivos químicos algunos colorantes ya sean naturales (β-caroteno, caramelo, cochinilla, indigotina o clorofila) o sintéticos, por ejemplo tartrazina (Luquet y Deveaux, 1993). Su función principal en los helados son realzar el color natural, ocultar algún defecto menor y hacerlo más atractivo para el consumidor (Di Bartolo, 2005).

#### 2.5.1.7 **Ácidos**

En los helados de base agua, es de gran importancia la adición de ácido, ya que por ser productos muy refrescantes necesitan de una pequeña dosis de ácido, para darle el grado de acidez semejante al de la fruta que estos pudieran contener. Entre los más usados están el cítrico, tartárico, láctico y el fosfórico, generalmente se utilizan disueltos en el agua al 50%, y su contenido en paletas es del 0.2 al 0.35% aproximadamente (Mejía y Sepúlveda, 2001).

#### 2.5.1.8 Frutas

Las frutas proporcionan a los helados aroma y color; son mayormente empleadas en la elaboración de helados de base agua que en los de base láctea. Son buena fuente de sabor, azúcar, minerales y vitaminas, además pueden ser utilizadas en muchas formas, tales como: fresca, desecada, deshidratada, congelada, pulpas, puré, jugos y jugos concentrados (Mejía y Sepúlveda, 2001).

#### 2.5.1.9 Agua

Es el principal componente en los helados, porque estos productos deben su naturaleza al agua congelada; por lo tanto el agua empleada en la elaboración de los mismos debe ser



inodora, insípida e incolora, y debe tener características químicas y microbiológicas establecidas en la NOM-244-SSA1-2008, la cual hace referencia al agua para uso y consumo humano. Aguas con sabores extraños o muy mineralizadas, no son aptas para la elaboración de paletas, deben ser libres de bacterias de origen fecal y de bacterias patógenas, además los recuentos bacterianos deben ser muy bajos (Mejía y Sepúlveda, 2001; Di Bartolo, 2005).

En el helado, el agua favorece la congelación y es responsable del carácter refrescante del producto, además es el medio disolvente de los ingredientes hidrosolubles (azúcares, proteínas, sales, ácidos, sustancias aromáticas) y determina la consistencia del helado de acuerdo a la proporción congelada. Sin embargo, en exceso produce cristales de hielo grandes que dan una textura arenosa (Fritz, 1989; Mundo Helado, 2009).

#### 2.5.1.10 Huevo y derivados

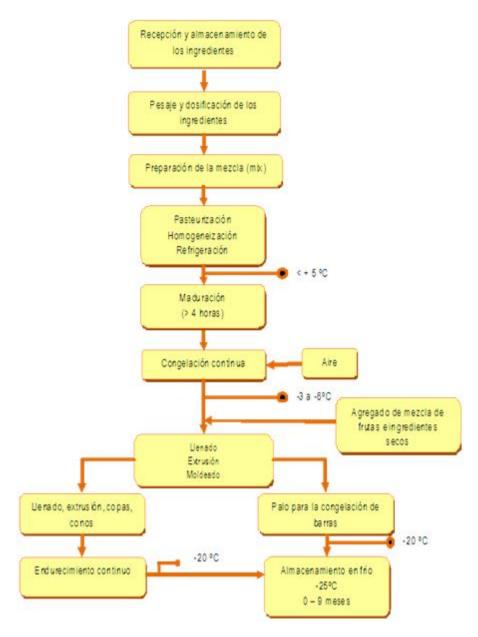
Brindan a los helados una textura suave, así como aromas y sabores característicos. La utilización de huevos frescos, refrigerados o congelados utilizados en las fábricas de helados, supone un riesgo en la contaminación del producto final. Por ello, es recomendable evitar su uso, y emplear huevo industrializado ya pasteurizado líquido o en polvo, entero o separado en clara y yema. En caso de utilizar huevos frescos, éstos deben desinfectarse antes de la rotura y deberán extremarse los cuidados en el proceso de pasteurización de la mezcla final de la elaboración de los helados (Di Bartolo, 2005).

#### 2.5.1.11 Aire

Es un componente importante en helados, es incorporado al producto como aire ambiental filtrado o aire filtrado a presión a la mezcla de helado durante el proceso de congelación, posee dos funciones importantes, aumenta el volumen de la mezcla y la viscosidad de la misma. También retarda el derretimiento del helado, le da una textura cremosa-pastosa característica, su incorporación excesiva produce un helado muy flojo o liviano y afecta tanto las propiedades físicas como la estabilidad de almacenamiento del producto (Fritz, 1989; Madrid y Cenzano del Castillo, 2003; Hui *et al.*, 2004).



#### 2.6 PROCESO DE ELABORACIÓN DEL HELADO



**Figura 1.** Proceso de elaboración de helados Fuente: Gösta Bylund, 1995

El proceso de elaboración de helados abarca desde la recepción y almacenamiento de los ingredientes hasta el almacenamiento del producto terminado (figura 1). Antes y durante el proceso de fabricación de los helados es muy importante tomar en cuenta las condiciones



de almacenamiento de la materia prima, ya que de ello depende la calidad del producto final (Gösta Bylund, 1995).

#### 2.6.1 Recepción y almacenamiento de los ingredientes

Durante esta etapa los ingredientes líquidos deben almacenarse a temperaturas distintas para su posterior utilización y por un período de tiempo previamente establecido para evitar alteraciones como acidificación de la leche, oxidación de la grasa, etc. Así también, los ingredientes sólidos deben ser almacenados cuidadosamente a temperatura y humedad adecuadas (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003).

Los productos secos utilizados en cantidades relativamente pequeñas, tales como suero en polvo, estabilizantes y emulsionantes, cacao en polvo, etc; generalmente se almacenan en bolsas, mientras que el azúcar y la leche en polvo pueden almacenarse en contenedores o en silos de almacenamiento con aire comprimido. Los productos líquidos, como leche, nata, leche condensada, glucosa líquida y grasas vegetales deben estar contenidos en botes y refrigerados a unos 5°C antes de su almacenamiento, sin embargo, la leche condensada, la glucosa y la grasa vegetal deben ser almacenadas a una temperatura relativamente alta (30-50°C) para mantener la viscosidad suficientemente baja para poder preparar la mezcla, mientras que la grasa de la leche debe almacenarse en tanques de 35-40°C (Luquet y Deveaux, 1993; Gösta Bylund, 1995).

#### 2.6.2 Pesaje y dosificación de ingredientes

Los ingredientes sólidos son dosificados en peso, mientras que los líquidos lo son por volumen (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003). En esta etapa del proceso, es necesario un estricto pesado y medición de los ingredientes, ya que cantidades en exceso pueden producir un helado cuyas características no sean las propias o incluso pueden sobrepasar los límites legales de algún ingrediente (Faner, 2005).



#### 2.6.3 Preparación de la mezcla (mix)

Consiste en mezclar en una cuba todos los ingredientes; sin embargo ésta etapa varía dependiendo de los ingredientes y de la temperatura del proceso (frío o en caliente). El primer paso se basa en introducir los ingredientes líquidos en la cuba (equipada con sistema de calentamiento) donde se prepara la mezcla, estos se agitan y se calientan, mientras que los que están en polvo se añaden antes de que la temperatura sobrepase los 50°C. Los ingredientes secos (leche en polvo, azúcar, estabilizantes, etc) se dispersan mejor si se mezclan entre ellos antes de añadirlos a la cuba. Y si todos los ingredientes son líquidos, la mezcla se hace simplemente regulando las válvulas y las bombas para llevar hasta el tanque las cantidades necesarias de cada uno de los ingredientes (Amiot, 1991; Luquet y Deveaux, 1993).

Cuando se utiliza materia grasa, esta debe fundirse antes de ser añadida al mix. Si la operación de mezclado se realiza en caliente, la grasa fundida puede incorporarse al tanque de la mezcla, pero si la mezcla esta fría se producirá la cristalización de las grasas derretidas. En el proceso de mezclado en frío, la grasa fundida se incorpora a la mezcla justo antes de la homogenización, cuando la temperatura del mix es de aproximadamente 80°C (Early, 2000).

En el proceso de mezclado en caliente, como su nombre indica, se emplea agua caliente para incrementar la velocidad de la disolución. La mezcla debe calentarse por encima del límite superior de la zona de fusión (50°C) de la grasa o del emulsionante (Fritz, 1989; Amiot, 1991). El orden en que se añaden los ingredientes también contribuye a mejorar el resultado de la mezcla (Faner, 2005).

#### 2.6.4 Pasteurización

Es necesaria para disolver los ingredientes y homogenizarlos, su objetivo fundamental es destruir los microorganismos patógenos y los que alteran el producto. Durante este tratamiento térmico se produce la fusión de los emulsionantes y estabilizantes, activados por el calor, quedando en solución coloidal en la mezcla (Walstra *et al.*, 2001).



El tratamiento puede suministrase en tres formas:

- 1. Procedimiento discontinuo (68-70°C durante 30 minutos): Este procedimiento se utiliza muy poco; principalmente en fábricas pequeñas.
- 2. Pasteurización a alta temperatura (70-85°C durante 2 a 20 segundos): Este tratamiento es el que más se utiliza, obteniéndose los mejores resultados; los helados presentan las mejores características reológicas y organolépticas, es más económico y se adapta bien a las operaciones automatizadas.
- 3. Tratamiento a temperatura ultra alta (UHT), 100 y 130°C durante 1 a 40 segundos: Este tratamiento mejora la consistencia y la textura de los productos debido a las modificaciones que produce en la estructura y propiedades de las proteínas, puede dañar el sabor si se aplican temperaturas superiores a 120°C (Amiot, 1991).

#### 2.6.5 Homogenización

Su objetivo es reducir y distribuir la grasa en el mayor número posible de glóbulos grasos de pequeño tamaño, con lo cual se favorece la formación de una suspensión permanente y propicia la distribución uniforme de la grasa sin tendencia a su separación (Varnam y Sutherland, 1995; Mantello, 2007b).

La homogenización imparte al helado una textura fina y suave, aumenta la viscosidad y facilidad del batido o de formación de la espuma, mejora notablemente la consistencia y las propiedades de fundido, proporciona un color más brillante y mayor resistencia a la oxidación (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003; Faner, 2005).

Los principales factores a considerar en el proceso son la presión, la temperatura (80°C para que el proceso sea más eficaz), ubicación del homogenizador (debe ubicarse detrás de la sección de pasteurización, de forma que el proceso pueda realizarse a la temperatura necesaria), tipo de válvula (tipo giratoria para que homogenice bien la mezcla) y la composición de la mezcla (Amiot, 1991).



#### 2.6.6 Refrigeración y maduración

Posterior a la pasteurización y homogenización, la mezcla se enfría en un intercambiador de placas hasta una temperatura de 4°C y se mantiene esa misma temperatura o a una temperatura de -2 a -4°C por un período de reposo o maduración de 4 a 24 horas antes de la congelación, evitando que transcurra más tiempo ya que puede producirse la alteración por microorganismos psicrótrofos (Amiot, 1991; Varnam y Sutherland, 1995).

Durante este tiempo se completa la hidratación de los estabilizantes y proteínas lácticas, así como también se lleva a cabo la cristalización de la grasa, mejorando la viscosidad de la mezcla, el cuerpo, cremosidad y estabilidad del producto final, permitiéndole de esta forma a la mezcla, absorber mejor el aire en su batido posterior para que el helado obtenido tenga mayor resistencia a derretirse (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003; Mantello, 2007b).

#### 2.6.7 Congelación y batido (incorporación de aire)

Esta etapa influye bastante en la calidad final del helado, debido a que mediante ella, se lleva a cabo la incorporación de un 40 a 100% de aire por agitación vigorosa de la mezcla para obtener un overrun (aumento porcentual de volumen) hasta conseguir el cuerpo deseado y la congelación rápida de hasta el 50% del agua de la mezcla, favoreciendo la formación de un gran número de cristales de hielo muy pequeños que no se perciben en la boca, los cuales confieren cremosidad y proporcionan una mejor textura al helado. La temperatura de esta operación está comprendida entre -4 y -18°C (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003; Badui, 2006).

#### 2.6.8 Adición de ingredientes de valor añadido

Los ingredientes empleados para preservar frescura y proporcionar sabor, deben añadirse siempre en frío y por lo general antes de la transformación del mix en helado. Durante esta etapa y después de la maduración, la mezcla es transferida a los congeladores y en algunos casos se añaden antes, en los propios maduradores o en un depósito intermedio, los colorantes, aromas y los pequeños trozos de fruta (Madrid y Cenzano del Castillo, 2003; Mundo Helado, 2009).



#### 2.6.9 Moldeado

La crema helada aún maleable a la salida del congelador, recibe su forma definitiva antes de ser congelada bien por moldeado-desmoldeado, introduciendo el producto en moldes (metálicos o plásticos, permanentes o desechables), desde los que se extrae después de congelarlo y antes de su envasado definitivo, o por llenado directo de los envases comerciales, las paletas reciben su forma por estos métodos (Luquet y Deveaux, 1993).

#### 2.6.10 Endurecimiento o congelación profunda

En esta etapa, se lleva a cabo el congelamiento total del agua restante que pasará a ser del 80-85%. Este nuevo hielo se forma sin agitación y con bastante lentitud (Amiot, 1991; Badui, 2006).

La temperatura del helado desciende hasta -18°C durante el endurecimiento, dicho proceso se puede llevar a cabo en una cámara a -20 ó -25°C, pero en la fabricación a gran escala es más frecuente la utilización de túneles de endurecimiento, que presentan la ventaja de que éste se lleve a cabo de forma rápida, se forman menos cristales grandes y se evita la fusión del producto. En estos túneles especiales, con una buena circulación de aire de -30 a -40°C, el endurecimiento del proceso puede completarse en 2-5 horas (Amiot, 1991; Varnam y Sutherland, 1995).

#### 2.6.11 Terminado y envasado

Terminado el endurecimiento, el helado puede ser bañado con chocolate u otro producto de confitería, añadiendo por ejemplo, frutos secos triturados, o combinando el helado de leche con helado de agua. Posteriormente ya terminado el helado se procede a envasarlo (Varnam y Sutherland, 1995; Kirk *et al.*, 2005).

#### 2.6.12 Embalado y paletización

El embalado se realiza por medio de líneas industriales clásicas. Las instalaciones recurren a almacenar el producto en pallets. La paletización debe efectuarse en condiciones tales que



no pueda producirse un calentamiento, con este fin, se puede llevar a cabo la paletización en cámaras frías generalmente a -25°C (Luquet y Deveaux, 1993; Gösta Bylund, 1995).

#### 2.6.13 Almacenamiento y distribución

El helado, durante su almacenamiento debe mantenerse a una temperatura constante, normalmente entre -25 y -30°C ya que las fluctuaciones producen la migración y acumulación de agua, así como la formación de grandes cristales en la recongelación. A esta temperatura, aproximadamente el 90% del agua del helado está en forma de cristales de hielo y el 10% restante, que contiene los azúcares y las sales, está congelado en forma amorfa; manteniéndose así estables los productos durante un período de 0 a 9 meses. Durante su distribución, temperaturas superiores, de -13 a -18°C, también resultan aceptables (Gösta Bylund, 1995; Varnam y Sutherland, 1995; Early, 2000).

#### 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 y Westhoff, 1993).

#### 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 y Westhoff, 1993).

Otro de los cambios que puede sufrir el helado es el proceso de recristalización en donde los cristales pueden sufrir cambios de tamaño, número y forma. Si la temperatura aumenta durante el almacenamiento, algunos de los cristales, particularmente los más pequeños, se



funden y de esta manera aumenta la cantidad de agua no congelada. Por lo contrario, cuando la temperatura disminuye, el agua no congelada vuelve a cristalizar pero no forma núcleos, sino que se deposita en la superficie de los cristales más grandes, disminuyendo así el número total de cristales y aumentando el tamaño promedio de los mismos (Mantello, 2007c).

La recristalización puede minimizarse manteniendo temperaturas bajas y constantes durante el almacenamiento del producto. Cuando la temperatura se mantiene entre -30 y -40°C (temperatura ideal), el helado puede permanecer estable por períodos casi indefinidos sin agrandamiento de los cristales de hielo. Cabe mencionar que la temperatura practicable estaría aproximadamente entre los -25 a -30°C. Por encima de esa temperatura los cristales de hielo pueden crecer y las burbujas de aire pueden expandirse, limitando la vida útil del producto con las mismas características físicas que al comienzo del congelamiento (Adapa *et al.*, 2000).

#### 2.7.2 Deterioro microbiológico

Los microorganismos en los alimentos son causa de su deterioro y pueden provocar enfermedad en el hombre. Los principales microorganismos causantes de enfermedades relacionadas con el consumo de helados, son *Salmonella ssp.* que origina infecciones; en menor cuantía *Staphylococcus aureus* que forma toxinas y esporádicamente *Shigella ssp.* y cepas enteropatógenas de *Escherichia Coli* y también *Listeria Monocytogenes* (Caballero, 2008; Cortés, 2010).

En el helado, uno de los deterioros microbiológicos más importantes es el causado por la sobrevivencia de microorganismos resistentes al congelamiento, especialmente *Listeria Monocytogenes*, algunas especies de *Lactobacillus* y levaduras; entre otros (Lake *et al.*, 2009).

El deterioro microbiológico del helado se relaciona con los diversos ingredientes utilizados como materia prima y aditivos, los cuales antes de congelar, son susceptibles a la



descomposición. Estas materias primas, principalmente aquellas ricas en proteínas, como los huevos y la leche, ofrecen a los microorganismos, en especial a la mayoría de las bacterias patógenas, la oportunidad para que se multipliquen rápidamente (Mantello, 2007e).

Diversos estudios sobre la microbiología del helado (Escobar y Rostro, 2008; Vizcaya *et al.*, 2009), 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, 2008; Luque, 2010).

Actualmente para verificar la calidad microbiológica de dicho producto, así como determinar el estado higiénico de las materias primas, personal, equipo y utensilios, se investigan microorganismos o grupos de éstos, conocidos como microorganismos indicadores, cuyo principal objetivo es revelar algún defecto durante su elaboración, y evaluar la calidad microbiológica de los alimentos, así como determinar la seguridad que ofrece el alimento al consumidor (Caballero, 2008; Cortés, 2010).

#### 2.7.2.1 Microorganismos indicadores en los helados

Entre los principales microorganismos indicadores presentes en los helados se encuentran bacterias mesófilas, coliformes totales y 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, 2008). Enseguida se detalla cada uno de los microorganismos que más destacan en los helados.



#### 2.7.2.1.1 Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA)

El recuento de BMA es utilizado para indicar la calidad microbiológica y sanitaria de los alimentos, así mismo permiten conocer si el producto ha estado expuesto a materiales o ambientes no estériles, indican si el control de temperatura, saneamiento durante el procesamiento, transporte y almacenamiento fue el adecuado. En situaciones particulares, un incremento en el contenido de BMA permite establecer que se ha violado una norma de trabajo de antemano considerada fundamental para resguardar la calidad sanitaria del alimento en cuestión (Spencer y Ragout de Spencer, 2001; Fernández, 2008).

