



Universidad del Azuay

Facultad de Ciencia y Tecnología

Escuela de Ingeniería en alimentos

**Evaluación de la viabilidad del uso de *Lactobacillus acidophilus* LA-5
en la elaboración de helados**

**Trabajo de graduación previo a la obtención del título de
Ingeniera en Alimentos**

**Autor:
María José Andrade Bracero**

**Directora:
María Elena Cazar Ramírez**

**Cuenca, Ecuador
2013**

DEDICATORIA

Dedico este trabajo:

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo.

A mi familia política, por ayudarme y alentarme para terminar esta etapa de mi vida.

A mis maestros quienes nunca desistieron al enseñarme, aun sin importar que muchas veces no ponía atención en clase, a ellos que continuaron depositando su esperanza en mí.

A mis hijos, ellos son la fuerza que me impulsa a seguir adelante día a día.

Al padre de mis hijos, por su ayuda económica y emocional que me supo brindar durante la culminación de mis estudios.

Todos aquellos familiares y amigos que no recordé al momento de escribir esto. Gracias a todos aquellos que ya no están aquí, pero que sin embargo me ayudaron a alcanzar esta meta.

Ma. José A.

ÍNDICE

Dedicatoria.....	ii
Índice de Contenidos.....	iii
Resumen.....	v
Abstract.....	vi

INTRODUCCIÓN.....	1
--------------------------	----------

CAPITULO 1: LOS PROBIOTICOS

1.1 Definición.....	3
1.2 Breve historia de los probióticos.....	6
1.3 Mercado de los Alimentos probióticos.....	9
1.4 <i>Lactobacillus</i> probióticos.....	10
1.4.1 <i>Lactobacillus fermentum</i>	11
1.4.2 <i>Lactobacillus casei</i>	12
1.4.3 <i>Lactobacillus bulgaricus</i> o <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subespecie <i>bulgaricus</i>	12
1.4.4 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	13
1.5 Efectos benéficos de <i>los Lactobacillus acidophilus</i>	13
1.5.1 Vaginitis bacterial.....	14
1.5.2 Prevención de la diarrea asociada a diferentes causas.....	14
1.5.3 Colesterol alto.....	15
1.5.4 Intolerancia a la lactosa.....	16
1.5.5 Síndrome del colon irritable.....	16
1.5.6 Disminución del crecimiento del cáncer.....	16

CAPITULO 2: EL HELADO

2.1 Definición.....	18
2.2 Breve historia del helado.....	18
2.3 Clasificación.....	20
2.4 Características cualitativas del helado.....	22
2.5 Requisitos para los helados.....	22
2.6 Composición de los helados.....	23
2.7 Proceso de elaboración.....	29
2.8 Mercado nacional de los helados.....	30
2.9 Helado probióticos.....	30

CAPITULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales e insumos para la elaboración del helado.....	32
3.2 Elaboración del helado.....	34
3.3 Pruebas microbiológicas.....	36
3.4 Recuento y observación al microscopio de las bacterias aisladas.....	36

CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados.....	37
4.2 Recuento de Lactobacillus en los tratamientos aplicados para la elaboración del helado probiótico	37
4.3 Observación al microscopio de las colonias aisladas de Lactobacillus.....	40
4.4 Discusión.....	40
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	43
BIBLIOGRAFÍA.....	44
ANEXOS	
Anexo 1.....	48
Anexo 2.....	49
Anexo 3.....	50
Anexo 4.....	51
Anexo 5.....	52



RESUMEN

Evaluación de la viabilidad del uso de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 en la elaboración de helados

Los helados son productos muy consumidos por todos, por lo que este trabajo se centró en ver si los microorganismos probióticos resisten al proceso de elaboración. Para esto se estableció el punto óptimo de inoculación de *L. acidophilus* en el proceso de elaboración y se determinó la viabilidad de la bacteria en el producto terminado luego de un periodo de almacenamiento.

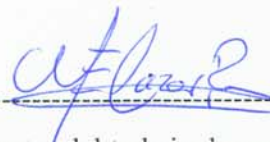
Para determinar la viabilidad del probiótico en el producto, se realizaron pruebas en las que la bacteria liofilizada se adicionó en una concentración fija en diferentes tiempos del proceso de elaboración. Los productos obtenidos se sometieron a un análisis microbiológico, el que tuvo la mayor concentración se almacenó y luego se lo sometió a un nuevo análisis microbiológico.

Se pudo obtener un producto con $1,5 \times 10^5$ de UFC, en la etapa de maduración, ya que resistieron mejor al proceso y siguieron viables luego de los 15 días de almacenamiento.

Palabras claves: probiótico, helado, *Lactobacillus acidophilus*, viabilidad, inoculación, microorganismos, bacteria, microbiológico.



Director de la Carrera



Director del trabajo de grado



Autor



ABSTRACT

Assessment of the Viability to use *Lactobacillus acidophilus* LA-5 in the Production of Ice cream

Ice cream is a highly consumed product, which is why this study is focused on observing if the probiotic microorganisms survive the production process. In order to do this we established the optimum point of inoculation of *L. acidophilus* in the production process and we determined the viability of the bacteria in the final product after a storage period.

In order to determine the viability of the probiotic in the product, we carried out tests where the lyophilized bacteria were added in a fixed concentration during different periods of the production process. The products that were obtained were then subjected to a microbiological analysis. The one with most concentration was stored and later subjected to a new microbiological analysis.

It was possible to obtain a product with $1,5 \times 10^5$ of CFUs, during the development stage, since they resisted the process better and were still viable after 15 days of storage.

Key Words: probiotic, ice cream, *Lactobacillus acidophilus*, viability, inoculation, microorganisms, bacteria, microbiological.



School Director



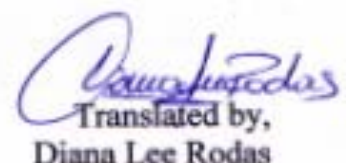
Graduation Project Director



Author



UNIVERSIDAD DEL
AZUAY
DPTO. IDIOMAS



Translated by,
Diana Lee Rodas

Andrade Bracero Maria José

Trabajo de Graduación

Cazar Ramírez Maria Elena

Julio 2013

EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DEL USO DE *LACTOBACILLUS* *ACIDOPHILUS* LA-5 EN LA ELABORACIÓN DE HELADOS

INTRODUCCIÓN

Actualmente se sabe que muchas de las enfermedades más comunes de las personas, se deben o están relacionadas con la dieta. El estrés diario de nuestras múltiples ocupaciones, hace que existan más problemas de salud, al no poder ya alimentarnos bien. La vieja frase de Hipócrates “haz que tus alimentos sean tu medicina” vuelve a estar en boga casi 2500 años después, cuando la percepción de que es posible una mejora de la salud del individuo a través de la selección adecuada de los alimentos consumidos, ha conducido a una demanda cada vez mayor de alimentos que mejoren la salud de los consumidores, gracias a la aparición de los probióticos y prebióticos.

La leche ha sido reconocida como un elemento básico de la dieta humana desde la revolución agrícola, aproximadamente 8000 AC. Este es, sin duda, un gran alimento: aporta grasa, proteínas de gran calidad, calcio y vitaminas, entre otros componentes nutritivos de primer orden. Por esta razón los microorganismos probióticos encuentran en la leche el mejor vehículo para ingresar en el organismo humano.

En los últimos tiempos se están llevando una serie de estudios para incorporar las bacterias benéficas para la salud, a otros productos que no sean las típicas leches

ácidas o yogures, incorporándolas en helados, embutidos, chocolates, verduras, etc. El helado es un postre delicioso, que es de origen tan antiguo. Ha sido empleado para ayudar a los pacientes con problemas de desorden alimenticio, ya que contiene una buena cantidad de nutrientes y además por su buen sabor y textura.