#### 2.7.2.1.2 Organismos coliformes

Estos organismos involucran bacterias de hábitat típicamente intestinal, el más conocido de los microorganismos coliformes es la *Escherichia Coli*, presente en el contenido intestinal del hombre y animales, sin embargo, con frecuencia dichos organismos también se localizan en ambientes extraintestinales (Caballero, 2008). Son ampliamente utilizados como indicadores de calidad microbiológica del producto, de deficientes prácticas sanitarias en el manejo y fabricación de los alimentos. Así mismo, permiten evaluar la eficiencia de prácticas sanitarias e higiénicas del equipo y la calidad sanitaria del agua utilizada en las diferentes áreas del procesamiento de alimentos (NOM-113-SSA1-1994).

#### **2.7.2.1.3 Levaduras**

Al igual que los mohos, las levaduras pueden encontrarse formando parte de la flora normal de un alimento, o como agentes contaminantes y en los equipos sanitizados inadecuadamente. En los alimentos originan mal olor, alteran el sabor y el color en la superficie de los productos contaminados. Particularmente en los helados las levaduras presentes en los mismos proceden generalmente del ambiente o de algunas materias primas utilizadas como frutas diversas, jugos, etc. Su utilización como microorganismo indicador, permite verificar las inadecuadas prácticas sanitarias durante la producción y almacenamiento de los productos. (NOM-111-SSA1-1994; Madrid y Cenzano del Castillo, 2003).



#### 2.7.2.1.4 Mohos

Producen una variedad de micotoxinas, a las que el hombre tiene susceptibilidad, así como su capacidad para provocar infecciones e incluso, reacciones alérgicas en personas hipersensibles a los antígenos fúngicos (Pascual y Calderón, 2000), además generan olores y sabores desagradables en los alimentos. Su presencia en los helados, se asocia principalmente con inadecuados procedimientos de sanitización, o al igual que las levaduras, con la contaminación las materias primas y del ambiente, sin embargo, son destruidos fácilmente con la pasteurización (Cortés, 2010).

## 2.8 INFLUENCIA DE LAS BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA EN LA CALIDAD DEL PRODUCTO FINAL

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) son los principios básicos y las prácticas generales de higiene en la manipulación elaboración, envasado, almacenamiento, transporte y distribución de los alimentos para consumo humano, con el objeto de garantizar que los productos sean elaborados en condiciones sanitarias adecuadas y disminuyan los riesgos inherentes a la producción (Albarracín y Carrascal, 2005).

En la industria alimentaria, el desarrollo e implementación de las BPM asegura la inocuidad de los alimentos, generando un producto seguro e inocuo para los consumidores. Para asegurar la inocuidad de los alimentos las BPM establecen y clasifican todos los criterios higiénicos que debe cumplir una empresa productora de alimentos (Albarracín y Carrascal, 2005; Ávila y Silva, 2008). Esta clasificación es la siguiente:

- 1. Condiciones generales de las instalaciones y edificaciones
- 2. Equipos y utensilios empleados en el manejo y procesamiento de los alimentos
- 3. Requisitos generales que debe cumplir el personal manipulador de alimentos
- 4. Requisitos higiénicos para el proceso tecnológico de fabricación
- 5. Aseguramiento de calidad
- 6. Saneamiento de las instalaciones y equipos



 Condiciones de almacenamiento, distribución, transporte y comercialización (Ávila y Silva, 2008).

#### 2.8.1 Instalaciones y edificaciones

- Las instalaciones deben estar alejadas de focos de contaminación y contarán con una localización, accesos y alrededores limpios.
- El diseño y construcción de la empresa debe proteger los ambientes, aislándolos del exterior; las áreas de proceso deben estar separadas correctamente de tal manera que su distribución permita realizar operaciones de forma continua.
- Es necesario mantener buenos drenajes, de manera que no puedan contribuir a la contaminación de los productos por medio de infiltraciones, o de fango traído por los zapatos.
- Los patios y las vías internas deberán estar iluminadas, pavimentadas, libres de polvo y
  elementos extraños; tendrán desniveles hacia las alcantarillas para drenar las aguas, los
  drenajes deben tener tapas para evitar el paso de plagas. Estarán señalizados y
  demarcadas las zonas de parqueo, cargue, descargue, flujos de tráfico vehicular, zonas
  restringidas, etc.
- Es necesario tener una buena ventilación e iluminación en las instalaciones donde se realiza el proceso.
- Las paredes, techos, ventanas y puertas deben ser de material sanitario de fácil limpieza y desinfección. Las ventanas deben estar protegidas con malla.
- El área de proceso debe contar con área de lavamanos.
- Deben existir vestidores para guardar ropa y zapatos.
- La planta debe tener agua potable con suficiente presión y con tanque de almacenamiento, el cual debe ser lavado como mínimo cada 6 meses.
- Se debe disponer de instalaciones sanitarias separadas de las áreas de producción y dotadas de elementos para limpieza e higiene personal (papel higiénico, jabón, toallas desechables o secador de manos).
- Deben existir suficientes recipientes de material sanitario con tapa para recolectar la basura, la cual se separará de acuerdo a orgánica e inorgánica y deberá contarse con un



lugar adecuado para su disposición final (Obdulio y Amador, 2001; Albarracín y Carrascal, 2005).

#### 2.8.2 Equipos y utensilios

- Estarán construidos con materiales tales que sus superficies de contacto no transmitan sustancias tóxicas ni con olores y sabores que reaccionen con los ingredientes o materiales que intervengan en el proceso.
- Todo el equipo y utensilios que entren en contacto con los alimentos deben ser de material resistente a la corrosión, así como a repetidas operaciones de limpieza y desinfección, además deberán ser fáciles de armar y desarmar.
- Los equipos deben evitar la contaminación de los alimentos por lubricantes y combustibles.
- La empresa debe contar con un programa de mantenimiento de equipos e instrumentos que garantice el correcto funcionamiento (Riveros y Baquero, 2004).

#### 2.8.3 Personal manipulador de alimentos

- El personal debe someterse a un reconocimiento médico antes de desempeñar sus funciones en la manipulación de alimentos y cada vez que lo requiera.
- Debe utilizar uniformes adecuados y limpios para las operaciones a realizar (delantal, calzado cerrado, y cuando sea necesario, mascarilla, gorra, guantes y botas limpias y en buen estado).
- El personal deberá cumplir las reglas de higiene y comportamiento, lavar y desinfectar sus manos frecuentemente, mantener las uñas cortas, limpias y sin pintura, no usar maquillaje, perfume ni joyas durante el proceso.
- Así mismo debe tener prohibido fumar, correr o escupir, durante el proceso y dentro de las instalaciones de la planta (Riveros y Baquero, 2004; Albarracín y Carrascal, 2005).

#### 2.8.4 Proceso tecnológico

 La materia prima e insumos deben tener un manejo higiénico desde la recepción hasta la elaboración del producto.



- Todas las operaciones deben realizarse en condiciones sanitarias, las temperaturas deben ser adecuadas y los tiempos de espera controlados.
- Deberá evitarse la contaminación del alimento con materia extraña, equipos o utensilios sucios y operarios con deficiencias higiénicas (Albarracín y Carrascal, 2005).

#### 2.8.5 Aseguramiento y control de calidad

- La empresa debe contar con un sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP) para garantizar un producto inocuo.
- Es necesario que todos los procedimientos de la planta (manejo de alimentos, limpieza de la planta y operación de equipos y máquinas) se encuentren por escrito a manera de procedimientos operativos estandarizados (POES).
- Para asegurar la calidad, debe muestrearse cada lote y efectuar los análisis pertinentes en ese momento y durante los tres primeros días para observar las anormalidades del producto.
- La planta debe contar con un laboratorio de control de calidad interno o externo (Medina, 2000; Albarracín y Carrascal, 2005).

#### 2.8.6 Saneamiento de instalaciones y equipos.

- Los edificios y otras instalaciones físicas de la planta se mantendrán en buenas condiciones sanitarias para prevenir que los alimentos se contaminen.
- Los utensilios y equipos se lavarán y desinfectarán de manera que protejan los alimentos de la contaminación y los materiales para su empaque.
- Los detergentes y desinfectantes empleados en los procedimientos de limpieza y saneamiento estarán libres de microorganismos, serán seguros y eficientes para el uso al que están destinados, además deberán emplearse en concentraciones adecuadas.
- También debe contarse con un programa de control de plagas (Obdulio y Amador, 2001).



#### 2.8.7 Almacenamiento, distribución, transporte y comercialización

- El área de almacenamiento debe estar perfectamente limpia y desinfectada, con condiciones adecuadas de temperatura, humedad, ventilación, rotación de productos, almacenamiento sobre estribas y correcto etiquetado.
- Nunca debe almacenarse producto vencido o en mal estado y debe asignarse un lugar adecuado para las devoluciones.
- El transporte debe realizarse en vehículos refrigerados, estibados, limpios, desinfectados y con destinación exclusiva para el tipo de producto (Albarracín y Carrascal, 2005).



# Objetivos



#### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la calidad microbiológica de productos, superficies y ambiente; así como las propiedades fisicoquímicas de paletas elaboradas por una empresa del estado de Hidalgo, mediante técnicas oficiales establecidas en normas mexicanas e internacionales.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la calidad microbiológica de paletas (base agua y láctea), superficie y ambiente a través del recuento de bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales y mohos y levaduras de acuerdo a la normatividad sanitaria mexicana.
- Determinar las propiedades fisicoquímicas de paletas (base agua y láctea) mediante el análisis de su composición proximal, mineral y de ácidos grasos de acuerdo a técnicas oficiales establecidas.

# Material y métodos



#### 4. MATERIAL Y MÉTODOS

#### **4.1 MUESTRAS**

Para el análisis microbiológico, se analizaron 15 muestras de paletas de diferentes sabores, de los cuales 8 fueron de base agua y las restantes de base láctea. Así mismo se estudiaron superficies vivas e inertes y ambiente de las principales áreas de producción (tabla 5). Para el estudio fisicoquímico sólo se analizaron las paletas de base agua y base láctea.

Tabla 5. Muestras estudiadas

Paletas		Supe	Ambiente	
Componente principal	Sabor	Inertes	Vivas	
Base agua	Fresa	Empaquetadora	Manos de operarios	Empaquetadora
	Mango con chile	Congelador		Tubo transportador de helado
	Guanábana	Mesa de trabajo		Área de saborizantes
	Limón	Bote contenedor de mezcla para paleta		Área de moldeo
	Mango			
	Guayaba			
	Piña			
	Kiwi			
Base láctea	Nuez			
	Galleta			
	Fresa con nuez			
	Piñón			
	Napolitano			
	Coco			
	Fresa con			
	crema			

#### 4.1.1 Recolección y transporte de las muestras

El procedimiento para la toma, manejo y transporte de las muestras (excepto paletas) se realizó de acuerdo a la NOM-109-SSA1-1994.



#### **4.1.1.1 Paletas**

La toma y transporte de las paletas fue realizada por personal de la empresa. Una vez recibidas en el laboratorio, las muestras se congelaron hasta su análisis.

#### **4.1.1.2** Superficies inertes (equipos y utensilios)

El muestreo se realizó los días miércoles por la mañana, antes y durante la producción de paletas. Se recolectaron muestras de las superficies de equipos y utensilios en contacto con las materias primas, producto en proceso y producto final. El método utilizado fue el del hisopo (APHA, 1992), el cual consistió en colocar una plantilla o marco estéril de 10 x 10 cm de papel aluminio sobre la superficie a muestrear y con un hisopo previamente humedecido en un tubo de ensaye que contenía 9 mL de agua peptonada y 1 mL de Tween 80 (Hycel) se frotó de 3 a 4 veces (cada una en dirección opuesta a la anterior), asegurando el hisopado en toda el área delimitada por el marco (100 cm²). Finalmente el hisopo fue regresado a su respectivo tubo con la solución diluyente.

#### 4.1.1.3 Superficies vivas (manos de operarios)

El muestreo se realizó los días miércoles por la mañana, antes y durante la producción de paletas. Se tomaron muestras de las manos de 3 operarios implicados en el proceso, utilizando el método del enjuague (GTAMS, Resolución Ministerial Nº 461-2007/MINSA). Para ello se utilizó una bolsa estéril de polietileno que contenía 100 mL de agua peptonada, en la cual cada operador introdujo sus manos, una por una, hasta la altura de la muñeca y procedió a frotar enérgicamente los dedos, alrededor de las uñas y las palmas de sus manos durante 1 minuto. Posteriormente el operario retiró las manos de la solución y la bolsa se anudó, identificó y se colocó en otra bolsa estéril con la finalidad de evitar contaminación por un posible derrame.

#### **4.1.1.4** Ambiente

La recolección de muestras de ambiente se llevó a cabo los días miércoles por la mañana, antes y durante la producción. Se colocaron, por duplicado, cajas petri abiertas conteniendo agar para métodos estándar y agar dextrosa y papa; en cada uno de los sitios de muestreo



elegidos (sitios de las áreas de producción considerados de alto riesgo o críticos del proceso). Transcurridos 20 minutos de exposición, las cajas petri se taparon, se colocaron una sobre otra y se fijaron por las orillas con cinta adhesiva para evitar que se abrieran y se contaminaran.

Una vez recolectadas e identificadas las muestras de ambiente y de superficies vivas e inertes, se colocaron en una hielera que contenía cubos de hielo, distribuidos en la base y en los laterales con la finalidad de que durante el transporte la temperatura de almacenamiento no superara los 10°C.

#### 4.2 DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA

#### 4.2.1 Preparación de medios de cultivo y soluciones diluyentes

Los medios de cultivo y soluciones diluyentes utilizadas en el análisis microbiológico fueron de grado reactivo y se prepararon de acuerdo a las instrucciones del fabricante (tabla 6).

**Tabla 6.** Medios de cultivo y soluciones diluyentes

	Medio de cultivo	Marca	Tipo de recuento	
Medio de cultivo	Agar para Métodos Estándar (AME)	DIBICO	Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA) en placa	
	Agar de Bilis y Rojo Violeta (RVBA)	BD Dioxon	Microorganismos Coliformes Totales (CT) en placa	
	Agar Dextrosa y Papa (ADP)	DIBICO	Mohos y Levaduras (M y L)	
Solución diluyente	Agua Peptonada	BD Difco TM		
	Tween 80	Hycel		



#### 4.2.2 Preparación de muestras

#### **4.2.2.1 Paletas**

La preparación de la muestra se realizó de acuerdo a la NOM-110-SSA1-1994. Las muestras se descongelaron en refrigeración (4 a 8°C durante 18 horas), posteriormente se pesaron 10 g de cada muestra en una bolsa plástica estéril y se adicionaron 90 mL de diluyente estéril. La mezcla se homogenizó en un Stomacher-400 durante 1 minuto, constituyendo la dilución primaria a partir de la cual se realizaron cinco diluciones decimales transfiriendo 1 mL de la primera dilución en 9 mL del mismo diluyente, hasta llegar a la dilución  $10^{-6}$ .

#### 4.2.2.2 Superficies inertes (equipos y utensilios)

Las muestras se sembraron mediante el método de estría, utilizando el hisopo empleado en la recolección de cada una de ellas.

#### 4.2.2.3 Superficies vivas (manos del operario)

Las muestras tomadas de las manos de los operarios (contenidas en las bolsas de polietileno) se agitaron en un Vortex<sup>®</sup> (Yellow Line) durante un minuto (a las cuales se les consideró como dilución primaria), y a partir de ella se tomó 1 mL para realizar las diluciones consecutivas hasta llegar a la dilución 10<sup>-6</sup>.

#### **4.2.2.4 Ambiente**

Las placas expuestas a los ambientes bajo estudio, se sometieron a incubación durante los períodos de tiempo y temperaturas especificados para el análisis microbiológico correspondiente.

#### 4.2.3 Recuento de Bacterias Mesófilas Aerobias en placa

**Procedimiento:** El recuento de BMA se llevó a cabo de acuerdo a la NOM-092-SSA1-1994.



Se inoculó 1 mL de la primera disolución de la muestra (previamente agitada durante 1 minuto en el Vortex<sup>®</sup>) a una caja petri; para las demás diluciones se realizó el mismo procedimiento. Una vez que cada caja contenía 1 mL de la disolución correspondiente, se procedió a agregar a cada una de las cajas entre 12 y 15 mL de AME y se mezcló mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio cuidando que el medio no mojara la cubierta de las cajas, finalmente el medio se dejó solidificar y las cajas se incubaron en posición invertida (la tapa hacia abajo) durante 48 ± 2 horas a 35-37°C.

Para cada muestra se sembró el duplicado de cada una de las diluciones y se incluyeron cajas control conteniendo únicamente medio de cultivo y medio de cultivo más diluyente como testigos de esterilidad.

#### 4.2.4 Recuento de Coliformes Totales en placa

Procedimiento: El método empleado fue el descrito en la NOM-113-SSA1-1994.

Se inoculó 1 mL de la primera disolución de la muestra (previamente agitada durante 1 minuto en el Vortex®) a cada una de las cajas pertenecientes a esta dilución; se realizó lo mismo con las demás cajas de acuerdo a la dilución correspondiente. Una vez que cada caja contenía 1 mL de la disolución correspondiente, se procedió a agregar a cada una de las cajas entre 12 y 15 mL del medio previamente preparado y se mezcló hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio cuidando que el medio no mojara la cubierta de las cajas, se esperó hasta su solidificación y se agregó una sobrecapa del mismo agar, finalmente se dejó solidificar. Una vez solidificado el medio, las cajas se incubaron en posición invertida por 24 h a 35°C.

Para cada muestra se sembró el duplicado de cada una de las diluciones y se incluyeron cajas control conteniendo únicamente medio de cultivo y medio de cultivo más diluyente como testigos de esterilidad.

#### 4.2.5 Recuento de Mohos y Levaduras

**Procedimiento:** El método seguido fue el establecido por la NOM-111-SSA1-1994.

Se inoculó 1 mL de la primera disolución de la muestra (previamente agitada durante 1 minuto en el Vortex<sup>®</sup>) a cada una de las cajas pertenecientes a esta dilución y se realizó lo mismo con las demás cajas de acuerdo a la dilución correspondiente. Una vez que cada caja contenía 1 mL de la disolución correspondiente, se procedió a agregarle entre 12 y 15 mL del medio previamente preparado y se mezcló hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio, finalmente el medio se dejó solidificar y las cajas se incubaron en posición invertida por 5 días a 25°C.

Para cada muestra se sembró el duplicado de cada una de las diluciones y se incluyeron cajas control conteniendo únicamente medio de cultivo y medio de cultivo más diluyente, como testigos de esterilidad.

#### 4.2.6 Cálculo y expresión de resultados

#### 4.2.6.1 Bacterias Mesófilas Aerobias

Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a contar cada una de las placas que se encontraran en el intervalo de 25 a 250 colonias, usando el contador de colonias y el registrador (Felisa).

La expresión de resultados se llevó a cabo mediante el apartado 10 de la NOM-092-SSA1-1994.



#### **4.2.6.2** Coliformes Totales

Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a contar cada una de las placas que se encontraran en el intervalo de 15 a 150 colonias, usando el contador de colonias y el registrador (Felisa).

La expresión de resultados se llevó a cabo mediante el apartado 10 de la NOM-113-SSA1-1994.

#### 4.2.6.3 Mohos y Levaduras

Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a contar las colonias de cada placa después de 3, 4 y 5 días de incubación. Después de 5 días, se seleccionaron aquellas placas que contenían entre 10 y 150 colonias. Se consideraron los conteos de 3 y 4 días de incubación cuando algunas cajas mostraban crecimiento extendido de mohos o cuando era difícil contar colonias bien aisladas.

La expresión de resultados se llevó a cabo mediante el apartado 10 de la NOM-111-SSA1-1994.

#### 4.3 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

#### 4.3.1 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 volatiza 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).

Se mantuvieron a peso constante las charolas de aluminio (limpias y sin tocar), para lo cual se colocaron en la estufa de vacío a 65°C durante 4 horas. Una vez a peso constante se adicionó 5 g de muestra. Ésta se distribuyó de manera uniforme de tal modo que la humedad pudiera evaporarse fácilmente. Las charolas se introdujeron en la estufa de vacío a 65°C y permanecieron ahí hasta que el peso final fuera constante.

Cálculos: El porcentaje de humedad se calculó mediante la siguiente fórmula:

% Humedad = 
$$\frac{P_o - P_f}{m}$$
 x 100

Donde:

 $P_0$  = Peso de la charola con muestra antes del secado de la muestra (g)

P<sub>f</sub> = Peso de la charola con muestra después del secado de la muestra (g)

m = Peso de la muestra (g)

#### 4.3.2 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).

Se colocó de 2 a 3 g de muestra en crisoles previamente limpios, lavados y puestos a peso constante en una mufla a 550°C; los crisoles con las muestras se incineraron en parrilla de calentamiento (a su máxima temperatura), hasta observar la eliminación de todo el humo de la muestra, posteriormente, los crisoles se introdujeron en la mufla a 550°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se procedió a pesar los crisoles hasta obtener un peso constante.

Cálculos: El porcentaje de cenizas se calculó mediante la siguiente fórmula:

% Cenizas = 
$$\frac{P_c - P_s}{m}$$
 x 100

Donde:

 $P_c$  = Peso del crisol con cenizas (g)

 $P_s$  = Peso del crisol a peso constante (g)

m = Peso de la muestra (g)

#### 4.3.3 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<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y la formación de hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH) 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<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O), ácido ortofosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado, ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), fenolftaleína (C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>), verde de bromocresol (C<sub>21</sub>H<sub>14</sub>Br<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S), rojo de metilo (C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>), alcohol etílico (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH), sulfato de potasio (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 30%, hidróxido de sodio (NaOH) al 50%, ácido clorhídrico (HCl) 0.01 N y agua destilada.

**Mezcla digestiva:** Se pesó 3 g de sulfato de cobre pentahidratado (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) (el Cu actúa como catalizador) y se disolvió en 20 mL de agua destilada, se adicionó 50 mL de ácido ortofosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) y se procedió a disolver completamente. Posteriormente, se adicionó cuidadosamente por las paredes del recipiente que contenía la mezcla, 430 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado y se agitó la mezcla durante 30 minutos aproximadamente.

**Solución indicadora:** Se pesó 5g de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) y se disolvió en agua destilada. Se adicionó 35 mL de indicador A (100 mg de fenolftaleína (C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>) aforados a 100 mL con alcohol etílico (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH)) y 10 mL de indicador B (33 mg de verde de bromocresol (C<sub>21</sub>H<sub>14</sub>Br<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S) + 66 mg de rojo de metilo (C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) aforados a 100 mL con alcohol etílico (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH)). Esta mezcla se ajustó a un color café rojizo con ácido o álcali según se requiriera y se aforó a 1L con agua destilada.

**Procedimiento:** La determinación de proteína por el método Kjeldahl se llevó a cabo mediante el método 930.33 de la AOAC (1990).

**Digestión:** En un tubo de digestión se colocó 70 mg de muestra, 0.5 g de sulfato de potasio (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (para aumentar la ebullición) y 3 mL de mezcla digestiva. Los tubos se introdujeron en el digestor y se llevaron a 370°C por 15 minutos, transcurrido el tiempo,



cada tubo se retiró y se enfrió. Una vez fríos, se les adicionó 1.5 mL de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) al 30% y se volvieron a introducir en el digestor para alcanzar nuevamente  $370^{\circ}\text{C}$  y se mantuvieron así hasta el final de la digestión.

Los tubos se retiraron del digestor hasta que el contenido se observó completamente traslúcido, sin partículas negras en suspensión (indican materia orgánica no digerida). De igual manera, en forma simultánea se prepararon blancos sustituyendo la muestra por sacarosa o glucosa.

**Destilación:** La muestra previamente digerida, se transfirió al tubo de destilación y se colocó un matraz Erlenmeyer con 50 mL de solución indicadora, como recipiente de destilación. En este caso el destilador automático se programó para adicionar al contenido del tubo 60 mL de hidróxido de sodio (NaOH) al 50%, con un tiempo de destilación de 6 minutos al 60% de potencia de vapor.

**Titulación:** El contenido del matraz de recolección se tituló con ácido clorhídrico (HCl) 0.01 N hasta el vire de verde esmeralda a café rojizo.

Cálculos: El porcentaje de proteína se calculó mediante las siguientes fórmulas:

% Nitrógeno = 
$$(P - B) \times N \times meq \times 100$$

m

% Proteína = % Nitrógeno x F

Donde:

P = Volumen de HCl gastado en la titulación de la muestra (mL)

B = Volumen de HCl gastado en la titulación del blanco (mL)

N = Normalidad del HCl empleado en la valoración

meq = Miliequivalentes de nitrógeno (0.014)

m = Peso de la muestra (g)

F = Factor de conversión (6.38)



#### 4.3.4 Determinación de fibra cruda

**Fundamento:** La fibra cruda equivale a la pérdida por ignición, del residuo seco remanente después de la digestión de la muestra con ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 1.25% p/v e hidróxido de sodio (NaOH) al 1.25% p/v, bajo condiciones específicas.

**Equipo y material:** Estufa (Felisa), pinzas para crisol, cápsulas de porcelana, mufla (Ter lab), digestor de fibra (Labconco), parrilla de calentamiento, vasos de Berzelius (600 mL), dispositivo de filtración al vacío (matraz kitazato, embudo buchner, mangueras para vacío), tela de lino (del tamaño del diámetro del filtro) y embudos buchner.

**Reactivos:** Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 1.25% p/v, hidróxido de sodio (NaOH) al 1.25% p/v, antiespumante, alcohol etílico (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) y agua destilada.

**Procedimiento:** La determinación del contenido de fibra cruda se llevó a cabo mediante el método 962.09 de la AOAC (1990).

Se pesó de 2 a 3 g de muestra, se colocó en un vaso de Berzelius, se agregaron unas perlas de vidrio y unas gotas de antiespumante. Posteriormente, se adicionó cuidadosamente 200 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 1.25% p/v en ebullición y el vaso se colocó en el digestor (previamente caliente). Al cabo de 30 minutos de ebullición, el vaso se retiró, el contenido se filtró al vacío a través de la tela de lino y se lavó con agua destilada caliente hasta eliminar el ácido por completo (hasta que el lavado presentó pH neutro, aproximadamente después de la adición de 60 mL de agua). El residuo, junto con las perlas de vidrio, se transfirió al vaso de Berzelius y se le adicionó 200 mL de hidróxido de sodio (NaOH) al 1.25% p/v en ebullición, además de unas gotas de antiespumante; se colocó en el digestor y se dejó en ebullición por 30 minutos. Transcurrido este tiempo, el contenido del vaso se filtró al vacío como en el paso anterior, se lavó con agua caliente y se adicionó al residuo 25 mL de alcohol etílico (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) para eliminar una mayor cantidad de humedad. Este residuo se transfirió a una cápsula de porcelana a peso constante y se introdujo en la estufa



para su secado a 105°C. Una vez a peso constante, la cápsula con el residuo se colocó en la mufla para su calcinación a 550°C hasta peso constante.

Cálculos: El contenido de fibra cruda en la muestra, se calculó mediante la siguiente fórmula:

% Fibra cruda = 
$$\frac{P_s - P_c}{m}$$
 x 100

Donde:

 $P_s$  = Peso constante del crisol con el residuo seco (g)

P<sub>c</sub> = Peso constante del crisol después de la calcinación (g)

m = Peso de la muestra (referido a la muestra original) (g)

#### 4.3.5 Determinación de grasa por el método de 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 ácido sulfúrico 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%), centrífuga de Gerber (Gerber instruments Micro II) y baño María (Boekel Grant).

**Reactivos:** Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 90%, alcohol isoamílico ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH) y agua destilada.

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

Se pesó 5 g de muestra y se agregó al butirómetro, se adicionó 10 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) al 90%, 10 mL de agua y 1 mL de alcohol isoamílico ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), se procedió a tapar el butirómetro, se invirtió por lo menos dos veces para mezclar los componentes y se colocó en una centrífuga de Gerber a 1200 rpm durante 5 minutos, posteriormente el butirómetro se introdujo en baño María a 45°C por 5 minutos para que se estabilizara la muestra. Transcurrido este tiempo, directamente en la escala del butirómetro se tomó la lectura del porcentaje de grasa en la muestra.

#### 4.3.6 Determinación de carbohidratos

**Procedimiento:** Estos fueron calculados por diferencia.

**Cálculos:** El contenido de carbohidratos en la muestra, se calculó mediante la siguiente fórmula:

% Carbohidratos = 100 – (% Humedad + % Cenizas + % Proteína + % Fibra cruda + % Grasa)

#### 4.3.7 Determinación de ácidos grasos

**Fundamento:** La determinación de ácidos grasos se basa en la extracción y metilación de los mismos con trifluoruro de boro. Los ácidos grasos metilados son identificados y cuantificados mediante cromatografía de gases, en la cual se emplea un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar polar.



**Equipo y material:** Tubos de ensaye con tapón de rosca (20 mL) y (10mL), embudos de talle largo, pipetas Pasteur, pipeta graduada (10 mL) y (1 mL), puntas para micropipeta, micropipeta de 100 – 1000 μL (BRAND), centrifuga (Rolco S.R.L. CM 24), baño María (Boekel Grant), Vortex<sup>®</sup> (Yellow Line), congelador (FRIGIDAIRE) modelo MFCO7M3FW1, viales de 1 mL (SUPELCO), cromatógrafo de gases (GC) marca Perkin-Elmer, modelo Autosystem XL y columna capilar polar (SP TM -2560 75 m X 0.18 mm de d.i. X 0.14 μm de epf, de SupelcoTM).

**Reactivos:** Cloroformo-metanol (CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>OH) (1:2) (AR, JT Baker), cloroformo (CHCl<sub>3</sub>), agua destilada, trifluoruro de boro-metanol (BF<sub>3</sub>:MeOH) (12.5:100; v/v, Sigma-Aldrich), hexano (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), agua MilliQ saturada de hexano, diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) (RA, JT Baker), estándar de ácidos grasos (mezcla compuesta de 37 ésteres metílicos de ácidos grasos (MEAG), Supelco<sup>®</sup>).

**Procedimiento:** El método utilizado fue el de Bligh y Dyer (1959).

#### Preparación de la muestra

El perfil de ácidos grasos se determinó colocando 5 g de muestra en un tubo de ensayo, sometiéndola a una extracción con 3.75 mL de mezcla cloroformo-metanol (CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>OH) (1:2). Para la separación de los lípidos totales de la muestra, los tubos se agitaron en un Vortex<sup>®</sup> durante 1 minuto, posteriormente a cada tubo se le agregó 1.25 mL de cloroformo (CHCl<sub>3</sub>) y se agitaron de nuevo durante otro minuto, finalmente se añadió 1.25 mL de agua destilada y se agitaron 1 minuto más.

Terminada la agitación, los tubos se sometieron a centrifugación a 4,000 rpm durante 5 minutos, después la fase acuosa se desechó, se adicionó 5 mL de mezcla cloroformometanol (CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>OH) (1:2) y se procedió a agitar durante otro minuto para centrifugar nuevamente a 4,000 rpm durante 5 minutos.



Posteriormente, la grasa extraída fue colocada en un tubo de ensaye limpio y se tomó una alícuota de 500 µL, la cual se colocó en un tubo limpio para su posterior metilación.

#### Metilación de los ácidos grasos presentes en los lípidos totales

Para la obtención de los ésteres metílicos de ácidos grasos (MEAG) presentes, los tubos para metilación con los lípidos totales concentrados procedentes de las muestras, se sometieron a una transesterificación ácida (Metcalfe y Schmitz, 1961), añadiendo 1 mL de trifluoruro de boro- metanol (BF<sub>3</sub>:MeOH) (12.5:100; v/v, Merck<sup>®</sup>) y calentando los tubos en un baño termostatizado a 100°C.

#### Extracción de los MEAG

La extracción de los MEAG se llevó a cabo añadiendo 1 mL de hexano (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) y 1 mL de agua MilliQ saturada de hexano a los tubos de metilación los cuales se agitaron vigorosamente en un Vortex<sup>®</sup> durante 10 minutos. Después de la agitación se separaron dos fases: una inferior (acuosa) que extrajo las impurezas solubles en agua y otra superior (orgánica) en la cual se encontraban los MEAG. Con la finalidad de separar las dos fases completamente, los tubos se centrifugaron durante 10 min a 4,000 rpm. La fase inferior se retiró con la ayuda de una micropipeta con punta de Pasteur. A la fase remanente se le efectúo un segundo lavado con 2 mL de agua MilliQ saturada de hexano. Los tubos se agitaron nuevamente durante 10 minutos seguidos de una centrifugación a 4,000 rpm durante 10 min.

A continuación se retiró de nuevo la fase inferior y los tubos de metilación se mantuvieron en congelación durante 4 horas. De esta forma los restos de agua se congelaron permitiendo recuperar por completo la fracción orgánica al mantenerse ésta en estado líquido.

La fase orgánica conteniendo los MEAG se transvasó a un vial de inyección con capacidad de 1 mL con fondo en pico y se concentró con flujo de nitrógeno (N<sub>2</sub>) para evitar la oxidación de los mismos. El concentrado obtenido se redisolvió en 1 mL de diclorometano



(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), inyectándose 1 μL en el cromatógrafo de gases para identificar y cuantificar los ácidos grasos presentes en las muestras lipídicas.

#### Identificación y cuantificación de los MEAG

La cuantificación de los MEAG se realizó utilizando un cromatógrafo de gases (GC) marca Perkin-Elmer, modelo Autosystem XL equipado con un detector de ionización de llama (FID). Se empleó una columna capilar polar (SP TM -2560 75 m X 0.18 mm de d.i. X 0.14 µm de epf, de SupelcoTM), con un volumen de inyección de 1µL. El programa de temperatura de la columna fue: temperatura inicial de 150°C, aumento 4°C/min hasta 214°C, manteniendo esta temperatura durante 2 minutos, aumento 2.5°C/min hasta 244°C y manteniendo finalmente esta temperatura durante 5 minutos.

Se utilizó hidrógeno como gas portador a un flujo de 1 mL/min; con un tiempo total de corrida de 35 minutos. La identificación y cuantificación de los MEAG de las muestras se realizó por comparación con los tiempos de retención y áreas de un estándar de ácidos grasos metilados (mezcla de MEAG, Supelco®) respectivamente, el cual fue inyectado previo al análisis de las muestras.

#### 4.3.8 Análisis de minerales (Ca, Mg y P)

**Fundamento:** Los métodos espectroscópicos como la espectrofotometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) para la determinación de metales traza requieren de una mineralización de la muestra para remover la materia orgánica de los alimentos. Una de las técnicas utilizadas frecuentemente para la mineralización de las muestras de alimentos es la calcinación por vía seca, con la cual el rendimiento de la muestra es más alto y se requiere sólo de instrumental simple.

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



de plasma acoplado inductivamente (Perkin Elmer, Optima 3000 XL), matraces aforados, recipientes plásticos con tapa.

**Reactivos:** Ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) concentrado, ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) al 3%, estándares multielementales para la curva de calibrado en el análisis de muestras.

Los estándares multielementales de calibración (tabla 7), se prepararon mediante la dilución de soluciones estándar de Ca (1000 ppm, Perkin Elmer N9300108), Mg (1000 ppm, Perkin Elmer N9300131) y P (326.6 ppm). El estándar de P fue obtenido a partir de una solución de PO<sub>4</sub> (1001 ppm, Fluka No. 2314487).

Todos los estándares multielementales fueron preparados en una matriz nítrica al 3%.

P Solución estándar Ca Mg (mg/L) (mg/L) (mg/L) Blanco 0 0 0 2 0.2 1 10 20 4 0.4 3 30 6 0.6 4 40 8 0.8

**Tabla 7.** Composición de estándares multielementales

#### **Procedimiento**

#### Mineralización de las muestras

Para el análisis de los minerales, se colocó de 2 a 3 g de muestra previamente homogenizada en crisoles limpios, lavados y puestos a peso constante en una mufla a 550°C. Posteriormente, los crisoles con la muestra se sometieron a incineración en una parrilla de calentamiento (a su máxima temperatura), hasta la eliminación de todo el humo despedido por la muestra y se llevaron a la mufla a 550°C. Los crisoles se retiraron hasta obtener un peso constante.



Las cenizas obtenidas se redisolvieron agregando 10 mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) concentrado, se transfirieron a un matraz aforado y se llevaron hasta 50 mL con agua destilada. Las muestras mineralizadas, se transfirieron a un recipiente plástico con tapa, y se mantuvieron en refrigeración hasta su análisis.

### Análisis de minerales por Espectrofotometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES)

Para analizar los elementos requeridos, se utilizó un espectrofotómetro (Perkin Elmer, Optima 3000 XL) con las siguientes longitudes de onda 317.933 nm (Ca), 279.079 nm (Mg) y 213.618 nm (P) y con límites de detección teóricos de 0.01, 0.02 y 0.05 mg/L para Ca, Mg y P, respectivamente.

El primer paso para realizar la lectura de los minerales fue la elección de los elementos a analizar en el programa SpectrAA.880, posteriormente se procedió a leer los estándares multielementales para obtener la curva de calibración. Una vez que la curva estuvo lista se leyeron primero los blancos, seguido de la muestras.

**Nota:** Previo al análisis de las muestras, todo el material que tuvo contacto con la muestra, fue previamente lavado con una solución de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) al 3% durante 24 horas.

#### 4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el análisis proximal cada determinación se realizó por triplicado para que los resultados tuvieran validez estadística. Primeramente se calculó la media, la desviación estándar, posteriormente se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía y la prueba de comparación múltiple de Duncan con un 95% de confianza, el programa empleado para este análisis fue el programa STATGRAPHICS Centurion XVI.I.

# Resultados y discusión



#### 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 5.1 CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE PALETAS DE BASE AGUA Y DE BASE LÁCTEA

Los resultados del análisis microbiológico de las paletas de base agua y de base láctea fueron comparados con los límites máximos permitidos por la NOM-036-SSA1-1993 para helados de crema, de leche o grasa vegetal, sorbetes y bases o mezclas para helados. La utilización de esta norma fue debida a la falta de datos oficiales que regulen al producto terminado (paletas). Así también, los recuentos microbiológicos de las muestras analizadas fueron discutidos de acuerdo a algunos estudios realizados para helados o bases para helados dada la escasa información existente sobre análisis microbiológico para paletas.

Los resultados obtenidos del recuento de microorganismos indicadores de la calidad microbiológica de las paletas analizadas se presentan en la tabla 8.