La idea de esta investigación es dar al producto un nuevo concepto, al dejar de ser solo un postre y convertirse en un alimento que nos brinde beneficios para la salud y que no deje de ser atractivo al paladar del consumidor. Esto se lo realizará incorporando a la formulación de éste, un cultivo de microorganismos reconocidos mundialmente por sus beneficios como el *Lactobacillus acidophilus*.

CAPITULO 1: PROBIÓTICOS: GENERALIDADES

1.1 Definición.

Los probióticos son microorganismos vivos los cuales, al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren efectos benéficos en la salud del huésped. Generalmente, los microorganismos utilizados como probióticos son bacterias comensales que forman colonias en el tracto gastrointestinal, vaginal y en la boca. Entre ellas están los *Lactobacillus*, las Bifidobacterias, *Bacillus cereus* y *Escherichia coli*. Además algunas levaduras, como *Saccharomyces cerevisiae* y *Boulardii*.

Dentro de los cultivos probióticos con mayor aplicación comercial están las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacteria*. Existen 56 especies de *Lactobacillus* y 29 especies de *Bifidobacteria*, sin embargo, no todas muestran actividad probiótica. En el 2001 se publica una lista de los cultivos comúnmente usados en yogurt y bebidas fermentadas con probióticos (ver Tabla 1).

Estos han sido evaluados en estudios clínicos y acreditados como cultivos probióticos. Varios de ellos se utilizan actualmente en el mercado de productos probióticos. La tendencia ha sido el utilizar de uno hasta cinco cultivos probióticos por producto lácteo fermentado, esto dependiendo de la estrategia de mercado, los factores benéficos deseados y la disponibilidad de cultivos (Montiel, 2010).

Tabla 1 Microorganismos comúnmente usados como probióticos.

Especie	Cultivos
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	La2, La5 (conocida como La1), Johosoi(La1; conocida como Lj1), NCFM, DDS-1, SBT-2062)
<i>L. bulgaricus</i>	Lb12
<i>L. lactis</i>	La1
<i>L. plantarum</i>	299v, Lp01
<i>L. rhamnosus</i>	GG, GR-1, 271, LB21
<i>L. reuten</i>	SD2112 (conocida como MM2)
<i>L. casei</i>	Shirota, Immunitass, 744, 01
<i>L. paracasei</i>	CRL 431
<i>L. fermentum</i>	RC-14
<i>L. helveticus</i>	B02
<i>Bifidobacterium longum</i>	B536, SBT-2928
<i>B. breve</i>	Yakul
<i>B. bifidus</i>	Bb-11, Bb12
<i>B. essensis</i>	Danone (Bio Activia)
<i>B. animalis</i>	subsp lactis Bb-02
<i>B. infantis</i>	Shirota, Immunitass, 744, 01

Fuente: Montiel, 2010

Para que un microorganismo sea considerado probiótico debe cumplir una serie de requisitos, tales como:

- Adherencia a las células epiteliales intestinales en el cultivo.
- Unión al moco gastrointestinal.
- Competición con microbios patógenos.
- Actividad bactericida frente a patógenos.
- Modificar el balance bacteriano del colon hacia una composición más favorable.
- Caracterización in vitro: a) estabilidad fenotípica y genotípica, b) patrones de utilización de carbohidratos y proteínas.

- Ensayos in vivo e in vitro que demuestren el (los) efecto(s) probiótico(s) adjudicado(s).
- Carácter GRAS (“*Generally Regarded As Safe*”: reconocido como seguro para la salud).
- No presentar resistencia a antibióticos.

Los alimentos probióticos o alimentos funcionales probióticos, por ende, son aquellos que contienen microorganismos probióticos en número suficiente para alterar o modificar la flora intestinal y así ejercer efectos beneficiosos para la salud. Son productos alimenticios que, además de su valor nutritivo intrínseco, ayudan a mantener el estado de salud general del organismo y a la vez pueden tener un efecto benéfico adicional, terapéutico o preventivo en el huésped.

Para el desarrollo y elaboración de los alimentos probióticos, propuestos para el consumo humano, se emplean, en la gran mayoría de los casos, microorganismos pertenecientes al grupo de las Bacterias Ácido Lácticas incluyendo, en un sentido amplio, a las bifidobacterias. Sin embargo, la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, algunas cepas de *Escherichia coli* y algunas especies de *Bacillus*, también son utilizadas como probióticos. La utilización de las LB como probióticos se remonta a principios del siglo XX.

Las bacterias que se pueden utilizar en alimentación como probióticas se seleccionan en base a una serie de requisitos que deben cumplir y que han de evaluarse de forma individual para cada cepa. Los efectos beneficiosos de un microorganismo probiótico concreto, así como otras características deseables para la salud del consumidor, sólo pueden ser atribuidos a cada cepa analizada en cada estudio y no se puede generalizar a toda la especie, ni mucho menos a todo el grupo de las BAL.

Es conveniente que, según el beneficio previsto para la salud, se lleven a cabo pruebas que revelen la capacidad para tolerar el medio ácido y la presencia de sales biliares, la potencialidad para producir sustancias antimicrobianas y capacidad para adherirse a las células del intestino humano, entre otras.

Por otro lado, el material de envasado y las condiciones de almacenamiento de los productos finales, son factores a tener en cuenta para mantener la viabilidad de los microorganismos probióticos. La mayoría de las cepas bacterianas empleadas como probióticos son anaerobias o microaerófilas, por lo que la toxicidad del oxígeno sobre ellas es una consideración fundamental.

La viabilidad de las cepas probióticas puede ser potenciada mediante técnicas de encapsulación, usando almidón o aceites vegetales como material protector. En este proceso, las células son conservadas dentro de una membrana con el fin de reducir el daño y la pérdida de viabilidad celular (Caicedo, 2010).

Afin de definir que un alimento puede ser llamado probiótico se realizan pruebas de viabilidad y actividad metabólica, la concentración de microorganismos se debe mantener en todas las etapas de procesamiento de los alimentos por encima de 10^6 UFC por gramo de producto (González Ramírez, et al, 2012).

1.2 Breve historia de los probióticos

Probiótico viene de origen griego que significa "a favor de la vida" y es el término que se usa para definir a las bacterias que tienen efectos beneficiosos para los seres humanos y animales. El pionero en observar los efectos positivos de los microorganismos, fue el investigador ruso galardonado con el premio Nóbel por su trabajo en el Instituto Pasteur, Eli Metchnikoff, quien afirmó en 1907 "la dependencia de los microbios intestinales con respecto a los alimentos hace posible

adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles".

Esto lo investigó utilizando microbios útiles para sustituir a los microbios proteolíticos como *Clostridium* productores de sustancias tóxicas que surgen de la digestión de proteínas, desarrollando entonces una dieta con leche fermentada por la bacteria, a la que denominó "bacilo búlgaro."

El pediatra francés Henry Tissier observó que los niños con diarrea tenían en sus heces un escaso número de bacterias bífidas. Estas bacterias eran, por el contrario, abundantes en los niños sanos, por lo que él recomendó administrar estas bacterias a pacientes para facilitar el restablecimiento de la flora intestinal y así aliviar los síntomas. Tissier (del Instituto *Pasteur*) aisló por primera vez una Bífido bacteria de un lactante alimentado a pecho, a la que denominó *Bacillus bifidus communis*.

Las obras de Metchnikoff y Tissier fueron las primeras en las que se hicieron propuestas científicas con respecto a la utilización probiótica de bacterias, aun cuando la palabra "probiótico" no se acuñó hasta 1960, para designar las sustancias producidas por microorganismos que promovían el crecimiento de otros microorganismos dada por Lilly y Stillwell en 1965. En 1989 Fuller los define como "Suplemento dietético a base de organismos vivos que afecta beneficiosamente al animal huésped, mejorando su equilibrio intestinal". Una definición reciente en el 2006 nos dice: "Son microorganismos vivos, que en los alimentos, se usan como suplementos, ya que afecta beneficiosamente al hospedador mejorando el equilibrio microbiano intestinal". (Guarner Francisco et al, 2008)

A medida que la investigación en probióticos fue avanzando y confirmando la validez de los postulados anteriormente descritos, la *United Nations Food and Agriculture Organization* y la *World Health Organization* (Organización mundial de la Salud) (FAO/WHO) en el 2001 formaron un Comité de Expertos en la

materia y se llegó a un consenso en relación a la definición de probióticos, siendo este “*microorganismos vivos los cuales, al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren efectos benéficos en la salud del huésped*”.

Tabla 2: Evolución histórica de la definición de los probióticos

Bacterias específicas de la fermentación del yogur que mejoran el balance microbiano intestinal.	Metchnikoff (1907)
Sustancias excretadas por un protozoario para estimular el crecimiento de otro.	Lilly y Stillwell (1965)
Sustancias que tienen efecto beneficioso en animales por su contribución al balance de la flora intestinal.	Parker (1974)
Alimentos suplementados con microbios vivos que benefician al huésped animal a través de la mejora del balance microbiano intestinal.	Fuller (1989)
Cultivos únicos o mixtos de microbios vivos que, aplicados a humanos, afectan beneficiosamente al huésped a través de la mejoría de la flora microbiana indígena intestinal	Huis in't Veld and Havenaar (1991)
Ingredientes alimentarios microbianos vivos que son beneficiosos para la salud (eficacia y seguridad científicamente documentada).	Salminen (1998)
Preparaciones celulares microbianas vivas o componentes celulares que tienen un efecto beneficioso en la salud humana	Salminen (1999)
Microbios vivos o inactivados que tienen efectos documentados en la reducción del riesgo de enfermar o como tratamiento coadyuvante	Isolauri (2002)

Fuente: Merino, 2006

1.3 Mercado de los alimentos Probióticos

Desde la década pasada el consumo de alimentos probióticos se ha incrementado. En una visión más actualizada recogida por la consultora Datamonitor, al año 2007 la combinación del mercado de Europa, USA y Asia Pacífico alcanzaba los US\$72,3 billones. La misma empresa proyecta una tasa de crecimiento compuesto anual (CAGR) del 5,7% entre 2007 y 2012. Por su parte Just-Food, otra firma especializada en mercado de la industria de alimentos, proyecta que al 2013 el mercado global de alimentos y bebidas funcionales alcanzará al menos del orden de los US\$ 90,5 billones.

Japón es el país pionero en cuanto a innovación en el mercado de los productos funcionales y por lo tanto es el que marca las tendencias que posteriormente se van a desarrollar en el resto de mercados. Por su parte Estados Unidos representa el mercado más dinámico y de mayor proyección de crecimiento a nivel global. Los líderes globales son multinacionales como Yakult, Danone y Nestlé. En la siguiente tabla se muestra el mercado de alimentos funcionales, expresada en millones de dólares estadounidenses, en Estados Unidos, Europa y Asia pacífico en los años 2007-2012, así como la tasa de crecimiento anual compuesto.

Tabla 3 Mercado de Alimentos Funcionales (US\$ millones) en Estados Unidos, Europa y Asia Pacífico 2007 – 2012

	2007	2012	CAGR (%)
Estados Unidos	27.230,50	36.653,00	6,1
Europa	8.476,90	10.667,30	4,7
Asia - Pacífico	36.616,40	48.027,70	5,6
Total	72.323,80	95.348,00	5,7

Fuente: Cóccaro, 2010

Los datos recopilados en el 2010 por Euromonitor International indican que en América Latina se concentró el 13% del consumo mundial de cultivos probióticos y que ese consumo se duplicó a lo largo de los últimos cinco años. La mayoría de los cultivos terminan formando parte de los yogures probióticos. Ya se pueden encontrar productos con probióticos en muchos países de América Latina: México (Actimel, Yakult, Soful, Bio, LC1, etc), Brasil (Yakult, Chamyto, Batavito, Paulista, etc.), Argentina (Actimel, Yogurísimo con Pro Bio 2, Ser Bio Puritas, SanCor Bio, Yakult, etc.), Chile (Uno al Día, Chamyto, Svelty, Cultifrut), etc (Cóccaro, 2010).

1.4 *Lactobacillus* probióticos

Son bacterias ácido lácteas y se ubican en la familia *Lactobacillaceae*, son bacterias gram-positivas, son microorganismos anaerobios y estrictamente fermentativos. Los carbohidratos les resultan indispensables para su buen desarrollo, pues los fermentan para dar lugar al ácido láctico, alcohol y dióxido de carbono como subproductos.

Estos microorganismos no desarrollan olores típicos al crecer en medios comunes, pero contribuyen a modificar el sabor de alimentos fermentados, produciendo compuestos volátiles como diacetilo y sus derivados hasta sulfuro de hidrógeno y aminas en el queso. Los *Lactobacillus* crecen bien en medios ligeramente ácidos, con pH inicial de 6,4 a 4,5 y con un óptimo de desarrollo entre 5,5 y 6,2. Su crecimiento cesa cuando el pH alcanza valores desde 3,6 hasta 4,0 en dependencia de especies y cepas, y disminuye notablemente en medios neutros o ligeramente alcalinos.

Los *Lactobacillus* son capaces de disminuir el pH del sustrato donde se encuentran por debajo del valor 4,0 mediante la formación de ácido láctico. De esta forma evitan, o al menos disminuyen considerablemente, el crecimiento de casi todos los otros microorganismos competidores, exceptuando el de otras

bacterias lácticas y el de las levaduras. La mayoría de las cepas de *Lactobacillus* son principalmente aerotolerantes; su crecimiento óptimo se alcanza bajo condiciones microaerofílicas o anaeróbicas y se conoce que un incremento en la concentración de CO₂ ; de aproximadamente 5% o hasta el 10% puede estimular el crecimiento, sobre todo en el caso del crecimiento superficial sobre medios sólidos. La mayor parte de los *Lactobacillus* son mesófilos (30-40°C), con un límite superior de 40°C. Aunque su rango de temperaturas para el crecimiento oscila entre 2°C y 53°C, algunos crecen por debajo de 15°C y hay cepas que crecen por debajo de 5°C. Otros crecen a temperaturas bajas, cercanas al punto de congelación.

Los lactobacilos son sensibles ante la mayoría de los antibióticos activos contra las bacterias Gram-positivas. La resistencia a la bilis es también una propiedad importante a tener en cuenta para la colonización del intestino por los lactobacilos (Caicedo, 2010). Existen muchas especies de *Lactobacillus* , los mas usados como probióticos son: *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *L. reuteri* (Samaniego y Sosa, 2000).

1.4.1 *Lactobacillus fermentum*

Es una especie Gram-positivos de la bacteria del género *Lactobacillus*. Se asocia con lesiones activas de caries dentales. También se encuentra comúnmente en la fermentación de materia animal y vegetal. Se ha encontrado en la masa madre. Algunas cepas se consideran bacterias "amigables" probiótico o en animales y al menos una cepa que se ha aplicado para el tratamiento de infecciones urogenitales en mujeres. Algunas cepas comercializadas de *L. fermentum* utilizados como probióticos incluyen PCC y ME-3.