Ninguno de los recuentos de bacterias mesófilas aerobias (BMA) para las paletas de base agua rebasó el límite máximo permitido (2.0 x 10<sup>5</sup> UFC/g) establecido en la NOM-036-SSA1-1993 (tabla 8). Las muestras que presentaron el recuento menor de BMA fueron las paletas de guayaba y fresa, mientras que la muestra con mayor recuento fue la de mango con chile. Lo anterior podría atribuirse a una mala calidad microbiológica del chile o de la fruta, al manejo higiénico inadecuado de la misma (lavado y desinfectado deficientes o ausentes) o a una contaminación cruzada proveniente de los operarios, utensilios y superficies utilizados durante la preparación de las paletas. Las cargas microbianas elevadas también se atribuyen a una baja calidad microbiológica del agua utilizada en el proceso (Fernández, 2008).

Los resultados obtenidos fueron inferiores a los reportados por Vizcaya *et al.*, (2009), para helados de agua no industriales elaborados en Venezuela. En dicho estudio, el 60% de las muestras analizadas rebasó el límite permitido por las normas internacionales y



del Comité Venezolano de Normas Industriales (COVENIN, 1986) para el análisis microbiológico.

**Tabla 8**. Resultados del análisis microbiológico para las paletas de base agua y de base láctea

Componente principal	Sabor	Bacterias Mesófilas Aerobias (UFC/mL)	Coliformes Totales (UFC/mL)	Levaduras (UFC/mL)	Mohos (UFC/mL)
	Fresa	75 VE*	<10	$4.8 \times 10^3$	$3.3 \times 10^{1}$
Base agua	Mango con chile	$1.3 \times 10^5$	$1.4 \times 10^4$	$1.4 \times 10^3$	$3.0 \times 10^2$
	Guanábana	$2.4 \times 10^3$	14 VE*	8.9 x 10 <sup>2</sup>	<10
	Limón	$4.2 \times 10^3$	<10	$3.6 \times 10^3$	1.4 x 10 <sup>1</sup>
	Mango	$5.6 \times 10^3$	$1.6 \times 10^2$	$8.0 \times 10^3$	$1.6 \times 10^2$
	Guayaba	50 VE*	4.6 x 10 <sup>2</sup>	5.1 x 10 <sup>2</sup>	<10
	Piña	$8.4 \times 10^2$	$2.6 \times 10^{1}$	$8.3 \times 10^2$	50 VE*
	Kiwi	$5.1 \times 10^2$	$7.5 \times 10^2$	$8.4 \times 10^3$	<10
Base láctea	Nuez	$1.8 \times 10^4$	$2.8 \times 10^2$	2.3 x 10 <sup>4</sup>	20 VE*
	Galleta	$1.9 \times 10^3$	30 VE*	$2.7 \times 10^3$	65 VE*
	Fresa con nuez	$4.1 \times 10^3$	$3.4 \times 10^2$	1.7 x 10 <sup>4</sup>	85 VE*
	Piñón	$1.7 \times 10^5$	$1.1 \times 10^2$	1.0 x 10 <sup>4</sup>	$2.0 \times 10^2$
	Napolitano	12 VE*	<10	$2.6 \times 10^2$	70 VE*
	Coco	$3.1 \times 10^5$	$2.4 \times 10^4$	2.6 x 10 <sup>4</sup>	$2.0 \times 10^{1}$
	Fresa con crema	$2.9 \times 10^2$	$1.5 \times 10^2$	$2.4 \times 10^3$	$2.1 \times 10^2$
LMP (UFC/g)		$2.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^2$	5.0 x 10 <sup>1</sup>	$5.0 \times 10^{1}$

VE = Valor estimado de acuerdo a la NOM-092-SSA1-1994 Cuando:

LMP (UFC/g) = Límite máximo permitido por la NOM-036-SSA1-1993

Con respecto al recuento de coliformes totales (CT), el 50% de las paletas de base agua bajo estudio superó el límite permitido (1.0 x 10<sup>2</sup> UFC/g) por la NOM-036-SSA1-1993. Estos resultados fueron consistentes con los reportados por diversos autores quienes encontraron del 20 al 60% de muestras de helados comerciales contaminadas con CT (Windrantz y Arias, 2000; Escobar y Rostro, 2008).

<sup>\*</sup> Las placas muestran cuentas de menos de las colonias según el tipo de recuento (apartado 10.1.3.1)

<sup>&</sup>lt;10: Placas sin colonias, se reporta la cuenta en placa como menor que el valor de la dilución más baja usada (apartado 10.1.4)



Las muestras que no presentaron crecimiento de CT fueron las de fresa y limón. Esto podría deberse a que el pH óptimo para el desarrollo de organismos coliformes es de 4 a 8.5 por lo que el bajo pH teórico de estas frutas (3.86 para fresa y 2.3 para limón) podría haber actuado como protección natural (Calvo *et al.*, 2004; Hein y Arena, 2005), impidiendo el crecimiento de este tipo de microorganismos en dichas muestras (Fernández, 2008).

Al igual que en el caso de las BMA, la muestra que presentó un mayor recuento de CT fue la de mango con chile (1.4 x 10<sup>4</sup> UFC/mL), lo anterior refuerza la posibilidad de que la fruta o el chile utilizados tuvieran una mala calidad microbiológica, un manejo higiénico inadecuado o bien, que pudo haber ocurrido una contaminación cruzada proveniente del equipo, utensilios, operarios o del agua utilizada en el proceso de elaboración. Cabe destacar que aunque la contaminación con coliformes frecuentemente se asocia con la contaminación fecal del agua con la que se riegan las frutas o el agua empleada durante el proceso, también es posible que provenga de otras fuentes (Consultora en Seguridad Sanitaria de Alimentos, 2007).

En cuanto al recuento de mohos y levaduras (M y L), el 100% de las muestras (para L) y el 25% (para M) sobrepasó el límite establecido por la NOM-036-SSA1-1993 (5.0 x 10<sup>1</sup> UFC/g) para bases o mezclas para elaborar helados de crema, de leche o grasa vegetal y sorbetes. La utilización de esta norma obedece al hecho de que se carece de parámetros oficiales para el producto terminado (paletas). Las cargas microbianas observadas, podrían deberse a las condiciones higiénicas de los ingredientes empleados en la elaboración del producto y del ambiente de preparación, a la deficiencia en la limpieza de los utensilios y probablemente a la inadecuada asepsia de los operarios (Rosales y Díaz, 2006).

Existen pocos estudios sobre recuentos de M y L para helados de base agua, sin embargo, los recuentos obtenidos fueron similares a los reportados por Vizcaya *et al.*, (2009) para helados de agua artesanales elaborados en Venezuela. Dicho autor mencionó que el 60% de las muestras analizadas sobrepasaron el límite permitido para



M y L de acuerdo a normas internacionales y del Comité Venezolano de Normas Industriales (COVENIN, 1986) para el análisis microbiológico.

En el análisis microbiológico de las paletas de base láctea, como era de esperarse, se obtuvo una mayor carga microbiana comparada con las paletas de agua. Lo anterior podría deberse a que su componente mayoritario es la leche o crema y estos ingredientes, por su origen, son susceptibles de contener un elevado número de microorganismos, lo que haría suponer un control deficiente de la calidad de la materia prima utilizada. Sin embargo, también existe la posibilidad de que factores tales como: otros ingredientes empleados, operarios, equipos y utensilios pudieran ser los causantes de la contaminación observada.

Para el recuento de BMA, el 14.3% de las paletas de base láctea sobrepasaron el límite máximo permitido (2.0 x 10<sup>5</sup> UFC/g) por la NOM-036-SSA1-1993. La muestra que presentó el menor contenido (12 VE) fue la paleta sabor napolitano, este resultado se atribuye al tipo y cantidad de ingredientes que contiene pues esta muestra, a diferencia de las demás paletas de base láctea analizadas, está elaborada con una pequeña cantidad de fruta y además no contiene frutos secos como nuez, piñón o coco, los cuales son una fuente rica en nutrientes para el crecimiento de microorganismos.

Los resultados obtenidos fueron diferentes a los reportados por Von Specht *et al.*, (1998) y Ávila y Silva (2008), quienes evaluaron la calidad microbiológica de helados producidos en Colombia, encontrando recuentos de BMA muy bajos (entre 102 y 104 UFC/g) por lo que ninguna muestra analizada sobrepasó el límite establecido por las técnicas descritas por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA).

En cuanto al recuento de CT, el 71.4% de las paletas superó el límite permitido (1.0 x 10<sup>2</sup> UFC/g) por la NOM-036-SSA1-1993. La muestra que presentó mayor crecimiento de coliformes fue la paleta de coco (2.4 x 10<sup>4</sup> UFC/mL), lo que podría derivar de la exposición de la muestra al medio ambiente, a personas enfermas o lastimadas, a una refrigeración insuficiente del producto, ausencia o deficiencia del calentamiento de la



mezcla, prolongados tiempos de reposo de la mezcla (no inmediato enfriamiento) o materias primas contaminadas (Bejarano y Silva, 2010).

Los resultados de CT observados en las paletas de base láctea fueron superiores a los reportados para helados comerciales y caseros o artesanales, donde del 50 al 100% de las muestras analizadas resultaron positivas, de las cuales el 50% de ellas sobrepasaron el límite de coliformes totales establecidos por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos (ICMSF/FAO, 1987) y la NOM-036-SSA1-1993 (Windrantz y Arias, 2000; Rosales y Díaz, 2006; Ávila y Silva, 2008; Escobar y Rostro, 2008).

Con respecto a M y L, se observó que un elevado porcentaje (100% para L y 28.6% para M) de las muestras analizadas superaron el límite permitido (5.0 x 10<sup>1</sup> UFC/g) por la NOM-036-SSA1-1993.

La paleta sabor napolitano, presentó un recuento menor de levaduras en comparación con las demás muestras analizadas, lo cual se atribuye a la mínima cantidad fruta empleada y además a la ausencia de frutos secos empleados en su composición, los cuales favorecerían el desarrollo de microorganismos. En la paleta de nuez, el recuento de mohos fue menor a todas las muestras, debido quizás al bajo contenido de humedad del componente mayoritario (nueces) que impediría que los mohos crecieran en las paletas.

Los recuentos de M y L de las paletas de base láctea analizadas fueron diferentes a los reportados por Romero (2000) quien encontró cargas de M y L prácticamente inexistentes en helados producidos en Honduras aunque fueron similares a los recuentos presentados por Rosales y Díaz (2006) en su estudio de la calidad microbiológica de helados caseros venezolanos, donde un elevado porcentaje de las muestras analizadas mostró contaminación por mohos y levaduras (87.5% y 65% respectivamente).

Cabe destacar que los resultados obtenidos fueron superiores a los encontrados por Cortés (2010) en bases para helados producidas por la empresa hidalguense que proveyó



las paletas para su análisis lo que permite suponer que las buenas prácticas de manufactura e higiene no se están aplicando de manera homogénea en la empresa lo que influyó directamente en la baja calidad microbiológica presentada por las muestras analizadas.

# 5.2 CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AMBIENTE EN EL ÁREA DE PRODUCCIÓN DE PALETAS

Los microorganismos patógenos y saprófitos pueden proceder del aire o del entorno por lo que en las industrias alimentarias se considera como una fuente importante de contaminación para los productos terminados (Fernández, 2008). Lo anterior explica la importancia de la determinación de la calidad microbiológica del ambiente del área de producción de las muestras bajo estudio para identificar el grado de desinfección y limpieza de las áreas que están en contacto directo con el producto final.

En la tabla 9 se presentan los resultados del análisis microbiológico del ambiente de las principales áreas de producción de la empresa que elaboró las paletas estudiadas.

**Tabla 9.** Análisis microbiológico del ambiente del área de producción de las paletas analizadas

Lugar de muestreo	Bacterias M Aerob (UFC/c	ias	Levaduras (UFC/caja)		Mohos (UFC/caja)		
	1	2	1	2	1	2	
Área de	50	9	30	75	75	13	
empaque							
Área de tubo	20	15	85	35	10	10	
transportador							
de helado							
Área de	60	34	830	25	90	15	
saborizantes							
Área de moldeo	100	40	70	61	25	4	

<sup>1 =</sup> Primer muestreo realizado

<sup>2 =</sup> Segundo muestreo realizado



Los reportes sobre la calidad del ambiente de empresas dedicadas a la elaboración de helados o paletas son escasos. Por lo anterior, los resultados obtenidos se discuten en relación a resultados reportados para ambiente de empresas del sector lácteo.

Los recuentos de BMA y M y L resultaron mayores en el primero de los dos muestreos realizados lo que demuestra la efectividad de la limpieza y desinfección de las diferentes áreas llevadas a cabo previo al segundo análisis.

Las áreas de moldeo y saborizantes fueron los sitios donde la carga de BMA fue mayor (40 a 100 UFC/caja y 34 a 60 UFC/caja respectivamente), el recuento de M y L fue superior en las áreas de saborizantes y área de tubo transportador de helado (15 a 830 UFC/caja y 10 a 85 UFC/caja). Lo anterior puede explicarse por las actividades realizadas en dichas áreas al momento del muestreo, ya que se observó que en tales sitios se llevaba a cabo la limpieza de los utensilios empleados en la elaboración del producto. Así mismo, se observó la presencia de charcos de agua anegada cercanos a las áreas muestreadas y se constató una limpieza ineficiente de la tubería de agua potable lo que sugiere la posibilidad de que el agua utilizada en el proceso tuviera una baja calidad microbiológica y ya que numerosas gotículas de agua se dispersaban al entorno, esto podría haber contribuido con los resultados obtenidos. De igual manera, se observó que la empresa cuenta con un sistema de control de plagas (de insectos o roedores) al que no se le da la utilidad e importancia adecuada, también se vio que el área de fabricación de los productos analizados se encontraba cerca de la entrada de carros de distribución del producto, donde se generaba, humo y polvo, lo cual representa una fuente importante de contaminación

Los recuentos observados para M y L fueron inferiores (excepto en los recuentos obtenidos en el área de saborizantes) a los reportados por Dávila *et al.*, (2006) en un estudio realizado para la evaluación microbiológica del ambiente de áreas correspondientes a las diferentes etapas del proceso de elaboración de queso tipo Gouda. En dicho estudio el recuento de M y L del ambiente por área de trabajo excedió el límite microbiológico (2.5 x 10<sup>2</sup> UFC/cm<sup>2</sup>) establecido por Barreiro (1992), en especial en las áreas de producción, salado, secado y empacado. En otro estudio sobre la



presencia de hongos en el aire de un cuarto de maduración de quesos equipado con aire acondicionado que mantenía una temperatura de 5±1 °C (Serra *et al.*, 2003) se detectaron niveles de entre 176 y 594 NMP hongos/m³ de aire en 3 sitios de muestreo. En general, la presencia de hongos en el ambiente de plantas procesadoras de alimentos sugiere condiciones deficientes de sanidad (Fernández, 2008).

Las cargas de M y L en este estudio, fueron superiores a los obtenidos por Cortés (2010) quien al determinar la calidad microbiológica del ambiente en el área de bases para helados de la empresa que proveyó las muestras analizadas, encontró que los recuentos para M y L fueron entre 1 y 40 UFC/caja.

Para la contaminación microbiana en el ambiente, Gómez y Durango (2008) establecen un límite permitido para áreas cerradas, el cual es de 15 UFC/15 minutos de exposición. Si se toma en consideración dicho parámetro, para los ambientes en el área de producción, el 75% de los recuentos de BMA y el 69% de los recuentos de M y L resultaron superiores al límite establecido.

Hedrick y Heldman (1969) observaron que al interior de las plantas procesadoras de productos lácteos, el contenido de microorganismos en el aire resulta afectado por la circulación de personas que transitan cerca de los sitios donde se encuentra instalado el muestreador. Además el uso de cajas de cartón para almacenar materias primas o productos terminados tiene un efecto significativo en la contaminación del aire dentro de las plantas de productos lácteos. También señalaron en orden decreciente las siguientes fuentes de aportación de microorganismos: tráfico humano, ropa del personal, polvo, aire exterior que rodea al edificio y sistemas de ventilación.

Por lo anterior sería recomendable colocar barreras entre cada uno de los ambientes de la empresa analizada, limitar el acceso a los mismos sin la debida protección (bata, botas de plástico, gorro, guantes y cubrebocas) y mantener aisladas las entradas que comunican la planta con el exterior así como implementar un programa periódico de saneamiento ambiental para la eliminación de microorganismos y sus esporas.



En cuanto a las áreas de empaque y de tubo transportador de helado, los resultados obtenidos de BMA fueron bajos en comparación con los de las otras dos áreas muestreadas (saborizantes y moldeo), mientras que las áreas de empaque y moldeo presentaron el menor recuento de M y L (comparadas con las áreas de saborizantes y tubo transportador de helado). Esto podría deberse a un mayor control de la higiene de las mismas, derivado de su contacto directo con el producto (como en el caso del área de empaque). Sin embargo, durante el segundo muestreo se observaron irregularidades tales como la presencia de objetos y equipos ajenos al área (franelas para asear pisos, escoba, empaques de paletas en desuso e incluso una televisión descompuesta) así como el piso sucio charcos de agua y ventanillas abiertas por lo que no sorprende haber obtenido recuentos de levaduras de 75 UFC/caja.

Las condiciones de higiene observadas en esta área resultan particularmente objetables y demandan una corrección inmediata debido a que el producto después de envasarse no recibe ningún tipo de tratamiento que destruya los microorganismos con los que se contamine en esta etapa del proceso.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el estudio del ambiente de las áreas de producción de las paletas, se deduce que las principales fuentes de contaminación provienen de la atmósfera natural, de la actividad de los trabajadores, del agua sucia encharcada en el piso (sucio en varias ocasiones) y de las gotas de agua dispersadas durante el saneamiento del equipo empleado en la producción de las muestras.

En México, no existen normas que consideren el análisis microbiológico del ambiente, sin embargo su estudio es de vital importancia, ya que permite conocer las condiciones higiénicas en las plantas procesadoras de alimentos e identificar fallas en la sanitización para posteriormente mejorar los procesos de desinfección y limpieza en el área de producción de los alimentos (Cortés, 2010).



#### **5.3 SUPERFICIES VIVAS**

Las manos de los manipuladores de alimentos son la vía de contaminación más frecuente y peligrosa de microorganismos y en numerosas ocasiones supone la principal fuente de transmisión de muchas Enfermedades Transmisibles por los Alimentos (ETA's). Por tal motivo, en la industria alimentaria es necesario cuidar al máximo la higiene personal, principalmente de las manos (Armada y Ros, 2007; Fernández, 2008). En la tabla 10 se presentan los resultados del análisis microbiológico realizado a las superficies vivas (manos de operarios).