1.4.2 *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei es una especie de bacteria anaerobia Gram positiva que se encuentra en el intestino y boca humanos. Esta bacteria, productora de ácido láctico, se emplea en la industria láctea en la elaboración de alimentos probióticos. Se ha comprobado que esta especie particular de lacto bacilo es muy resistente a rangos muy amplios de pH y temperatura, siendo además un complemento al crecimiento de *L. acidophilus*, un productor de la enzima amilasa. Se cree que mejora la digestión y la tolerancia a la leche. Está demostrado que la variante GG ayuda a la recuperación de la diarrea en niños. Por esta razón se emplea en la elaboración de diversos alimentos funcionales (Ljungh y Wadström, 2009).

1.4.3 *Lactobacillus bulgaricus* o *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus*.

Lactobacilos búlgaros, nombre común con el que se conoce a las colonias de las bacterias, las cuales son conglomerados de bacterias lácticas y levaduras de asociación simbiótica estable embebidas en una matriz de polisacáridos, cuyo tamaño varía de entre 5mm y 2.5 mm; de consistencia elástica y de color blanco-amarillento. A pesar de que fueron descubiertas por el búlgaro Dr. Stamen Grigorov en 1905, ya eran conocidas por los antiguos tracios que vivían en el territorio de la Bulgaria moderna desde 6000 -7000 a. C. Las utilizaron para inducir la fermentación de la leche de oveja para obtener yogur, queso, etc., y que serían los primeros alimentos probióticos en el mundo.

Lactobacillus brevis es una especie en forma de bacterias gram-positivas, barra de bacterias de ácido láctico, hay aproximadamente 16 diferentes cepas. Se puede encontrar en muchos entornos diferentes. Se los encuentra en alimentos como la col y encurtidos. También es una de las causas más comunes de deterioro de la cerveza. Ingestión se ha demostrado que mejora la función inmune humano, y se ha patentado

varias veces. Se lo encuentra en el intestino humano, e la vagina y heces (Vaseva, 2010).

1.4.4 *Lactobacillus acidophilus*

El *L. acidophilus* crece de manera natural en una gran variedad de alimentos, incluidos la leche, la carne, el pescado y los cereales. Se encuentra presente el intestino, en la boca y en la vagina del ser humano. Este absorbe la lactosa y la metaboliza formando ácido láctico. Son resistentes a la bilis. Consume los nutrientes de otros muchos microorganismos entrando en competencia con ellos y controlando, por la disminución de nutrientes, el desarrollo desmedido de estos.

Durante la digestión, también ayuda en la producción de niacina, ácido fólico y vitamina B6 (piridoxina). Algunos estudios demuestran que el *L. acidophilus* puede ayudar a la desconjugación y separación de los aminoácidos por los ácidos biliares, que posteriormente pueden ser reciclados por el cuerpo. Aunque en términos generales, se cree que es seguro y con pocos efectos secundarios, el *L. acidophilus* por vía oral se debe evitar en personas con lesión intestinal, sistema inmunológico debilitado o con un crecimiento excesivo de bacterias intestinales (Samaniego y Sosa, 2000).

1.5 Efectos benéficos de *Lactobacillus acidophilus*

Durante los últimos años se han venido realizando diversos estudios sobre el papel que cumplen los probióticos en la salud del consumidor. Aunque se deberían profundizar más las investigaciones, haciendo estudios in vivo. A continuación se detallaran algunos beneficios que se atribuyen a los *Lactobacillus acidophilus*.

1.5.1 Vaginitis bacterial

Se han realizado estudios en los que se centran en el uso y el potencial de *Lactobacillus* para prevenir las infecciones de las vías urogenitales e intestinales. La presencia y el dominio de *Lactobacillus* en la vagina se asocia con un riesgo reducido de la vaginosis bacteriana y las infecciones del tracto urinario. Los mecanismos parecen implicar factores anti-adhesión, subproductos tales como peróxido de hidrógeno y bacteriocinas letal para los patógenos, y la modulación inmune. La ingestión de estas cepas en el intestino también se ha demostrado para modificar la flora vaginal a un estado más saludable. Además, estas cepas inhiben el crecimiento de patógenos intestinales, así como urogenital, colonizar el intestino y proteger contra las infecciones (Reid y Burton, 2002).

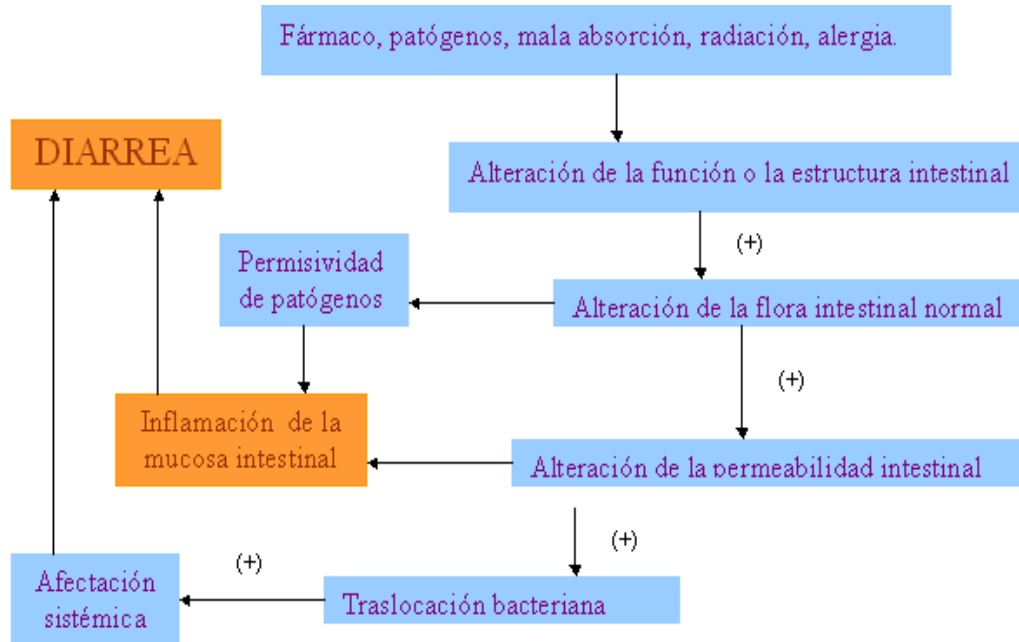
1.5.2 Prevención de la diarrea asociada por diferentes causas

Una pequeña cantidad de investigaciones en seres humanos indica que el *Lactobacillus acidophilus* podría ser efectivo si se usa para prevenir la diarrea en personas que consumen antibióticos. El uso de antibióticos que alteren la flora gastrointestinal se asocia con síntomas clínicos como diarrea, lo que ocurre hasta en el 30% de pacientes. Los síntomas van de leves y autolimitados a grave, sobre todo en las infecciones por *Clostridium difficile*. Los probióticos ayudan a mantener o restablecer la microecología intestino durante o después del tratamiento antibiótico.

En otros estudios nos muestran que estos microorganismos ayudan en el caso de la diarrea causada por el rotavirus, reduciendo la duración y gravedad de la diarrea. Con este probiótico se puede provocar una respuesta inmunológica general, así como el aumento de anticuerpos contra rotavirus (Santosa et al, 2006). En la siguiente tabla se detalla la forma en que los probióticos pueden prevenir la diarrea, ya sea causada por el uso de fármacos, microorganismos patógenos, por la radiación

y alergias. Con el símbolo más se muestran los puntos potenciales de prevención y tratamiento.

Tabla 4 Esquema de la fisiopatología de los trastornos intestinales



Fuente: Arribas 2009

1.5.3 Colesterol alto

El potencial hipocolesterolémico de los probióticos se ha evaluado en sujetos humanos. En un ensayo holandés con 30 hombres sanos también encontró que consumir yogur fermentado con *L. acidophilus* varias semanas, disminuyeron los niveles de colesterol total y LDL de 4,4 y 5,4%, respectivamente, en comparación con los controles. Varios mecanismos se sugieren para la actividad de los probióticos en la reducción del colesterol. Se cree que los probióticos desdoblan enzimáticamente los ácidos biliares. Puesto que, el colesterol es el precursor para la síntesis de nuevos ácidos biliares, el uso de colesterol para sintetizar nuevo bilis conduciría a una disminución de la concentración de colesterol en la sangre (Dalto, 2012).

1.5.4 Intolerancia a la lactosa

Alrededor del 70% de la población mundial, presenta intolerancia a la lactosa, relacionada con la disminución de la actividad de la lactasa en la mucosa intestinal, genéticamente determinada por nuestra condición de mamíferos. La lactosa no digerida es fermentada por la flora intestinal, con producción de agua, ácidos grasos y gas, que ocasionan síntomas como dolor abdominal, flatulencia y diarrea. Los probióticos contribuyen a mejorar la digestión de la lactosa y reducen la sintomatología por la mala absorción, gracias a que los *Lactobacillus* poseen una actividad enzimática (lactasa) que sigue funcionando en el intestino y permite la digestión del azúcar, lo cual permite que personas con intolerancia a la lactosa, puedan consumir leche, y eviten los eventuales síntomas (Manzano, et al, 2010).

1.5.5 Síndrome del colon irritable

El síndrome de intestino irritable (SII) es una de las patologías gastrointestinales más comunes; se caracteriza por dolor abdominal, frecuencia de defecación alterada, consistencia de heces modificada, meteorismo e hinchazón. Diferentes estudios clínicos tanto en niños como en adultos han mostrado efectos significativos del consumo de probióticos sobre la frecuencia y severidad del dolor en el SII. Entre los probióticos que han sido estudiados se encuentran: *Lactobacillus* Lp299v, *L. casei* GG, *L. acidophilus*. Estos probióticos han mostrado un efecto benéfico en el SII sobre todo para controlar el dolor abdominal, pero son necesarios estudios con mayor rigor (Manzano, et al, 2010).

1.5.6 Disminución del crecimiento del cáncer (colon)

El cáncer colorrectal (CCR) es una de las principales causas de muerte por cáncer en el mundo occidental. Aproximadamente el 70% de los cáncer colorrectal se asocia

con factores ambientales, probablemente, sobre todo la dieta. Hay interés en el posible papel protector de las leches fermentadas que contienen probióticos contra el CRC. Los probióticos pueden modular beneficiosamente varias de las principales funciones intestinales, siendo capaces de suprimir el crecimiento tumoral por mecanismos como absorción de compuestos carcinogénicos, degradación de los compuestos carcinogénicos, estimulación del sistema inmune.

Aunque la evidencia no es concluyente y se requiere mucha más investigación, los datos revisados constituyen un conjunto prometedor de la evidencia que apoya el papel protector de las leches fermentadas con probióticos en la reducción del riesgo de cáncer de colon. En experimentos con animales, exploran la capacidad del yogurt para inhibir la proliferación de células tumorales en ratones y encontraron que consumirlo redujo entre un 23-35% el número de tumores cuando se comparó con grupos de control alimentados solo con leche. También se ha realizado estudios en seres humanos en donde consumieron leche acidificada todos los días, mostraron que mientras el contenido intestinal de las bacterias de ácido láctico se eleva, la concentración de enzimas perjudiciales disminuye (Saikali, et al. 2009).

Los probióticos no poseen únicamente una acción anticancerígena, sino que además, muestran una acción antagonista sobre la proliferación de células tumorales quizás debido a una estimulación del sistema inmune tanto a nivel local, como a nivel sistémico o general (Amores, et al 2004).

CAPITULO 2:

EL HELADO

2.1 Definición

El helado o crema helada, es un postre congelado hecho de agua, leche, crema de leche o combinadas con saborizantes ya sean naturales o artificiales y edulcorantes o azúcar. En los últimos tiempos también se le están adicionando frutos secos, frutas, chocolates, yemas de huevos, sustancias estabilizantes y emulsificantes.

La norma INEN NTE 706 (2005) define al helado como un producto alimenticio, higienizado, edulcorado, obtenido a partir de una emulsión de grasas y proteínas, con adición de otros ingredientes y aditivos permitidos en los códigos normativos vigentes, sometidos a congelación con o sin batido, en condiciones tales que garanticen la conservación del producto en estado congelado o parcialmente congelado durante su almacenamiento y transporte.

2.2 Breve historia del helado

No se puede precisar el origen de los helados. Hay quienes sostienen que los antiguos romanos crearon una bebida de frutas, miel y nieve traída de los Alpes para preparar esta bebida helada a Nerón. Otros señalan que los chinos hace muchos años antes de Cristo, mezclaban la nieve de las montañas con miel y frutas.

Aún antes, en el 400ac., en Persia, un plato enfriado como un pudín, hecho de agua de rosas y vermicelli (o cabello de ángel), se asemejaba a un cruce entre un sorbete y un pudín de arroz, el cual era servido a la realeza durante el verano. Los persas habían dominado ya la técnica de almacenar hielo dentro de grandes *refrigeradores*, enfriados de forma natural, conocidos como *Yakhdan*. Estos almacenes mantenían el hielo recogido durante el invierno o traído de las montañas durante el verano.

Trabajaban usando altos receptores de viento que mantenían el espacio de almacenado subterráneo a temperaturas frías. El hielo era luego mezclado con azafrán, frutas y otros sabores variados.

En China, el Emperador Tang (618-697, Antes de la Era Cristiana) de la Dinastía Shang, tenía un método para crear mezclas de hielo con leche. De China esta receta pasó a la India, Persia (Irán, en la actualidad) y después a Grecia y Roma. Pero es precisamente en la Italia de la Baja Edad Media cuando el helado toma carácter de naturaleza en Europa; el navegante Marco Polo en el siglo XIII, al regresar de sus viajes a Oriente, trajo varias recetas de postres helados usados en Asia durante cientos de años, los cuales se implantaron con cierta popularidad en las cortes italianas.

En el siglo XVI se descubrió que el nitrato de etilo mezclado con la nieve producía temperaturas muy bajas lo que influiría de manera importante en la fabricación de helados. Cuando Catalina de Medicis contrajo matrimonio con Enrique II de Francia, ella hizo que su cocinero llevara las primitivas recetas de helados a la corte francesa, guardándose las mismas con mucho secreto. En Francia se añadió huevo a las recetas. Una nieta de Catalina se casó con un príncipe inglés, llevando así el helado a Inglaterra. De esta manera, se difundieron estos productos en Europa llevándose luego a América durante la época de la colonización.

En el año 1660, el siciliano Francisco Procope abrió en París un establecimiento, llamado Café Procope, alcanzando gran fama por sus helados. El rey Luis XIV lo llevó a su presencia para felicitarlo por su producto. Se puede considerar a este establecimiento como la primera heladería. Se dice que bajo Luis XIV comenzaron a prepararse los helados de vainilla y de chocolate, más tarde los de crema de leche, hasta llegar al helado actual.

Un gran paso en esta industria fue el descubrimiento del descenso crioscópico (descenso de la temperatura de solidificación) de las soluciones de sal (salmueras) las cuales permitían que utilizando un balde rodeado con una mezcla de hielo y sal o de agua y sal a bajas temperaturas, se congelaran mediante el batido bebidas y zumos de frutas azucarados, dando lugar a los primeros helados de textura cremosa.

En 1913 se inventó la primera máquina continua para elaborar helados que constaba de un gran cilindro de acero, congelado por un equipo muy potente de frío y en la parte interior, de un batidor con aspas impulsado por un potente motor eléctrico, que mueve la mezcla continuamente hasta que dicha mezcla alcance la consistencia de una crema helada.