Tabla 10. Resultados del análisis microbiológico de las manos de los operarios

Número de operario	Bacterias I Aero (UFC/n	bias		mes Totales manos)		duras manos)	Mo (UFC/r	hos manos)
	1	2	1	2	1	2	1	2
<b>O</b> <sub>1</sub>	1.7 x 10 <sup>5</sup>	1.6 x 10 <sup>5</sup>	$4.5 \times 10^2$	$3.0 \times 10^3$	$1.9 \times 10^3$	7.4 x 10 <sup>4</sup>	$2.3 \times 10^{2}$	$1.1 \times 10^2$
$O_2$	$3.2 \times 10^3$	$1.2 \times 10^{1}$	$8.0 \times 10^{1}$	$4.2 \times 10^2$	$4.5 \times 10^2$	$7.9 \times 10^4$	$1.2 \times 10^2$	$4.0 \times 10^{1}$
<b>O</b> <sub>3</sub>	$1.4 \times 10^6$	$4.6 \times 10^3$	$1.6 \times 10^2$	$2.0 \times 10^{1}$	$2.6 \times 10^5$	$5.7 \times 10^3$	$2.0 \times 10^3$	$1.0 \times 10^{1}$
LMP (UFC/cm <sup>2</sup> )	$<3 \times 10^3$	$<3 \times 10^3$	<1 x 10 <sup>1</sup>	<1 x 10 <sup>1</sup>	NE	NE	NE	NE

<sup>1 =</sup> Primer muestreo realizado

LMP (UFC/cm<sup>2</sup>) = Límite máximo permitido por la NOM-093-SSA1-1994

NE = No establecido por la NOM-093-SSA1-1994

Los resultados obtenidos de las cargas microbianas en los manipuladores que laboraban en la planta al momento del muestreo fueron elevados e inconsistentes. Todas las superficies vivas analizadas sobrepasaron el límite permitido por la norma NOM-093-SSA1-1994 para CT (<1 x 10¹ UFC/cm²) mientras que el 83% se encontró fuera del límite establecido para BMA (<3 x 10³ UFC/cm²). Dicha norma no contempla límites para el recuento de M y L en superficies vivas, sin embargo los recuentos obtenidos evidencian que los manipuladores no cuentan con buenos hábitos de higiene por lo que representan un riesgo potencial de transmisión de gérmenes al producto.

Los recuentos de BMA observados fueron superiores a los reportados para manipuladores de empaques para helados de base agua no industriales elaborados en

<sup>2 =</sup> Segundo muestreo realizado



Venezuela (Vizcaya *et al.*, 2009). En dicho estudio, los recuentos de BMA se encontraron sobre los límites tolerados por las Autoridades Alimentarias de Australia y Nueva Zelanda (ANZFA). De igual manera, los recuentos de CT obtenidos en el presente estudio resultaron superiores a los reportados por Arzú *et al.*, (2002) al evaluar el riesgo microbiológico en superficies vivas de manipuladores de un supermercado del noroeste argentino en el cual el 43% de las muestras bajo estudio resultaron positivas.

Los resultados obtenidos difirieron de los recuentos observados en un análisis similar, donde se determinó la carga microbiana en las manos de operarios dedicados a la producción de bases para helado, encontrándose que el 42% de las superficies vivas analizadas resultaron contaminadas por BMA, mientras que para CT todas las muestras estudiadas sobrepasaron el límite de CT establecido por la NOM-093-SSA1-1994 (Cortés, 2010).

Las cargas microbiológicas obtenidas de las manos de los operarios son alarmantes y representan un riesgo importante de contaminación cruzada. Además, evidencian hábitos higiénicos deficientes que se observaron durante el muestreo en la planta, tales como: el nulo o incorrecto lavado y desinfección de manos, toser, estornudar, hablar entre ellos mientras se encontraban laborando y en contacto directo con el producto (troceando manualmente algunos frutos secos o galletas que se agregan al helado para producir las paletas), rascarse la cabeza, tocarse la cara y en algunas ocasiones portar el uniforme, o partes de él, sucio (camisola, pantalón, delantal, cofia, cubre bocas y botas).

Así mismo, durante algunos muestreos se observó que los operarios no portaban guantes durante la manipulación del producto al momento de empaquetar, al cargar botes de base para helado (que algunas veces se encontraban sucios y apilados en la entrada principal del área de producción), costales de algunas materias primas o cajas de fruta empleados en la producción de las paletas. En caso de usar los guantes, éstos se encontraban sucios o en mal estado.

La mala calidad microbiológica observada en las superficies vivas analizadas pone de manifiesto la necesidad de efectuar un estudio microbiológico de las mismas,



encaminado a la determinación de bacterias patógenas así como implementar un programa de capacitación a los trabajadores sobre buenas prácticas de manufactura (BPM) e higiene.

#### **5.4 SUPERFICIES INERTES**

Las superficies que tienen contacto con los alimentos, son una fuente importante de contaminación por microorganismos, salvo que se implementen y lleven a cabo las BPM para obtener una higiene adecuada, la cual minimice dicha contaminación (Arzú *et al.*, 2002; Fernández, 2008).

En la tabla 11, se presentan los resultados del análisis microbiológico realizado a las superficies de algunos equipos y utensilios que se encuentran en contacto con materias primas y el producto final durante su elaboración.

Los recuentos microbiológicos obtenidos en algunas de las superficies de equipos y utensilios empleados en el área de producción de paletas fueron mayores en el primero de los dos muestreos realizados, lo que parece indicar que, a partir de los resultados del primer muestreo, el saneamiento de las superficies inertes se realizó con mayor cuidado.

A pesar de lo anterior, el 62.5% de las superficies inertes analizadas presentó recuentos de BMA fuera del límite permitido por la NOM-093-SSA1-1994 (<4 x 10<sup>2</sup> UFC/cm<sup>2</sup>), mientras que el 37.5% de las muestras sobrepasó los límites establecidos para CT (<2 x 10<sup>2</sup> UFC/cm<sup>2</sup>). Respecto al recuento de M y L, se obtuvieron valores bajos en general. La mayor carga de ambos microorganismos se observó en la mesa de trabajo (1.9 x 10<sup>3</sup> UFC de mohos/cm<sup>2</sup> y 1.6 x 10<sup>4</sup> UFC de levaduras/cm<sup>2</sup>) mientras que la empaquetadora también fue la superficie inerte que más levaduras presentó. Aunque la NOM-093-SSA1-1994 no establece límites para M y L, su determinación es importante ya que el simple contacto de un producto con superficies contaminadas propicia la transferencia de los microorganismos que aquel contenga (Fernández, 2008).



<b>Tabla 11.</b> Resultados de recuentos microbiológicos de superficies inertes	Tabla 11	. Resultados	de recuentos	microbio	lógicos	de supe	erficies inertes
---	----------	--------------	--------------	----------	---------	---------	------------------

Lugar de muestreo	Aero	Mesófilas obias C/cm <sup>2</sup> )	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	nes Totales C/cm²)	Levac (UFC	duras <sup>(</sup> /cm²)	Mo (UFC	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Empaquetadora	$4.3 \times 10^2$	$2.6 \times 10^3$	$3.5 \times 10^{1}$	$6.2 \times 10^{1}$	$1.4 \times 10^3$	$1.3 \times 10^3$	8.3 x 10 <sup>1</sup>	6
Congelador	$4.9 \times 10^2$	$1.0 \times 10^{1}$	$1.4 \times 10^3$	ND	$1.8 \times 10^2$	$3.0 \times 10^{1}$	$1.9 \times 10^2$	8
Mesa de trabajo	$1.9 \times 10^3$	ND	$5.5 \times 10^4$	ND	$1.6 \times 10^4$	2	$1.9 \times 10^3$	ND
<b>Bote contenedor</b>	$1.5 \times 10^3$	$1.6 \times 10^{1}$	$6.6 \times 10^3$	$2.3 \times 10^{1}$	$2.5 \times 10^{1}$	$9.8 \times 10^{1}$	$3.5 \times 10^{1}$	ND
de mezcla para								
paleta								
LMP (UFC/cm <sup>2</sup> )	$<4 \times 10^{2}$	$<4 \times 10^{2}$	$<2 \times 10^{2}$	$<2 \times 10^2$	NE	NE	NE	NE

<sup>1 =</sup> Primer muestreo realizado

LMP (UFC/cm<sup>2</sup>) = Límite máximo permitido por la NOM-093-SSA1-1994

NE = No establecido por la NOM-093-SSA1-1994

 $ND = No desarrollo/cm^2$ 

Los recuentos microbianos presentados por la empaquetadora se deben a que durante el muestreo, ambas superficies contenían restos de helado, los cuales son un excelente medio para el desarrollo de microorganismos, sobre todo si se dan las condiciones óptimas de temperatura. En cuanto a la mesa de trabajo, el material (granito) no es el más recomendado pues puede retener restos de materias primas si no se limpia adecuadamente. Una medida simple para reducir estos recuentos consiste en evitar, a lo largo de todo el proceso, la acumulación de restos de productos en los utensilios y equipos, sobre todo en las áreas a mayor temperatura (Bejarano y Silva, 2010) para ello es necesario lavar y desinfectar el equipo después de cada uso tan pronto como sea posible para evitar el desarrollo de microorganismos y si es preciso, desmantelarlo para que su higienización sea la correcta (Barreiro *et al.*, 1994). Por otro lado, sería recomendable que la mesa de trabajo fuera reemplazada por otra construida de material sanitario (por ejemplo acero inoxidable), para evitar que su superficie sea un reservorio de microorganismos y por ende una fuente de contaminación para el producto final.

No se encontraron reportes de estudios microbiológicos practicados a equipos o utensilios empleados para la elaboración de helados o paletas, sin embargo, los resultados obtenidos fueron superiores a los reportados por Cortés (2010) para BMA,

<sup>2 =</sup> Segundo muestreo realizado



CT y M y L de superficies de equipos y utensilios utilizados en la producción de bases para helado.

En general, las cargas microbianas obtenidas en las superficies inertes involucradas en el proceso de producción de las paletas analizadas permiten inferir falta de higiene y deficiencia en los procedimientos operacionales de limpieza, por lo que es necesario implementar un programa periódico de lavado y desinfección del equipo de procesado para evitar la contaminación del producto final.

# 5.5 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

#### 5.5.1 Análisis proximal de paletas de base agua y de base láctea

Los resultados obtenidos en el análisis proximal realizado a las muestras bajo estudio se muestran en la tabla 12.

#### **5.5.1.1** Humedad

El ANOVA realizado a las paletas de base agua indicó 6 grupos de medias estadísticamente diferentes; las muestras de guanábana y mango con chile así como, fresa y guayaba presentaron un contenido de humedad estadísticamente similar.

Los porcentajes de humedad determinados se encontraron entre el 66.33 y 76.16% (tabla 12), estos resultados concuerdan con el contenido de humedad (50.00-80.00%) establecido por Mejía y Sepúlveda (2001) para paletas de agua. La variación observada en el contenido de humedad de las muestras bajo estudio pudo estar influenciada por la cantidad y el tipo de fruta utilizada en su elaboración ya que al constituir el ingrediente principal, proporciona una cantidad de agua adicional al producto.

En cuanto a las paletas de base láctea, el análisis estadístico reveló 5 grupos de medias significativamente diferentes. Las paletas sabor piñón y coco así como fresa con crema y fresa con nuez presentaron un contenido de humedad similar.



**Tabla 12.** Resultados del análisis proximal de paletas de base agua y de base láctea (g/100 g muestra)

	Humedad	Cenizas	Proteína	Fibra cruda	Grasa	Carbohidratos
Paletas base agua						
Mango	$66.33 \pm 0.282^{a}$	$0.21 \pm 0.004^{cd}$	$1.01 \pm 0.002^{e}$	$0.63 \pm 0.001^{\rm f}$	ND	31.82
Guanábana	$70.05 \pm 0.742^{b}$	$0.26 \pm 0.013^{e}$	$0.52 \pm 0.018^d$	$0.03 \pm 0.001^{a}$	ND	29.14
Mango con chile	$70.42 \pm 0.436^{b}$	$0.54 \pm 0.029^{\rm f}$	$0.35 \pm 0.005^{\circ}$	$0.49 \pm 0.005^{\rm e}$	ND	28.20
Limón	$71.36 \pm 0.139^{c}$	$0.04 \pm 0.003^{a}$	$0.11 \pm 0.003^{a}$	$0.09 \pm 0.004^{b}$	ND	28.40
Piña	$72.41 \pm 0.237^{d}$	$0.17 \pm 0.014^{b}$	$1.64 \pm 0.101^{g}$	$0.34 \pm 0.021^{d}$	ND	25.44
Fresa	$74.74 \pm 0.351^{e}$	$0.21 \pm 0.011^{cd}$	$0.53 \pm 0.027^d$	$0.25 \pm 0.004^{c}$	ND	24.27
Guayaba	$75.19 \pm 0.015^{e}$	$0.23 \pm 0.006^{d}$	$1.15 \pm 0.051^{\rm f}$	$0.80 \pm 0.001^{g}$	ND	22.63
Kiwi	$76.16 \pm 0.402^{\rm f}$	$0.20 \pm 0.013^{c}$	$0.25 \pm 0.002^{b}$	$0.30 \pm 0.003^{d}$	ND	23.09
Paletas base láctea						
Nuez	$42.65 \pm 0.024^{a}$	$0.86 \pm 0.027^{b}$	$3.55 \pm 0.005^{\rm f}$	$8.82 \pm 0.081^{e}$	$9.01 \pm 0.007^{c}$	35.11
Galleta	$51.65 \pm 0.233^{b}$	$1.18 \pm 0.064^{d}$	$0.70 \pm 0.015^{a}$	$0.31 \pm 0.003^{a}$	$6.83 \pm 0.289^{a}$	39.33
Piñón	$53.82 \pm 0.228^{\circ}$	$1.07 \pm 0.025^{\circ}$	$4.21 \pm 0.021^{g}$	$3.22 \pm 0.144^{b}$	$12.17 \pm 0.289^{\rm f}$	25.51
Coco	$53.90 \pm 0.527^{\circ}$	$0.50 \pm 0.042^{a}$	$0.80\pm0.048^{b}$	$6.65 \pm 0.375^{d}$	$7.00 \pm 0.006^{a}$	31.15
Fresa con crema	$59.19 \pm 0.218^d$	$0.55 \pm 0.011^{a}$	$1.27 \pm 0.105^{\circ}$	$0.32 \pm 0.011^{a}$	$8.00 \pm 0.007^{b}$	30.67
Fresa con nuez	$59.46 \pm 0.055^{d}$	$0.88 \pm 0.012^{b}$	$1.53 \pm 0.065^{d}$	$3.62 \pm 0.005^{c}$	$10.50 \pm 0.707^{\rm e}$	24.01
Napolitano	$60.51 \pm 0.089^{e}$	$0.87 \pm 0.027^{b}$	$1.64 \pm 0.049^{e}$	$0.51 \pm 0.001^{a}$	$9.75 \pm 0.354^{d}$	26.72

Nota: Los datos indican valor medio mas desviación estándar

Superíndices diferentes en la columna indican diferencias estadísticamente significativas para un nivel de confianza del 95%

ND = No determinado debido a que se consideró un valor de 0% para el contenido de grasa en las muestras de base agua dada la naturaleza de la materia prima



El contenido de agua observado en este tipo de muestras estuvo entre el 42.65 y el 60.51% (tabla 12), la variación en el contenido de humedad se atribuye principalmente a la composición de cada una de las paletas analizadas. Con excepción de la paleta de nuez, los resultados obtenidos coinciden con el 50.00-60.00% de agua reportado por Monereo (2008) para helados a base de leche o crema.

Las paletas de nuez, galleta, piñón y coco presentaron un porcentaje de humedad inferior al de los otros 3 sabores analizados, fresa con crema, fresa con nuez y napolitano. Esto debido a la cantidad de frutos secos cuyo aporte de agua al producto en cuestión no es significativo. Por otra parte, las paletas sabor fresa con crema, fresa con nuez y napolitano presentaron un mayor porcentaje de humedad debido a la fresa empleada en su composición, la cual al igual que la mayoría de las frutas contiene aproximadamente entre 70.00 y 90.50% de agua (Gidón, 2003; Rodríguez y Simón, 2008).

En general, se puede decir que las paletas de base agua presentaron un mayor contenido de humedad que las de base láctea, esto se atribuye principalmente a que en el caso de las paletas de base agua este componente es el principal ingrediente para su elaboración además del contenido de agua que aporta la fruta adicionada.

La determinación de humedad en este tipo de alimentos es importante, ya que un elevado contenido de ésta influye en la velocidad de multiplicación de los microorganismos, provocando su descomposición y por lo tanto la pérdida de la calidad sanitaria de las paletas (NOM-116-SSA1-1994).

## **5.5.1.2** Cenizas

Aún cuando los helados a base de agua no contienen cenizas (Gösta Bylund, 1995), las paletas de base agua analizadas presentaron porcentajes entre 0.04 y 0.54% (tabla 12). Lo anterior se explica por la contribución de la fruta empleada en su formulación. El ANOVA realizado indicó diferencias significativas en el contenido de cenizas de las muestras analizadas mientras que la prueba de Duncan indicó la existencia de un grupo



de medias estadísticamente semejantes. El cual, lo conformaron las paletas sabor mango, fresa, kiwi y guayaba.

La paleta sabor mango con chile presentó el valor de cenizas más alto (0.54%) debido seguramente a su contenido de chile en polvo, ya que se sabe que cada 100 g de este ingrediente producen 8.53 g de cenizas en el alimento que lo incluye entre sus ingredientes (Healthaliciousness, 2008).

Con respecto a las paletas de base láctea, el ANOVA efectuado reveló que el contenido de cenizas fue significativamente diferente entre las muestras analizadas. Así mismo, la prueba de Duncan señaló que existieron 2 grupos de medias estadísticamente semejantes, el grupo uno lo constituyeron las paletas sabor coco y fresa con crema y el grupo dos las paletas sabor nuez, fresa con nuez y napolitano.

El porcentaje de cenizas observado en las muestras fue de 0.50 a 1.18% (tabla 12), valores similares a los encontrados en Sathe (1999) para helados (0.80 y 2.10%). La muestra que presentó el menor contenido de cenizas fue la paleta sabor coco (0.50%) debido posiblemente al menor contenido de fruto seco con respecto a las otras.

En general, el contenido de cenizas encontrado en las paletas de base agua fue inferior al de las de base láctea, esto debido a la composición de cada una de las muestras, principalmente al tipo de fruta o fruto seco adicionado y base con la que se realiza la paleta (láctea o acuosa).

#### 5.5.1.3 Proteína

Los porcentajes de proteína obtenidos en las paletas de base agua se encontraron entre 0.11 y 1.64% (tabla 12), lo cual coincide con lo reportado en la literatura, donde se establece que el contenido proteico en helados de agua es prácticamente insignificante alcanzando apenas el 1.00% (Monereo, 2008). Contrario a lo anterior, y como era de esperarse, las paletas de base láctea presentaron contenidos de proteína superiores, entre



0.70 y 4.21% (tabla 12), valores aproximados a los reportado por Di Bartolo (2005) para helados de leche o crema (1.00-6.00%).

El análisis estadístico realizado (ANOVA) indicó diferencias significativas en el contenido de este nutriente en todas las muestras analizadas. Sin embargo, en el caso de las paletas de base agua, la prueba de Duncan mostró contenidos similares entre las paletas sabor guanábana y fresa mientras que para las paletas de base láctea esta misma prueba reveló que no existían medias estadísticamente semejantes entre este tipo de muestras.

Las muestras que presentaron mayor contenido de proteína fueron las paletas de base láctea sabor piñón y nuez (4.21 y 3.55% respectivamente). Lo anterior se debe al aporte proteico de cada uno de estos ingredientes pues el piñón contiene un mayor contenido de proteína (13.00%) comparado con la nuez (11.20%) (O'Conor *et al.*, 2010).

Los porcentajes de proteína encontrados en las muestras provienen principalmente de la leche o productos lácteos empleados en la elaboración de las paletas, por lo que las proteínas contenidas en estos productos a pesar de estar presentes en baja concentración son de alto valor biológico, es decir, proteínas que contienen todos los aminoácidos considerados como esenciales. Adicionalmente, la incorporación de materias primas como los frutos secos puede aumentar de manera significativa el contenido proteico del producto (Di Bartolo, 2005; González, 2007).