En el año 1700, los helados llegaron a América del Norte y se hicieron populares en Estados Unidos. Pero en el año de 1896 una indígena ecuatoriana, Rosalía Suárez, empieza a elaborarlos con un procedimiento rústico y autóctonos de la época, mezclando el jugo de fruta con claras de huevo en una paila de bronce y al hacerla girar sobre una cama de paja con hielo de los páramos del volcán Imbabura, Cotacachi, cubiertos de sal en grano. Así de simple se crearon los mejores helados que son conocidos dentro y fuera del Ecuador, delicioso helado de variados sabores que deleita a propios y extraños. Su receta familiar transformó la fruta en helado. Teniendo más de 100 años de existencia en nuestro país. Actualmente en el Ecuador se han perfeccionado mucho las técnicas de fabricación de helados. (Di Bartolo, 2005).

2.3 Clasificación

Existen diversas clasificaciones que se pueden hacer según su composición, ingredientes, temperatura de congelado entre otros.

De acuerdo a la composición de las mezclas para helados, se pueden clasificar en:

- Helados de agua o sorbetes: Esta denominación corresponde a los productos en los que el componente básico es el agua. Deben responder a exigencias como, extracto seco, min: 20,0% p/p, materia grasa de leche, máx.: 1,5 % p/p.
- Helados de leche: Corresponde a los productos que han sido elaborados a base de leche. Deben responder a exigencias como, sólidos no grasos de leche, min: 6,0 % p/p. materia grasa de leche, min: 1,5 % p/p.
- Helados de Crema: esta denominación corresponde a los productos que han sido elaborados a base de leche y han sido adicionados de crema de leche y/o mantequilla o grasa hidrogenada. Deben responder a exigencias como, sólidos no grasos de leche, min: 6,0 % p/p. Materia grasa de leche, min: 6,0 % p/p (Caicedo, 2010).

Según sus ingredientes puede ser:

- Helado de leche con grasa vegetal.
- Helado de yogurt.
- Helado de yogurt con grasa vegetal.
- Helado de grasa vegetal.
- Helado sorbete.
- Helado de fruta.
- Helado de nieve.
- Helado de bajo contenido calórico.

Tabla 5. Clasificación de los helados según su temperatura de almacenamiento

Helado	Temperatura	Característica
Blando	-3 a -5°C	Bastante agua sin congelar, vida útil de un día.
Normal	-10 a -15°C	Características intermedias entre blando y duro, su vida útil es de una semana.
Duro	-25°C	Casi toda el agua está congelada, su vida útil es muy larga (6meses)

Fuente: Sánchez Iris, 2009.

2.4 Características cualitativas de un helado

Además del sabor, existen otras características por medio de las cuales se puede evaluar la calidad del postre. Estas son la consistencia referente a la dureza o suavidad. El cuerpo está determinado por el líquido en el cual están suspendidos los cristales, que puede ser viscoso y esponjoso, o muy acuoso y compacto. Y la textura, que hace referencia a la sensación que da el helado sobre la lengua, pudiendo ser gruesa o fina dependiendo del tamaño de los cristales de hielo.

Cuando los cristales son pequeños ($<35\ \mu\text{m}$) el helado es muy suave. Cuando van de 35 hasta $55\ \mu\text{m}$ produce un producto de textura suave y los mayores a $55\ \mu\text{m}$ son de textura gruesa. Los cristales de mezclas con alta cantidad de grasa parecen mas finos de lo realmente son, ya que la grasa lubrica los cristales. Los cristales de hielo son esenciales para la consistencia y la sensación de frío que el helado produce en la boca, el frío hace que el sabor dulce se perciba con menor intensidad. Para que los cristales no sean muy grandes la congelación debe ser rápida y es necesario conservar el producto sin fluctuaciones de temperatura (Sánchez, 2009)

2.5 Requisitos para los helados norma INEN NTE 706

Tabla 6 Requisitos fisicoquímicos

Clase de helado	De crema de leche	De leche	De yogurt
Requisito			
Grasa total, % m/m, mínimo	8	1,8	1,5
Grasa lactea, % m/m, mínimo	8	1,8	1,5
Grasa vegeta, % m/m, mínimo	---	---	0
Sólidos totales, % m/m, mínimo	32	27	25
Proteína lactea, % m/m, mínimo (N x6,38)	2,5	1,8	1,8
Ensayo de fosfatasa alcalina	negativo	negativo	negativo
Peso/volumen, g/l mínimo	475	475	475
Acidez como ácido láctico, % m/m, mínimo	-----	-----	0,25
Coolesterol ** mínimo	0,1	0,1	-----
Colorantes ***			
** Solamente se declara huevo en su fórmula de composición			
*** Se determinará "ausencia" o "presencia"			

Fuente: INEN NTE 706, 2005

Tabla 7 Requisitos microbiológicos

Requisitos	n	m	M	c
Recuento de microorganismos mesófilos ¹⁾ , UFC/g	5	10000	100000	2
Recuento de Coliformes, UFC/g	5	100	200	2
Recuento de E. Coli, ²⁾ UFC/g	5	Ausencia	Ausencia	0
Recuento de Staphylococcus coagulasa positiva, UFC/g	5	50	100	2
Detección de Salmonella/25g	5	Ausencia	Ausencia	0
Detección de Listeria monocytogenes/25g	5	Ausencia	Ausencia	0
¹⁾ El recuento de microorganismos mesófilos no se realiza en el helado de yogur. ²⁾ En los helados con agregados en donde se requiere hacer dilución 10^{-1} el resultado se expresará como recuento de E. coli, UFC/g < 10				

Fuente: INEN NTE 706, 2005

En donde:

n = número de muestras por examinar

m = nivel de aceptación

M = nivel de rechazo

c = nivel de muestras defectuosas que se acepta

En el anexo 1, puede encontrar la norma INEN NTE 706 completa.

2.6. Composición de los helados

Los helados son la combinación de diversos ingredientes entre los que destacan: el aire, los azúcares, el agua, las grasas, la leche, las frutas, el cacao y la vainilla. Y de aditivos como emulsionantes, aromatizantes, colorantes y estabilizantes.

- Aire

Este ingrediente es adicionado al producto durante el batido. Su función es dar volumen a la mezcla y también sirve como aislante, ayudando a que el producto

tenga una mejor resistencia al descongelado. Para esto se puede ayudar de la materia grasa, así como el uso de emulsionantes.

- Azúcares

Principalmente son los azúcares como la Sacarosa, Dextrosa, Glucosa, Fructosa y el azúcar invertido. Principalmente se utiliza la sacarosa por ser mas económica. El contenido de azúcar mínimo en el helado es del 13% al , de los cuales el 50% corresponde a la sacarosa. Los azúcares a demás de conferir el dulzor a l producto además ayudan a la textura del helado. En excesiva cantidad, enmascaran el sabor, descienden considerablemente el punto de congelación y hacen al helado pegajoso y pesado.

- Agua

Debe usarse el agua potable, que llene todas las exigencias requeridas para el agua de consumo humano. Aparentemente se presta poca atención a este aspecto fundamental pero no hay que olvidar que los sólidos requieren de la fase líquida para su completa disolución. El agua puede proceder de la misma leche si se usa leche líquida o de fuente externa.

- Leche

Además de la leche propiamente dicha, se utilizan muchos de sus derivados: Leche descremada, leche en polvo entera y descremada, suero de leche, leche condensada, leche evaporada, leches fermentadas. La leche para ser usada en la producción de este postre debe de tener una acidez máxima de 0.2gr por cada cien mililitros de

leche. Debe contener 3.2% w/w de proteínas como mínimo, materia grasa de 3% w/w como mínimo, Extracto seco magro mínimo de 8.2% w/w.