#### 5.5.1.4 Fibra cruda

El porcentaje de fibra cruda que se obtuvo en el análisis de las paletas de base agua y de base láctea es la parte orgánica e insoluble formada por celulosas y lignocelulosas presentes en los tejidos vegetales, en este caso proveniente de la fruta fresca o seca presente en cada una de las muestras (Primo, 1997).

Con respecto a las paletas de base agua, el análisis estadístico realizado (ANOVA y la prueba de Duncan) mostraron que el contenido de fibra fue significativamente diferente



en todas las muestras analizadas, a excepción de los sabores kiwi y piña cuyas medias fueron estadísticamente semejantes. El porcentaje de fibra determinado en este tipo de paletas se encontró entre 0.03 y 0.80% (tabla 12). Tales resultados se debieron al elevado contenido de fruta adicionada a las paletas pues se estima que los helados de agua sólo realizan un pequeño aporte de fibra o algunos micronutrientes si están elaborados con un mínimo de 30.00% de fruta o jugo (González, 2007).

El mayor contenido de fibra se observó en la paleta sabor guayaba lo cual era de esperarse ya que es una fruta con un alto contenido de este nutriente (5.20 g/100 g), por otra parte, la paleta sabor guanábana fue la que presentó el menor contenido de fibra, lo cual también resultó lógico puesto que es la fruta que posee una menor cantidad de fibra (0.79 g/100g) comparada con las otras frutas con las que estuvieron elaboradas las paletas analizadas (Palomar, 2004; FAO, 2006).

En las paletas de base láctea, el análisis estadístico indicó que existen 5 grupos de medias estadísticamente diferentes. Las paletas sabor galleta, fresa con crema y napolitano fueron las muestras que, de acuerdo a la prueba de Duncan, presentaron medias estadísticamente semejantes. Los porcentajes de fibra presentados por este tipo de muestras estuvieron entre el 0.31 y 8.82% (tabla 12), los cuales se infiere fueron aportados principalmente por los frutos secos ya que contienen entre 8.00 y 12.00 g/100g de fibra total (Gil, 2010). Lo anterior se corroboró con el hecho de que las paletas en cuya composición se incluían dichos ingredientes presentaron mayores contenidos de fibra.

#### 5.5.1.5 Grasa

El porcentaje de grasa de las paletas de base agua no se determinó debido a la naturaleza de la materia prima y a que en su elaboración generalmente no se emplean grasas (Varnam y Sutherland, 1995; Monereo, 2008).

En cuanto a las paletas de base láctea, los porcentajes de grasa encontrados oscilaron entre 6.83 y 12.17 % (tabla 12). El ANOVA realizado indicó que los resultados



encontrados para este nutriente, difiere significativamente en todas las muestras analizadas. Por su parte, la prueba de Duncan mostró que estadísticamente no existió diferencia significativa entre las paletas sabor galleta y coco.

El contenido graso de este tipo de alimentos es muy variable, debido a la naturaleza de la grasa que contienen y también a la grasa aportada por los frutos secos u otros ingredientes que puedan encontrase en los productos, como lo demuestra el caso de la paleta sabor piñón, la cual presentó el mayor porcentaje de grasa (12.17%). Los resultados encontrados fueron inferiores a los porcentajes de grasa para helados de leche y de crema (<5.00 y 14.80% respectivamente) encontrados en la literatura (González, 2007), sin embargo, el contenido de grasa para los llamados simplemente helados (12.50%) coincide con los obtenidos en este estudio, los cuales normalmente poseen grasas hidrogenadas, además de proteínas lácteas, leche descremada en polvo o leche entera.

En un estudio realizado con helados stracciatella (helados cremosos con trozos de chocolate, generalmente consumidos en Italia) se encontró que el contenido de grasa de helado de crema fue de 13.40%, mientras que para los helados de leche fue del 12.00% y alrededor de un 8.00% en otros denominados simplemente helado, siendo esta grasa mayoritariamente (65.00-90.00%) saturada, la menos saludable (Consumer Eroski, 2005). Lo anterior supone que los helados que poseen grasa láctea son de mayor calidad comparados con los obtenidos a partir de grasas vegetales, los cuales por sus grasas altamente saturadas podrían poner en riesgo la salud del consumidor si se consumen en exceso; a pesar de estos datos, a este tipo de helados se les considera de calidad aceptable (Varnam y Sutherland, 1995).

#### 5.5.1.6 Carbohidratos

El contenido de carbohidratos (calculados por diferencia) de las muestras de paletas de base agua y de base láctea se muestran en la tabla 12.



Las paletas de base agua presentaron de 22.63 a 31.82% de carbohidratos. Los 8 sabores analizados mostraron que los azúcares fueron el segundo componente alimentario en estos productos, siendo tales carbohidratos provenientes del azúcar de las frutas, la cual en algunos helados puede variar entre 22.00 y 30.00% según el tipo y cantidad de fruta empleada (Mantello, 2008). Otro azúcar que también contribuyó con los resultados obtenidos es la sacarosa granulada o líquida (ingrediente ampliamente utilizado en la elaboración de paletas de este tipo), la cual puede representar del 60.00 al 100.00% del azúcar total del producto y que en muchas ocasiones suele sustituirse por dextrosa o jarabe de maíz (Amiot, 1991; ASHRAE, 2006).

En un estudio realizado por la PROFECO (2008), se determinó el contenido y tipo de azúcares presentes en 15 marcas de golosinas y bebidas congeladas (de base agua) de diferentes sabores, encontrándose contenidos entre el 8.00 y 17.00%, valores inferiores a los observados en las paletas de base agua analizadas.

Por otra parte, el contenido de carbohidratos encontrado en las paletas de base láctea fue de 24.01 a 39.33%. La muestra sabor galleta fue la que presentó el mayor porcentaje de carbohidratos en su composición, lo que hace suponer que en este tipo de muestra, este ingrediente aportó una cantidad significativa de este nutriente debido a la presencia de hidratos de carbonos tanto en la galleta como en el relleno de la misma.

El aporte de glúcidos en las muestras analizadas, corresponde a la lactosa y a otros empleados en su formulación como lo es la sacarosa y a veces jarabe de glucosa o dextrosa. De acuerdo a Monereo (2008), dichos carbohidratos se encuentran presentes en los helados base láctea cuyo contenido oscila entre 20.00 y 40.00%. La presencia de lactosa en estos alimentos (4.00 a 6.00%) tiene connotaciones positivas ya que la lactosa es beneficiosa para la flora intestinal y favorece la absorción del calcio.

Actualmente no se cuenta con información sobre investigaciones similares al estudio realizado para helados de base láctea, sin embargo, en el caso de los helados donde se incorporan frutos secos u otros ingredientes de valor añadido, aumenta el porcentaje de



hidratos de carbono; por lo que el valor energético también se eleva razón por la cual este tipo de productos no debe consumirse en exceso (González, 2007).

# 5.5.2 Ácidos grasos

Los resultados del perfil cromatográfico y cuantificación de ácidos grasos presentes en las paletas de base láctea analizadas se muestran en la tabla 13. Dada la metodología empleada no fue posible estimar el contenido de ácido butírico (C4:0) en las muestras analizadas, debido a que dicho ácido graso eluyó al mismo tiempo que el disolvente, es decir diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). La figura 2 muestra el cromatográma del estándar de ácidos grasos empleado para su cuantificación. Los cromatográmas obtenidos para las paletas estudiadas se presentan como anexos.

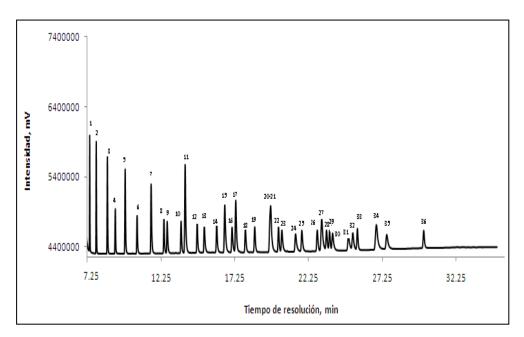


Figura 2. Cromatográma de la mezcla de 37 MEAG (estándar de 10 mg/mL). Ácidos grasos detallados: 1 (C6:0), 2 (C8:0), 3 (C10:0), 4 (C11:0), 5 (C12:0), 6 (C13:0), 7 (C14:0), 8 (C14:1), 9 (C15:0), 10 (C15:1), 11 (C16:0), 12 (C16:1), 13 (C17:0), 14 (C17:1), 15 (C18:0), 16 (C18:1n9t), 17 (C18:1n9c), 18 (C18:2n6t), 19 (C18:2n6c), 20 (C20:0), 21 (C18:3n6), 22 (C18:3n3), 23 (C20:1), 24 (C21:0), 25 (C20:2), 26 (C20:3n6), 27 (C22:0), 28 (C20:3n3), 29 (C22:1n9), 30 (C20:4n6), 31 (C23:0), 32 (C22:2), 33 (C20:5n3), 34 (C24:0), 35 (C24:1) y 36 (C22:6n3)



Tabla 13. Ácidos grasos presentes en paletas de base láctea (media y desviación estándar de tres réplicas expresados como mg/100 g)

Ácido graso				Muestra			
	Napolitano	Fresa con nuez	Coco	Fresa con crema	Galleta	Piñón	Nuez
C8:0	60.00 ± 1.542 <sup>b</sup>	81.15 ± 3.085°	205.92± 6.789 <sup>d</sup>	227.57 ± 2.297 <sup>e</sup>	ND	$25.88 \pm 0.948^{a}$	ND
C10:0	86.68 ± 2.331 <sup>d</sup>	$85.03 \pm 3.708^d$	213.96 ± 9.714e	$215.78 \pm 6.559^{e}$	$32.19 \pm 1.922^{b}$	64.61 ± 0.292°	$23.49 \pm 0.451^{a}$
C12:0	708.00 ± 17.891°	$526.02 \pm 25.070^{d}$	$1133.29 \pm 41.224^{\rm f}$	$1252.48 \pm 62.338^{g}$	81.31 ± 2.624 <sup>b</sup>	187.59 ± 4.967°	$64.59 \pm 3.866^{a}$
C14:0	363.86 ± 17.562 <sup>e</sup>	$322.71 \pm 13.054^{d}$	$598.37 \pm 26.198^{\mathrm{f}}$	$575.77 \pm 28.418^{\mathrm{f}}$	$148.80 \pm 6.744^{b}$	279.35 ± 11.324°	$86.14 \pm 2.761^{a}$
C16:0	2759.42 ± 134.152°	$2290.71 \pm 97.188^{d}$	1875.11 ± 68.053°	1493.73 ± 41.110 <sup>a</sup>	1685.58 ± 37.373 <sup>b</sup>	2736.23 ± 64.477 <sup>e</sup>	$2367.03 \pm 88.327^{d}$
C18:0	555.82 ± 5.614 <sup>e</sup>	$458.27 \pm 4.167^{d}$	367.63 ± 2.831°	$343.03 \pm 9.632^{b}$	564.83 ± 17.659°	$688.14 \pm 3.379^{\rm f}$	$288.84 \pm 10.410^{a}$
C18:1n9t	$179.36 \pm 8.920^{b}$	$235.99 \pm 9.870^{\circ}$	$110.03 \pm 3.805^{a}$	$164.94 \pm 7.901^{b}$	$266.82 \pm 11.793^{d}$	384.89 ± 17.654 <sup>e</sup>	$107.96 \pm 7.238^{a}$
C18:1n9c	$4261.21 \pm 46.108^{\rm f}$	$5812.63 \pm 215.913^{g}$	$1955.08 \pm 71.405^{\rm a}$	2786.27 ± 124.410 <sup>b</sup>	3150.16 ± 99.170°	$3245.66 \pm 96.186^{d}$	3677.07 ± 123.840°
C18:2n6t	175.46 ± 5.871 <sup>b</sup>	1095.29 ± 40.123°	141.73 ± 4.251 <sup>a</sup>	$170.65 \pm 4.665^{b}$	187.95 ± 7.418 <sup>b</sup>	3370.35 ± 6.941 <sup>e</sup>	$1696.56 \pm 42.544^{d}$
C18:2n6c	ND	ND	ND	ND	ND	$752.30 \pm 19.069^{b}$	$153.59 \pm 5.002^{a}$
Ácidos grasos saturados (AGS)	4533.78	3763.89	4394.28	4108.36	2512.71	3981.8	2830.09
% AGS	49.55	36.34	66.57	56.82	41.07	33.56	33.43
Ácidos grasos insaturados (AGI)	4616.03	6593.91	2206.84	3121.86	3604.93	7883.45	5635.18
% AGI	50.45	63.66	33.43	43.18	58.93	66.44	66.57
Ácidos grasos trans (AGT)	354.82	781.28	251.76	335.59	454.77	3755.24	1804.52
% AGT	3.88	7.54	3.81	4.64	7.43	31.65	21.32
Total de	9149.81	10357.8	6601.12	7230.22	6117.64	11865.25	8465.27

Superíndices diferentes en la fila indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95% de confianza ND = No detectado



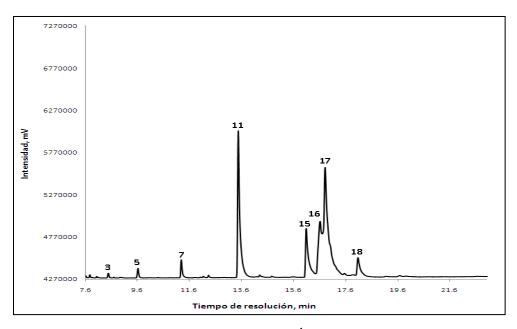
Los porcentajes de ácidos grasos en las muestras analizadas se encontraron en un rango de 6.12 a 11.87%, aunque todas las paletas presentaron un perfil de ácidos grasos similar, la proporción de cada uno de ellos fue significativamente diferente (tabla 13). Esto aunado a la ausencia de los ácidos linoleico (C18:2n6c) y caprílico (C8:0) en algunas de ellas podría indicar que en la elaboración de las paletas, dependiendo del sabor, la base utilizada fue una combinación de diferentes proporciones de grasa láctea y vegetal. Esto último confirmado por la alta proporción de ácido palmítico (C16:0) y la presencia de ácido elaídico (C18:1n9t).

Por otro lado, el mayor contenido de ácidos grasos trans (AGT) se observó en las paletas sabor piñón y nuez (31.65 y 21.32 %, respectivamente). Siendo el ácido linolelaídico (C18:2n6t) el ácido graso trans predominante al igual que en la paleta sabor fresa con nuez. Lo anterior indica que la base utilizada en la elaboración de estas muestras en particular contenía una importante proporción de grasa láctea. Estos resultados concuerdan con lo reportado en el estudio realizado por Griguol *et al.*, (2003), donde se reportó la presencia de grasas trans (0.50 a 20.60%) en helados de base láctea; en todas las muestras analizadas en dicho estudio el AGT mayoritario fue el C18:2n6t y C18:1n9t.

La naturaleza de la materia prima utilizada para proporcionar el sabor de cada paleta influyó de manera importante en el tipo y contenido de ácidos grasos. En este sentido, las paletas en cuya elaboración se emplearon frutos secos, tales como el piñón y la nuez, presentaron un perfil de ácidos grasos más saludable por la mayor proporción de ácidos grasos insaturados comparado con las paletas sabor coco, fresa con crema, napolitano y galleta cuya proporción de ácidos grasos saturados fue superior.

La figura 3 muestra el cromatográma del perfil de ácidos grasos de la paleta sabor galleta, la cual presentó una elevada cantidad de C18:1n9t. Debido a que en el proceso de elaboración en este tipo de galletas se utiliza grasa vegetal parcialmente hidrogenada (BANTRANSFATS, 2003). Por lo que sería conveniente verificar las materias primas empleadas en la elaboración de paletas.





**Figura 3.** Cromatográma de la paleta sabor galleta. Ácidos grasos detallados: **3** (C10:0), **5** (C12:0), **7** (C14:0), **11** (C16:0), **15** (C18:0), **16** (C18:1n9t), **17** (C18:1n9c) y **18** (C18:2n6t)

Los resultados obtenidos representan un avance importante en el estudio de la composición de AGT en paletas de base láctea, ya que no existen muchos datos al respecto. Aunado a lo anterior, la presencia de AGT en las paletas estudiadas resalta la importancia de continuar realizando investigaciones en este campo puesto que ciertos tipos de AGT son perjudiciales para la salud, debido a que se han relacionado con el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2 y obesidad (Alonso *et al.*, 2002; Willett *et al.*, 2007; Monroy, 2009).

En México, la SSA (Secretaria de Salud) recomienda a través de NOM-043-SSA2-2005 reducir el consumo grasas y AGT, con el fin de prevenir enfermedades cardiovasculares. En este sentido, en el 2008, la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos) estableció que todos los alimentos que incluyen AGT e su contenido, deberían declararlo en la etiqueta. (Griguol *et al.*, 2007; Monroy, 2009).

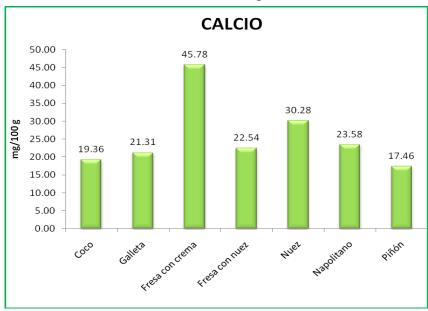


#### 5.5.3 Minerales

Por su riqueza en ingredientes como la leche, fruta, frutos secos, entre otros; los helados aportan un contenido importante de sales minerales indispensables para la vida en la dieta de los consumidores (Di Bartolo, 2005).

En los apartados posteriores se presentan los resultados obtenidos de la determinación de Ca, Mg y P en las paletas de base láctea.

#### 5.5.3.1 Calcio



Gráfica 3. Contenido de calcio en paletas de base láctea

Las paletas de base láctea analizadas en este estudio presentaron un contenido de calcio entre 17.46 y 45.78 mg/100 g (gráfica 3). Dichos valores están por debajo de lo reportado por Madrid y Cenzano del Castillo (2003) para helados (80.00 a 138.00 mg/100 g). Las muestras que presentaron la mayor concentración de calcio fueron las paletas sabor fresa con crema, nuez y napolitano (45.78, 30.28 y 23.58 mg/100 g respectivamente).



Los contenidos de calcio obtenidos, probablemente fueron debidos a la cantidad de leche y al suero en polvo contenidos en la base láctea de su formulación (Bastian, 2008). Así como a otros productos tales como frutas, frutos secos, cocoa (en el caso de la paleta sabor napolitano) y algunos otros ingredientes de valor añadido (como la galleta en la paleta del mismo sabor), donde las concentraciones de calcio en dichas muestras fueron 23.58 y 21.31 mg/100 g respectivamente.

El ser humano irregularmente consume este tipo de productos, cuando lo hace es sólo para satisfacer sus antojos y refrescarse un poco. Los helados son un alimento rico en nutrientes sin embargo, no cubre el requerimiento diario de calcio recomendado (1000.00-1200.00 mg) (Porras, 2009), aunque cuando estos se ingieren el contenido mineral se incrementa con el consumo de alimentos adicionales ricos en calcio.