La leche en polvo que se utiliza en heladería debe de ser de un color uniforme, blanco o cremoso claro, carente de color amarillo o pardo, característico de un producto que ha sido sometido a un calentamiento excesivo. No debe contener conservadores y neutralizantes. La acidez máxima será de 1.45% expresada en ácido láctico para la entera y de 1.85% para la leche desnatada. Ausencia de impurezas microscópicas.

Con la denominación de leche nos estamos refiriendo a la leche de vaca que es normalmente la utilizada en la elaboración de los helados. Asimismo, nos referimos a leche estandarizada, homogeneizada y pasteurizada industrialmente (Madrid y Cenzano, 2003).

- Grasas

Contienen cantidades superiores al 10% de su peso de grasa, fundamentalmente saturada, responsable en gran medida de su alto aporte energético y relacionado con un mayor riesgo a padecer enfermedades coronarias. La grasa podrá ser de origen animal, procedente de la mantequilla y la grasa de la leche, o bien de origen vegetal, procedente del aceite de coco y palma hidrogenados utilizados en su fabricación.

Las grasas aportan la cremosidad del helado, aumenta su volumen y dan mejor sabor. El exceso tiene sus efectos negativos ya que tiende a reducir el volumen, esto es debido a que las burbujas de aire que se forman en su interior son tan grandes que se chocan entre si provocando la pérdida de aire.

Entre las grasas de origen vegetal más usadas tenemos: manteca de coco, de palma, de cacao. La manteca de coco es de consistencia pastosa o fluida, según la temperatura según la temperatura ambiente, de color blanco marfil inodora o de sabor suave. Por estas propiedades es muy usada en los helados, ya que no aporta sabores ni colores extraños. La manteca de palma es una masa de consistencia pastosa o fluida, según la temperatura de color amarillo rojizo, con sabor agradable y suave. La manteca de cacao y es una masa sólida que funde al paladar de color blanco o amarillento, con olor y sabor típicos del cacao.

La sustitución de la grasa láctea por la vegetal no influye en la calidad del helado provocando solo ligeras variaciones en el sabor y el color que pueden ser fáciles de corregirse adicionando aromatizantes y colorantes adecuados. El uso de este tipo de grasa lo que aporta es un menor costo de fabricación y se debe informar al consumidor en la etiqueta del producto que contiene este tipo de grasas (Madrid y Cenzano, 2003).

- Huevos y sus derivados

Estos son utilizados como ingredientes para los helados llamados mantecados, aportan textura, aroma y sabor característicos. Hay que tener en cuenta que últimamente se están dejando de usar y se sustituyen con los emulsificantes, debido a su alta carga microbiológica que afecta a la calidad e inocuidad del producto (Madrid y Cenzano, 2003).

- Colorantes

Es importante mencionar que aunque en la fabricación de algunos tipos de helados se utiliza fruta como parte de los ingredientes, esta no proporciona el suficiente color para darle una apariencia atractiva al producto. Por lo tanto se requiere de adicionar

colorantes para intensificar y estandarizar la apariencia de los mismos. Además es usada para camuflar leves defectos en el producto.

La nueva tendencia en el uso de productos naturales ha favorecido el uso de colorantes extraídos principalmente de vegetales, frutas, semillas o raíces. Pero estos tienen algunas desventajas. Primero hay que usar una cantidad mayor, puesto que la intensidad y la estabilidad de los colorantes se ve afectada por: la cantidad de grasa y de proteínas de la leche usada, el tratamiento térmico que se le da al producto, el pH, la cantidad de aire adicionada, el tiempo de almacenado y el tipo de envasado.

Para la utilización de colorantes artificiales la norma INEN no determina cantidad solo la presencia o ausencia, sin embargo esta es 300 ppm solos o en combinación. Los colorantes naturales no tienen dosis permitidas (Madrid y Cenzano, 2003).

- Aromatizantes

Los aromatizantes como su nombre lo indica, proporcionan el olor y sabor al producto en el que se utilizan. Pueden ser clasificados según su procedencia en naturales y artificiales. Los aromas sintéticos artificiales son muy usados por que tienen un alto poder aromatizante, bastando unas pequeñas dosis para conseguir el efecto deseado, son más baratos, son más persistentes. La lista de aromatizantes permitidos incluye 300 sustancias. No existe peligros de toxicidad, ya que se utilizan dosis muy bajas (Madrid y Cenzano, 2003).

- Emulsificantes y estabilizantes

El uso de emulsificante y estabilizantes en los helados ayudan a:

- Aumentar la viscosidad de la mezcla. De esta manera se retrasa el desnatado (separación de la emulsión en una fase rica en grasa y otra pobre en ésta) y favorecen así la estabilidad de la emulsión.
- Mejorar la incorporación de aire y la distribución de las células de aire. En agua forman espuma con el aire y acentúan con ello la capacidad de batido de la mezcla.
- Mejorar el cuerpo y textura.
- Mejorar la estabilidad durante el almacenamiento.
- Demorar el crecimiento de los cristales de hielo.
- Mejorar las propiedades de fusión y derretido.

La leche y productos lácteos son de una composición química muy compleja y, por consiguiente, se pueden presentar fácilmente interacciones entre los estabilizantes y los componentes de la leche que den por resultado la precipitación de la proteína de ésta y/o de los estabilizantes. El empleo de mezclas de estabilizantes hace posible obtener un efecto intensificado debido al sinergismo existente entre los diferentes tipos de estabilizantes.

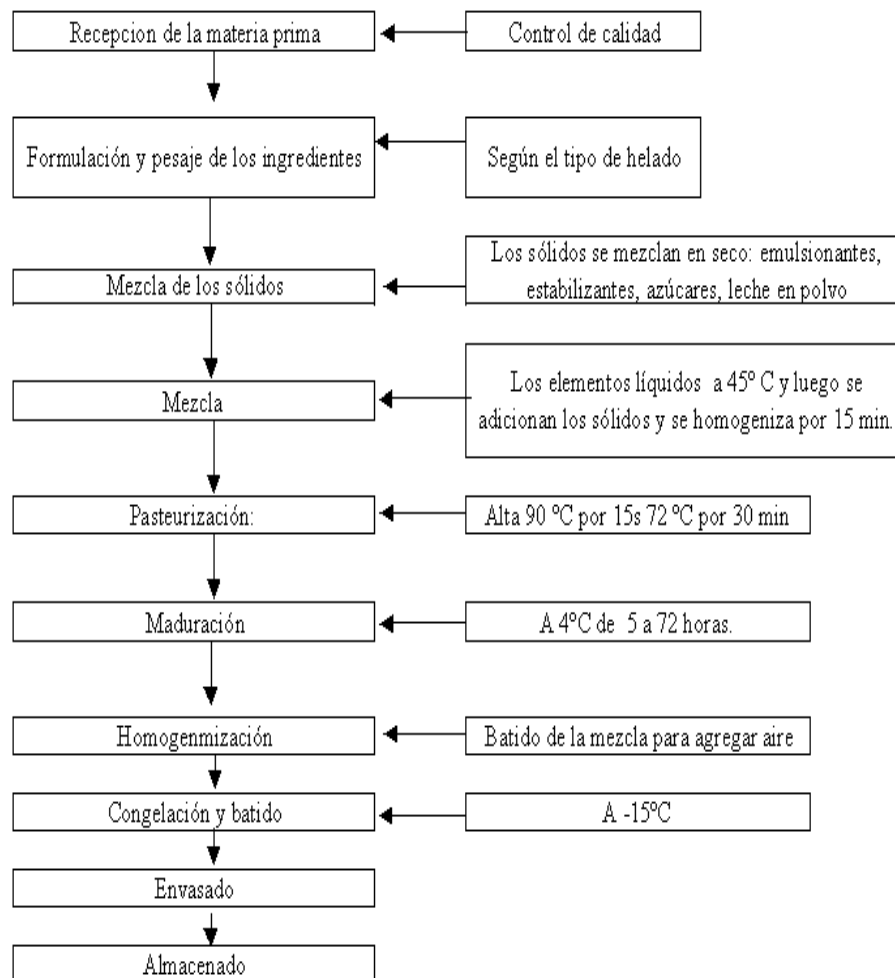
Los tipos de emulsionantes mas extensamente empleados en la elaboración de helados son los mono-digliceridos de los ácidos grasos. Estos se obtienen haciendo reaccionar las grasas (triglicéridos) con glicerina. El ingrediente funcional de estos es el 1-monoglicerido, que consta de una parte hidrófila (glicerina) y de una cadena lipófila de ácido graso. En una mezcla grasa / agua, el monoglicerido se colocara, durante el proceso, en la capa interfacial entre ambas, orientando la parte de glicerina hacia la fase acuosa y la cadena de ácido graso hacia la fase grasa. Esto reduce la tensión superficial e impide la floculación de los glóbulos de grasa, evitando así la separación de las dos fases.