Diferentes estudios realizados (Cook y Friday, 2003; Silva y Valverde, 2010) han demostrado que los productos lácteos son fuentes importantes de calcio con alta biodisponibilidad debido a su contenido de lactosa, a la relación Ca/P y al complejo calciocaseína presentes en ellos, sin embargo, el consumo de los alimentos analizados en este estudio no son fuentes ricas en calcio y además su valor energético es elevado. Los investigadores han puesto en evidencia que el consumo de este mineral a través de los lácteos, contribuye a reducir el riesgo de osteoporosis, presión arterial alta, cáncer de colon y enfermedades cardiovasculares (Dirienzo, 2001). Sin embargo, las paletas de base láctea analizadas en este estudio no son fuentes ricas en calcio, su valor energético es elevado y poseen AGT, razón por la cual tales alimentos debieran consumirse con moderación.

#### **5.5.3.2 Magnesio**

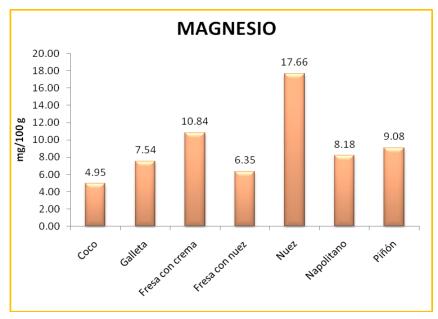
En la gráfica 4 se muestra el contenido de magnesio determinado en las paletas analizadas.

El contenido de magnesio encontrado en las muestras analizadas osciló entre 4.95 y 17.66 mg/100 g, la paleta sabor nuez fue la muestra que presentó el mayor contenido de magnesio



(17.66 mg/100 g). Los resultados de las paletas sabor coco, fresa con nuez, galleta, napolitano y piñón (4.95, 6.35, 7.54, 8.18 y 9.08 mg/100 g respectivamente) fueron inferiores a los reportados por González (2007) para helados de base láctea (9.30-11.00 mg/100 g).

La riqueza del mineral bajo estudio encontrada en la paleta sabor nuez, fue debida a la cantidad de fruto seco adicionado al producto; pues los frutos secos, y en especial la nuez, son alimentos vegetales ricos en este mineral (Melvin, 2002; Mataix y Carazo, 2005). Sin embargo, la paleta sabor fresa con nuez a pesar de contener este ingrediente fue una de las muestras con menor contenido de magnesio (6.35 mg/100 g), probablemente debido a la baja cantidad de fruto seco presente en esta formulación.



Gráfica 4. Contenido de magnesio en paletas de base láctea

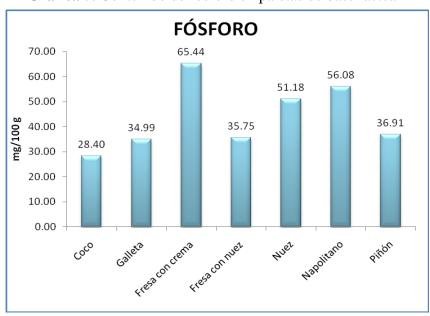
Como ya se mencionó anteriormente, el contenido de magnesio determinado en las muestras podría provenir de los frutos secos presentes en las mismas así como también del tipo y cantidad de base con la que se elaboraron las paletas; en ocasiones el contenido de minerales varía en las bases para helados ya que durante su elaboración suelen añadirse



diversas sales minerales (mezcladas con los estabilizantes) que ayudan a mejorar el cuerpo y textura del producto final, entre ellas destacan el fosfato de magnesio y óxido de magnesio (Marshall *et al.*, 2003).

De acuerdo al estudio realizado por González (2007), los helados no son una buena fuente de magnesio, lo cual pudo comprobarse en este estudio, ya que los valores de magnesio encontrados fueron inferiores a la dosis diaria recomendada para dicho mineral (para hombres y mujeres adultos los valores oscilan entre 400.00-420.00 mg y 310.00-320.00 mg, respectivamente) (Porras, 2009).

#### **5.5.3.3 Fósforo**



Gráfica 5. Contenido de fósforo en paletas de base láctea

Madrid y Cenzano del Castillo (2003) indican que el contenido de fósforo para helados de base láctea oscila entre 45.00 y 150.00 mg/100 g. El contenido de fósforo de las muestras analizadas se encontró entre 28.40 y 65.44 mg/100 g (gráfica 5)



Las paletas sabor coco, galleta, fresa con nuez y piñón presentaron valores inferiores a los mencionados (28.40, 34.99, 35.75 y 36.91 mg/100 g respectivamente), mientras que las muestras cuyo valor de fósforo se encuentra comprendido en dicho rango fueron la paleta sabor nuez (51.18 mg/100 g), napolitano (56.08 mg/100 g) y fresa con crema (65.44 mg/100 g).

La cantidad de fósforo determinado en cada una de las muestras fue aportada por la leche utilizada en la elaboración de la base láctea y a las sales de fosfato empleadas para mejorar el cuerpo y textura del producto (fostato de sodio y fosfato de magnesio) (Marshall *et al.*, 2003). La ingesta diaria recomendada de este mineral es de 800.00 mg (Montero, 2004) por lo que se las muestras analizadas proporcionarían a los consumidores entre el 3.55 y 8.18% de las necesidades diarias requeridas de este mineral.

# Conclusiones



## 6. CONCLUSIONES

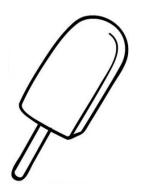
- La calidad microbiológica de las paletas analizadas fue inaceptable de acuerdo a la NOM-036-SSA1-1993.
- Los recuentos microbianos del ambiente en el área de producción de paletas mejoraron debido a la limpieza y desinfección implementadas luego de los resultados obtenidos durante el primer muestreo.
- Las cargas de microorganismos en las manos de los operarios mostraron una calidad microbiológica inadmisible por la NOM-093-SSA1-1994, lo que evidencia malos hábitos de higiene y de manufactura.
- Los recuentos microbianos en las superficies inertes involucradas en el proceso de elaboración de las paletas fueron elevados, lo que pone de manifiesto procedimientos de limpieza deficientes.
- Las paletas estudiadas, presentaron un contenido considerable en ácidos grasos trans, por lo que la ingesta de estos productos podría implicar un riesgo a la salud de los consumidores.
- El perfil lipídico de las paletas de base láctea reveló que en su formulación se emplean grasas vegetales hidrogenadas, las cuales son la fuente de ácidos grasos trans detectados.





# 7. RECOMENDACIONES

- Sería conveniente que en la empresa se implementaran las BPM con el fin de controlar la calidad microbiológica del producto final.
- Sería conveniente verificar la calidad de las materias primas empleadas en la elaboración de paletas a fin de disminuir la carga microbiana, así como el contenido de ácidos grasos trans, ya que este tipo de productos son principalmente consumidos por niños.
- Dado que no fue posible cuantificar el ácido butírico en las muestras analizadas sería conveniente cambiar el disolvente o bien emplear otro método.



Referencias



#### 8. REFERENCIAS

Adapa, S., Schmidt, KA., Jeon, IJ., Herald, T.J. y Flores A.R. (2000). Mecanismos de cristalización y recristalización del ICE en el helado. Universidad Estatal de Kansas, Manhattan, KS, EE.UU. 16(3):259-271.

Albarracín, C. F. Y. y Carrascal, C. A. K. (2005). Manual de Buenas Prácticas de Manufactura para microempresas lácteas. Bogotá: Editorial Pontificia Universidad Javeriana. p. 18, 21-24.

Alonso, L., Fragab, J. M., Juárez, M. y Carmona, P. (2002). Fatty acid composition of spanish shortenings with special emphasis on trans unsaturation content as determined by fourier transform infrared spectroscopy and gas chromatography. JAOCS, 79(1):1-6.

American Public Health Association (APHA). (1992). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington D.C: Carl Vanderzant and Don F. Splittstoesser (eds). pp. 51-835.

American Society of Heating (ASHRAE) Handbook. (2006). Refrigerating and Air Conditioning Engineer. Atlanta: (I-P Edition).

Amiot, J. (1991). Ciencia y Tecnología de la leche. España: Acribia. pp. 339-340, 343, 346-349, 353.

AOAC. (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Published by AOAC, Inc. Helrich K (editor). (15<sup>th</sup> ed.). Arlington, Vol. I and II. pp. 80-81, 777, 851.

AOAC. (2005). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. (18<sup>th</sup> ed.). Washington. USA.



Armada, D. L. y Ros, O. C. (2007). Manipulador de alimentos. La importancia de la higiene en la elaboración y servicio de comidas. España: Ideaspropias. pp. 91-93.

Arzú, O. R., Peiretti, H. A., Rolla, R. A. y Roibón, W. R. (2002). Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de manipuladores en áreas de producción de un supermercado del Nordeste Argentino. Ciencias veterinarias, 5(63).

Asociación Española de Fabricantes de Helados (A. E. F. Helados). Folleto informativo. "El Helado: Nutrición y placer". (2006). Del informe teórico-práctico: helados sanos por tres razones. Barcelona. pp. 2-9. [Consulta: 10 de febrero de 2010]. Disponible en: http://www.aefhelados.com/prensa/NUTRICION.pdf

Ávila, V. V. A. y Silva, R. 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. Trabajo de grado para obtener el título de Microbiólogo Industrial y Bacteriólogo. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D. C., Colombia.

Badui, S.D. (2006). Química de los alimentos. (4<sup>ta</sup> ed.). México: Pearson Education. pp. 558-559.

BANTRANSFATS. (2003). Comments On Advanced Notice Of Proposed Rulemaking Regarding Trans Fat Labeling. Comments to FDA. California:USA. [Consulta: 30 de abril de 2011]. Disponible en: http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/03/oct03/101003/03N-0076-emc-000071-0 01.PDF

Barreiro J. (1992). Higiene y saneamiento en el procesamiento de alimentos. Venezuela: Industria Gráfica Integral C.A.

Barreiro, J. A., Mendoza, S. y Sandoval, A. (1994). Higiene y saneamiento en la preparación y servicio de alimentos. Venezuela: Industria Gráfica Integral, C.A. pp. 81-84.

Bastian, E. (2008). Ingredientes y Minerales de la Leche en Alimentos Fortificados. Mundo lácteo y cárnico [en línea]. Número septiembre-octubre. pp. 15-17. [Consulta: 22 de abril



de 2011]. Disponible en:

http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/mlc026\_leche.pdf

Bejarano, V. A. y Silva, O. A. (2010). Programa de especialización tecnológica en alimentos. "Estabilidad del helado de crema de leche". Trabajo de Seminario de Graduación previa a la obtención del título de Tecnólogo en Alimentos. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil – Ecuador.

Bellis, M. (1997). History of popsicle. [Consulta: 21 de junio de 2009]. Disponible en: http://inventors.about.com/library/inventors/blpopsicle.htm

Bligh, E. G. y Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol, (37):911-917.

Caballero, T. A. E. (2008). Temas de higiene de los alimentos. La Habana: Editorial Ciencias Médicas. pp. 30, 33, 35.

Calvo, M., Carazo, M., Arias, M.L., Chaves, C., Monge, R. y Chinchilla, M. (2004). Prevalencia de *Cyclospora sp.*, *Cryptosporidium sp.*, microsporidos y determinación de coliformes fecales en frutas y vegetales frescos de consumo crudo en Costa Rica. Revista ALAN (Archivos Latinoamericanos de Nutrición) [en línea], 54(4):9.

Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). (1986). Norma 2392. Alimentos. Helados y mezclas para helados. Caracas, Venezuela.

Consultora en Seguridad Sanitaria de Alimentos (1ra parte). (2007). [Consulta: 20 de diciembre de 2010]. Disponible en: http://www.catlab.com.ar/notas.php?idm=600&accion1=notas&PHPSESSID=b5aa3a27d22 2cc725b851b8b099af2d6

Consumer Eroski. (2005). Helados de Stracciatella. Son nutritivos, pero deben consumirse con moderación. Revista Consumer Eroski [en línea]. Número Julio - Agosto 2005. pp. 28-31.



Cook, J. A. y Friday, E. J. (2003). Food mixture or ingredient sources for dietary calcium: Shifts in food group contributions using four grouping protocols. Journal of the American Dietetic Association, 103(11):1513-1519.

Cortés, G. A. (2010). Calidad microbiológica de producto, ambiente y superficies de una empresa de bases para helados. Diseño y propuesta de un plan HACCP. Tesis de Licenciatura para obtener el título de Química en Alimentos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Dávila, J., Reyes, G. y Corzo, O. (2006). Evaluación microbiológica de las diferentes etapas del proceso de elaboración de queso tipo Gouda en una industria venezolana. Revista ALAN (Archivos Latinoamericanos de Nutrición) [en línea], 56(1):51-59.

Di Bartolo, E. (2005). Guía para la elaboración de helados. Argentina: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. [Consulta: 15 de enero de 2010]. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/programa\_calidad/GUIA\_HELADOS.pdf

Dirienzo, D. (2001). Whey products, milk minerals and dairy calcium new findings, benefits and applications. Arlington, USA: U.S. Dairy export council. pp. 1-8.

Early, R. (2000). Tecnología de los productos lácteos. España: Acribia.

Escobar, B. L. y Rostro, S. M. A. (2008). Evaluación microbiológica de helados en la zona dorada de Tampico. Revista SpectroQ del área de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad del Noreste [en línea], 5(3):14-19.

Faner, B. (2005). Mundo Helado, Argentina. Aplicación del sistema HACCP a helados. Revista Alimentaria online. Número julio-agosto. pp. 25-27.

Fernández, E. E. (2008). Microbiología e inocuidad de los alimentos. (2<sup>da</sup> ed.). México: Universidad Autónoma de Querétaro. pp. 18-20, 22, 44-46, 50, 697-699.



Food and Agriculture Organization (FAO). (2006). Frutos frescos y procesados. Fichas técnicas. [Consulta: 11 de mayo de 2011]. Disponible en: http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/ae620s/Pfrescos/GUANABANA.HT M

Frazier, W.C. y Westhoff, D.C. (1993). Microbiología de los alimentos. (4<sup>ta</sup> ed.). España: Acribia.

Fritz, T. (1989). Fabricación de helados. España: Acribia.

Gidón, J. M. (2003). Combinar alimentos y bajar de peso. España: Ojos de papel ediciones. p.62.

Gil, H. A. (2010). Tratado de nutrición. Composición y calidad nutritiva de los alimentos. (2<sup>ta</sup> ed.). España: Médica Panamericana. p. 201.

Gómez, L. E. y Durango, A. M. (2008). Implementación de un sistema de aseguramiento de calidad basado en buenas prácticas de manufactura en las cafeterías de la Universidad de Córdoba. Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association (APHA), Washington. p.219.

González de la Vara, M. (2006). La Michoacana. Historia de los paleteros de Tocumbo. México: Gobierno del Estado de Michoacán.

González, C. M. J. (2007). Valor nutritivo de los helados. Su integración en la dieta saludable. Ámbito farmacéutico nutrición, 26(8):86-92.

Gösta Bylund, M. Sc. (1995). Dairy Processing Handbook Tetra Pak Processing Systems AB S-221 86 Lund, Sweden. pp. 386-387, 392.

Griguol, V., León, C. M. y Vicario, M. I. (2007). Revisión de los niveles de ácidos grasos trans encontrados en distintos tipos de alimentos. Grasas y aceites, 58 (1):87-98.



Griguol, V., Vicario, M. I. y León, M. (2003). Contenido en isómeros geométricos de los ácidos grasos en helados comerciales españoles. Grasas y aceites, 54(1):19-23.

GTAMS. Resolución Ministerial Nº 461-2007/MINSA. Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con los alimentos y bebidas. Lima, Perú.

Healthaliciousness. (2008). Especias de chile en polvo. [Consulta: 15 de enero de 2011]. Disponible en:

http://www.healthaliciousness.com/español/datosnutricionales.php?id=Especias%20De20% Chile%20En%20Polvo

Hedrick, T. I. y Heldman, D. R. (1969). Air quality in fluid and manufactured milk products plants. Journal of Milk and Food Technology, 32:265-269.

Hein, M. y Arena, S. (2005): Fundamentos de química. (11ª ed.). México: Thomson. p. 380.

Hui, Y. H., Cornillon, P., Guerrero Legareta, I., Lim, M.H., Murrell, K.D. y Nip, W. (2004). Handbook of Frozen Foods. New York: Marcel Dekker, Inc.

Instituto Valenciano de la Exportación (IVEX). (2007). Nota sectorial el mercado de helados y derivados. Florida: Generalitat Valenciana. [Consulta: 17 de enero del 2010]. Disponible en: http://www.pymex.pe/descargas/category/87-helados.html?...sectorial...

International Commision on Microbiological Specification for Food (ICMSF/FAO). (1987). Microorganisms in foods. (2<sup>ta</sup> ed.). Canadá: University of Toronto Press. pp. 3-151.

Kirk, R. S., Sawyer, R. y Egan H. (2005). Composición y Análisis de Alimentos de Pearson. México: CECSA. p. 665.

Lake, R., Cressey, P. y Hudson, A. (2009). Risk profile: *Listeria monocytogenes* in ice cream. New Zealand: Institute of Environmental Science & Research Limited Christchurch Science Centre. [Consulta: 16 de febrero del 2010]. Disponible en:



http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Risk\_Profile\_Listeria-Science\_Research.pdf

Leon, U. O. (2009). Postre y tradición en el México actual. ¿Cómo se hace la nieve? Revista quincenal ¿Por qué?: Nieve [en línea]. [Consulta: 19 de junio de 2009]. Disponible en: http://revista-por-que.blogspot.com/2009/05/nieve.html

Luque, A. J. (2010). Los riesgos microbiológicos del helado. [Consulta: 11 de abril del 2010]. Disponible en: http://jacintoluque.blogcindario.com/2010/06/00277-los-riesgos-microbiologicos-del-helado.html

Luquet, F. M. y Deveaux, R. (1993). Leche y productos lácteos vaca-oveja-cabra. Vol. 2. Los productos lácteos, transformación y tecnologías. España: Acribia. pp. 411-412,415, 420-421, 427.

Madrid, V. A. (1999). Confitería y pastelería: manual de formación. España: Mundi Prensa. pp. 187.

Madrid, V. A. y Cenzano del Castillo, I. (2003). Helados: elaboración, análisis y control de calidad. España: Mundi-Prensa.

Mantello, R. S. (2007a). Helados: Breve reseña histórica del helado. [En línea]. Número mayo. [Consulta: 18 de junio de 2009]. Disponible en: http://www.mundohelado.com/helados/historia.htm

Mantello, R. S. (2007b). Helados: Cambios estructurales en el helado a lo largo del proceso de elaboración. [En línea]. Número mayo. [Consulta: 20 de febrero del 2010]. Disponible en: http://www.mundohelado.com/helados/cambios-helado-01.htm

Mantello, R. S. (2007c). Helados: Cambios estructurales en el helado a lo largo del proceso de elaboración: Almacenamiento - Vida útil. [En línea]. Número mayo. [Consulta: 18 de junio de 2009]. Disponible en: http://www.mundohelado.com/helados/cambios-helado-03.htm



Mantello, R. S. (2007d). Helados: Estadísticas de consumo a nivel mundial. [En línea]. Número mayo. [Consulta: 02 de julio de 2009]. Disponible en: http://www.mundohelado.com/helados/estadisticas.htm

Mantello, R. S. (2007e). Helados: Microbiología en el helado: Enfermedades transmitidas por los alimentos. [En línea]. Número mayo. [Consulta: 12 de abril de 2010]. Disponible en: http://www.mundohelado.com/helados/microbiologia.htm

Mantello, R. S. (2008). Helados: El uso de azúcares en los helados. [En línea]. Número Agosto. [Consulta 15 de Marzo del 2011]. Disponible en: http://www.mundohelado.com/helados/azucares.htm

Marshall, R. T., Goff, H.D. y Hartel, R. W. (2003). Ice cream. (6<sup>ta</sup> ed.). New York: Kluwer Academic/Plenum publishers. p. 68.

Martínez, A. y Liendo, M. (2007). Sector lácteo. Industria del helado. Un análisis del sector. Universidad Nacional del Rosario. Undécimas Jornadas "Investigaciones en la Facultad" de Ciencias Económicas y Estadística [en línea]. [Consulta: 29 de enero de 2010].

Disponible en:

http://www.fcecon.unr.edu.ar/investigacion/jornadas/archivos/martinezyliendohelado.PDF

Mataix, V. J. y Carazo, M. E.(2005). Nutrición para educadores. (2<sup>da</sup> ed.). España: Ediciones Díaz de Santos. p. 172.

Medina, S. M. A. (2000). Diseño para la implementación de un sistema de aseguramiento de calidad (HACCP) en línea de producción de helados extruidos. Tesis de grado previa para la obtención del título de ingeniero en alimentos. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.

Mejía, R. L. y Sepúlveda, V. J. (2001). Fabricación de paletas. Medellín: Universidad Nacional de Colombia.



Melvin, H. W. (2002). Nutrición para la salud, la condición física y el deporte. (1<sup>ra</sup> ed.). España: Paldotribo. p. 253.

Metcalfe, L. D y Schmitz, A. A. (1961). The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. Anal. Chem, (33):363-364.

Monereo, M. S. (2008). La dieta con helados. Barcelona: Amat S.L.R. pp. 22, 26, 28-29, 32.

Monroy, T. R. (2009). Ácidos grasos trans: riesgos a la salud y legislación mexicana. Ide@s CONCYTEG, 4 (49):767-778.

Montero, M. C. (2004) Alimentación y vida saludable ¿somos lo que comemos?. Universidad Pontificia Comillas de Madrid. España: R. B. Servicios Editoriales, S. L. p. 97.

Mundo helado [cd-room]. Certificado del curso: El negocio del helado, fabricación y comercialización. Impartido por los asesores técnicos en la industria del helado Mantello, S. y Jarero, A. (Ed.). 10-12 Agosto 2009. México, D.F.

Naresh, L. y Shailaja, U. M. (2006). Stabilizer Blends and their importance in Ice cream Industry – A Review. Food Magazine The Lucid Group [en línea].

Norma Oficial Mexicana NOM-036-SSA1-1993. Bienes y servicios. Helados de crema, de leche o grasa vegetal, sorbetes y bases o mezclas para helados.

Norma Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2005. Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación. Diario Oficial de la Federación. México, DF.

Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.



Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994. Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

Norma Oficial Mexicana NOM-116-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa.

Norma Oficial Mexicana NOM-244-SSA1-2008. Equipos y sustancias germicidas para tratamiento doméstico de agua. Requisitos sanitarios.

O'Conor, C., Burraco, E. y Bazán, N. (2010). Tabla de composición de alimentos. Manual LAFyS de nutrición en el deporte. [Consulta: 11 de mayo de 2011]. Disponible en: http://www.pumpingironmag.org/odd/attachment.php?attachmentid=12718...

Obdulio, Z. V. y Amador, S. R. A. (2001). Manual de buenas prácticas de fabricación aplicado a la industria láctea. Honduras C.A. [Consulta: 12 de junio de 2011]. Disponible en: http://infoagro.net/shared/docs/a5/gca10.pdf

Palomar, A. (2004). La despensa de Hipócrates. Los poderes curativos de los alimentos. Nafarroa: Txalaparta. p. 146.



Pascual, A. M. del R. y Calderón, P. V. (2000). Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas. (2<sup>da</sup> ed.). España: Ediciones Díaz de Santos. pp. 143.

Porras, M. G. (2009). Propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de harinas para preparar atole a base de amaranto. Tesis de Licenciatura para obtener el título de Química en Alimentos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Primo, Y. E. (1997). Química de los alimentos. España: Editorial Síntesis.

PROFECO. (2008). Golosinas y bebidas congeladas o para congelar. Revista del consumidor [en línea]. Número Julio. pp. 58-63. [Consulta 15 de Marzo del 2011]. Disponible en: http://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est\_08/58-63%20congeladas.pdf

Riveros, S. H. y Baquero, M. (2004). Inocuidad, calidad y sellos alimentarios. Documento técnico. Ecuador: IICA.

Rodríguez, R. V. M. y Simón, M. E. (2008) Bases de la Alimentación Humana. España: Netbiblo, S. L. p.23.

Romero del Castillo, S. R. y Mestres, L. J. (2004). Productos lácteos. Tecnología (1<sup>ra</sup> ed.). Barcelona: Ediciones UPC. pp. 22-24.

Romero, P. R. A. (2000). Establecimiento de un sistema de análisis de riesgos y puntos críticos de control para helado y yogur en Zamorano. Tesis de licenciatura para obtener el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

Rosales, Y. y Díaz, C. (2006). Evaluación microbiológica de helados caseros en Mérida, Venezuela. Revista de Salud Pública y Nutrición (RESPYN) [en línea], 7(3):25-31. [Consulta: 11 de Diciembre 2010]. Disponible en: http://www.respyn.uanl.mx/vii/3/articulos/helados.htm

Sathe, Y. A. (1999). A first course in food analysis. New Delhi: New age international publishers. p. 7.



Serra, R., Abrunhosa, L., Kozakiewicz, Z., Venancio, A. y Lima, N. (2003). Use of ozone to reduce molds in a cheese ripening room. Journal of food protection, 66(12):2355-23.58.

Silva, T. P., Valverde, M. E. (2010). Validación de la metodología analítica para cuantificar el calcio mediante la espectroscopía de absorción atómica de llama y su cuantificación en alimentos de la canasta básica costarricense. Tecnología en Marcha, 23(4):47-56.

Spencer, J. F. T. y Ragout de Spencer, A. L. (2001). Food Microbiology Protocols. Totowa, New Jersey: Humana Press. pp. 25.

Varnam, H. A. y Sutherland, P. J. (1995). Leche y productos lácteos, tecnología química y microbiología. Serie alimentos básicos 1. España: Acribia. pp. 408, 412-414, 416-418, 428-429, 435-437.

Velazco, J. (2003). Derrite los helados el poco consumo (Negocios). [Consulta: 25 de junio de 2009]. Disponible en: http://www.accessmylibrary.com/coms2/summary\_0286-4949602IT\_M

Vizcaya, R. T., González, F. y Gutiérrez, O. (2009). Riesgo epidemiológico por helados no industriales en Barquisimeto, Venezuela, 2008. Revista de Comunidad y Salud, 7(2):1-9.

Von Specht, M., Amer, L., Maubecin, E., Alonso, R. y Bargardi, S. (1998). Control de la calidad higiénica de helados artesanales en posadas, Misiones. Revista de Ciencia y Tecnología, 1(1):20-24.

Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A. y Van Boekel, M. (2001). Ciencia y Tecnología de los Productos Lácteos. España: Acribia.

Willett, C. W., MD., DrPH., y Mozaffarian, D. (2007). Trans Fats in Cardiac and Diabetes Risk: An Overview. Current Cardiovascular Risk Reports, 1(1):16–23.



Windratz, P. y Arias, M. L. (2000). Evaluation of the bacteriological quality of ice cream sold at San José, Costa Rica. Revista ALAN (Archivos Latinoamericanos de Nutrición) [en línea], 50(3):301-303.

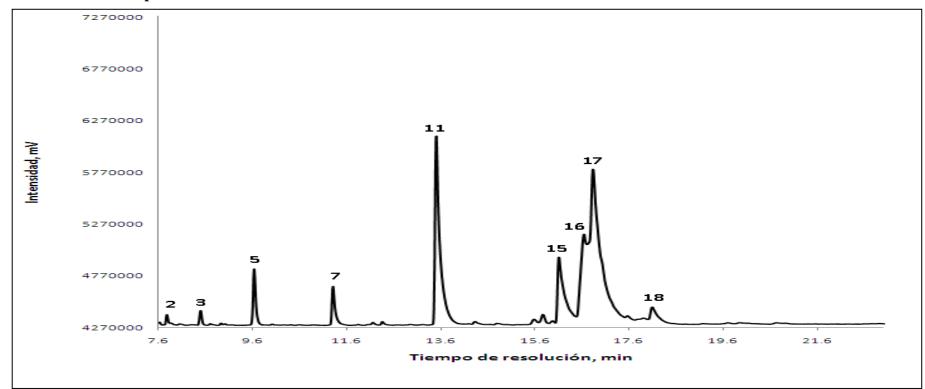


Anexos

### 9. ANEXOS

Anexo 1. Cromatográmas del perfil de ácidos grasos en paletas de base láctea

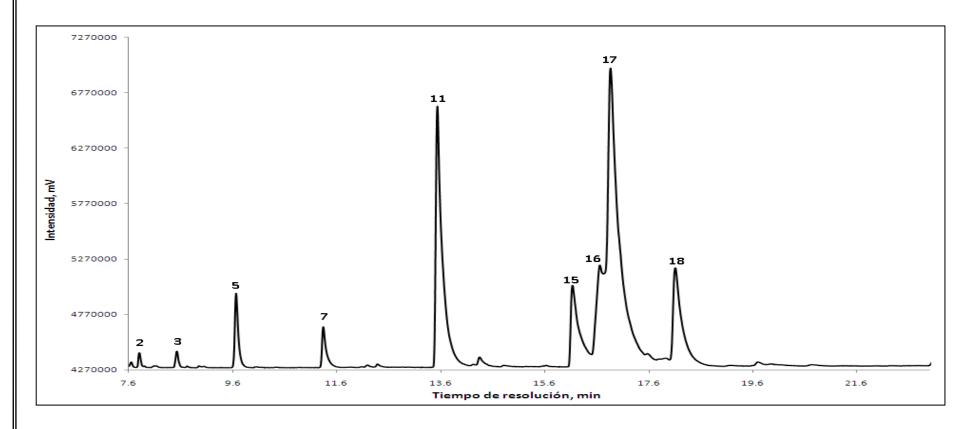
#### 1. Paleta sabor napolitano



Ácidos grasos detallados: 2 (C8:0), 3 (C10:0), 5 (C12:0), 7 (C14:0), 11 (C16:0), 15 (C18:0), 16 (C18:1n9t), 17 (18:1n9c) y 18 (C18:2n6t)

### 2. Paleta sabor fresa con nuez

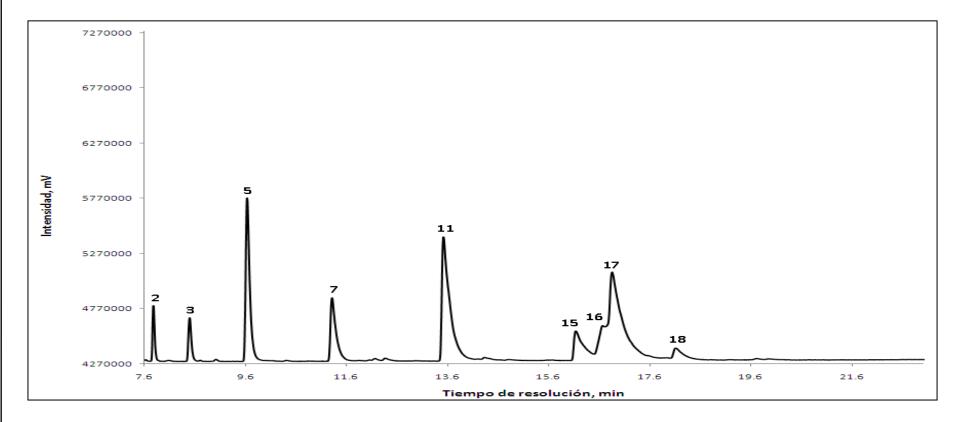




Ácidos grasos detallados: 2 (C8:0), 3 (C10:0), 5 (C12:0), 7 (C14:0), 11 (C16:0), 15 (C18:0), 16 (C18:1n9t), 17 (C18:1n9c) y 18 (C18:2n6t)

### 3. Paleta sabor coco

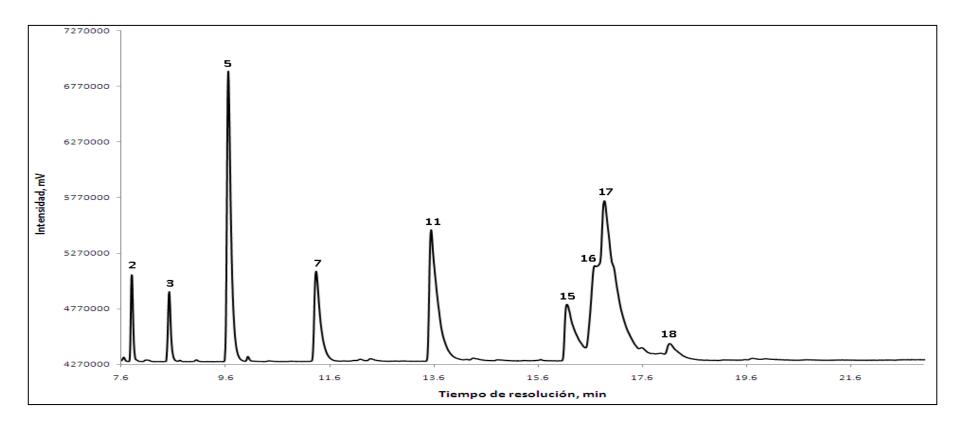




Ácidos grasos detallados: **2** (C8:0), **3** (C10:0), **5** (C12:0), **7** (C14:0), **11** (C16:0), **15** (C18:0), **16** (C18:1n9t), **17** (C18:1n9c) y **18** (C18:2n6t)

### 4. Paleta sabor fresa con crema

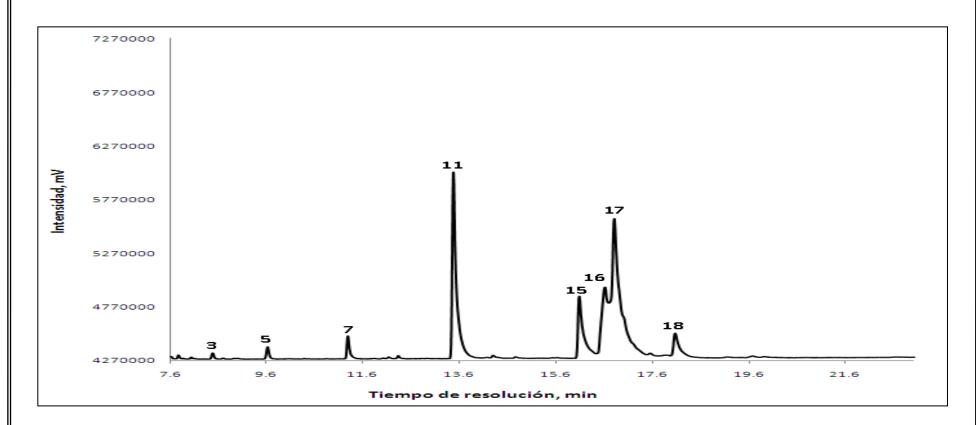




Ácidos grasos detallados: 2 (C8:0), 3 (C10:0), 5 (C12:0), 7 (C14:0), 11 (C16:0), 15 (C18:0), 16 (C18:1n9t), 17 (C18:1n9c) y 18 (C18:2n6t)

# 5. Paleta sabor galleta

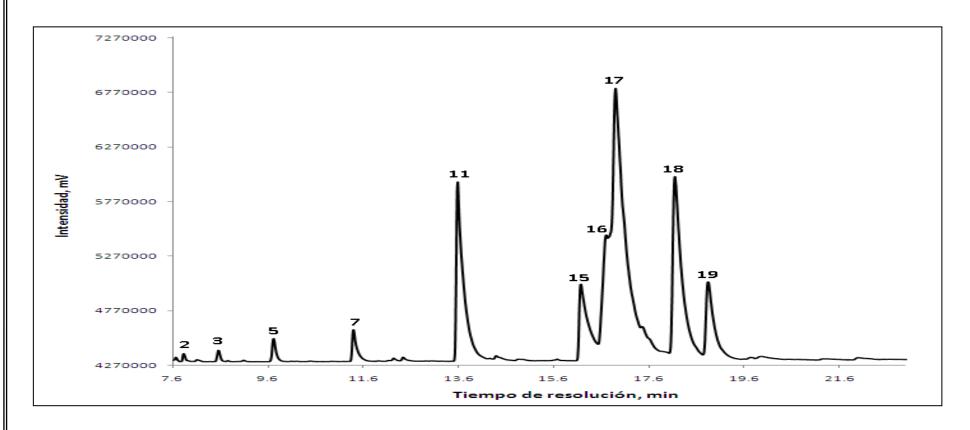




Ácidos grasos detallados: **3** (C10:0), **5** (C12:0), **7** (C14:0), **11** (C16:0), **15** (C18:0), **16** (C18:1n9t), **17** (C18:1n9c) y **18** (C18:2n6t)

## 6. Paleta sabor piñón

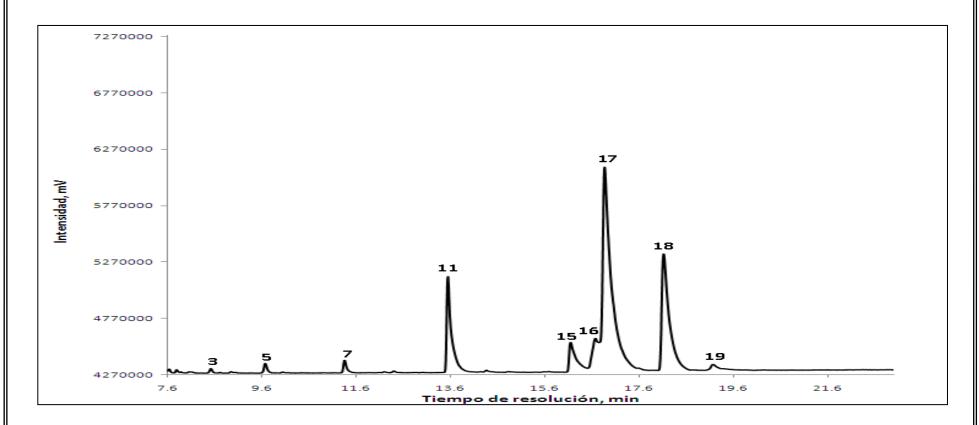




Ácidos grasos detallados: **2** (C8:0), **3** (C10:0), **5** (C12:0), **7** (C14:0), **11** (C16:0), **15** (C18:0), **16** (C18:1n9t), **17** (C18:1n9c), **18** (C18:2n6t) y **19** (C18:2n6c)

### 7. Paleta sabor nuez





Ácidos grasos detallados: **3** (C10:0), **5** (C12:0), **7** (C14:0), **11** (C16:0), **15** (C18:0), **16** (C18:1n9t), **17** (C18:1n9c), **18** (C18:2n6t) y **19** (C18:2n6c)