Elegir un combinado de emulsionante y estabilizante para un helado no es nada fácil. Aunque entra en la composición como una cantidad ínfima con respecto a los otros componentes, su papel es determinante para la consistencia y el aspecto del helado.

La elección del más adecuado se realiza mediante la selección de los criterios que mejor corresponden a los objetivos del cliente. En esta elección se tienen en cuenta la fórmula, el proceso, las exigencias referentes al equipamiento (viscosidad, transferencias, envase: extrusión o a granel, condiciones de endurecimiento, almacenaje), el comportamiento frente a la fusión, el aspecto organoléptico y el precio. Además, si se aplican combinaciones en sobredosis, la consistencia del helado se torna viscosa, gomosa, pegajosa o espesa (Madrid y Cenzano, 2003).

2.7 Proceso de elaboración

La elaboración artesanal o industrial de los helados incluyen distintos procesos:



2.8 Mercado Nacional de helados

La investigación realizada sobre la producción de helados de acuerdo a la recolección de datos y análisis, nos indican los datos estadísticos del consumo de helados se divide en la siguiente manera:

- En la región costa, con un consumo del 36% del total bruto
- En la región sierra, con un consumo del 30% del total bruto
- En la región amazónica e insular 34% del total bruto

El consumo per cápita de helado entre los ecuatorianos es de 3,5 litros de helado al año; cifra bastante baja si se considera que en los Estados Unidos y en Europa el consumo de helados es de 10 y 15 litros anuales por habitante, cifra considerada alta en relación a nuestro país, de acuerdo a los datos investigados es por la realidad económica de los países desarrollados y también por existir temperaturas superiores a 20 C° en diferentes estaciones del año, factor climático e importante que se toma en consideración y tiene influencia en la demanda del producto (Aigaje y Cachipundo, 2010).

2.9 Helado probiótico

El helado es un producto delicioso y nutritivo, teniendo en cuenta sus propiedades se han realizado estudios relacionados con la utilización de microorganismos probióticos en los mismos. A partir de la década de los 90 se han estado desarrollando una serie de investigaciones relacionadas con la supervivencia de las bacterias ácido láctico a las temperaturas de congelación y almacenamiento de los helados, obteniéndose resultados satisfactorios. Varias investigaciones ponen en evidencian las propiedades de las bacterias ácido lácticas, muchas de ellas reconocidas dentro del grupo de las bacterias probióticas, para soportar el efecto de

la rápida disminución de la temperatura y durante largos periodos de almacenamiento bajo estas condiciones mantener niveles de viabilidad de hasta 10^9 ufc/g. Algunas de las cepas de bacterias probióticas utilizadas han sido el *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* y *L. rhamnosus*.

La presente investigación ha sido desarrollada con el fin de evaluar los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Evaluar la viabilidad del uso de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 en la elaboración de helados.

Objetivos específicos:

- Establecer el punto óptimo de inoculación de *L. acidophilus* en el proceso de elaboración de helado
- Determinar la viabilidad de la bacteria en el producto terminado luego de un periodo de almacenamiento.

CAPITULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales e insumos para elaboración de helado

Los materiales e insumos utilizados para la elaboración de helados se presentan en el siguiente cuadro:

Material / Insumo	Proveedor	Presentación y detalles técnicos
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA 5	Distribuidora Descalzi, Quito	Paquetes de 25 g. Bacteria liofilizada Anexo 2
GRANOEMUL MGD 90	Granotec Guayaquil	Paquete 100g Anexo 3

Tabla 8 Emulsificante y probióticos usados

La leche y crema de leche que se utilizó fue de la lechera de Nestlé, la leche en polvo “La Vaquita” y como aromatizante y saborizante se utilizó esencia de vainilla de la industria Levapan. A continuación se detallará los porcentajes de los insumos utilizados para la elaboración del helado.

Insumo	%
Leche	65
Crema de leche	15
Azúcar	13
Leche en polvo	5,6
Emulsificante	0,5
LA 5	0,5
Vainilla	0,4

Tabla 9: Insumos

Además se utilizó una máquina para hacer helados caseros de una capacidad máxima de 7 litros, marca Elite.



Para la elaboración de 1 litro del medio de cultivo se utilizaron los siguientes insumos:

Insumo	Cantidad gr.
Peptona universal	10
Extracto de carne	5
Tween 80	1
Extracto de levadura	5
Agar – agar	12
Glucosa	20
Hidrogenofosfato Dipotásico	2
Sulfato de magnesio	0.1
Sulfato de manganeso	0.05
Acetato sódico	5
Citrato Diámonico	2

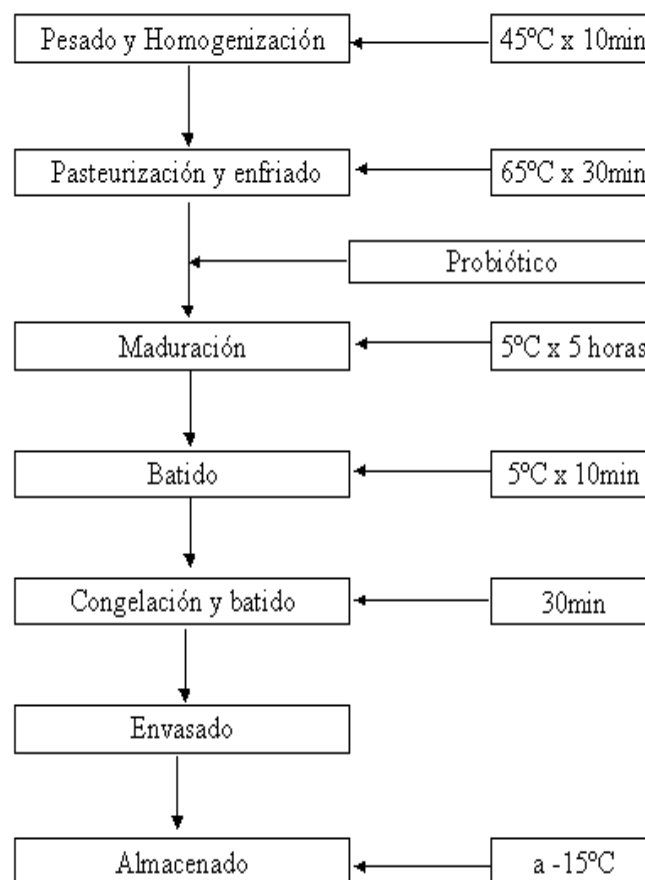
Tabla 10: Insumos para la preparación del agar MRS

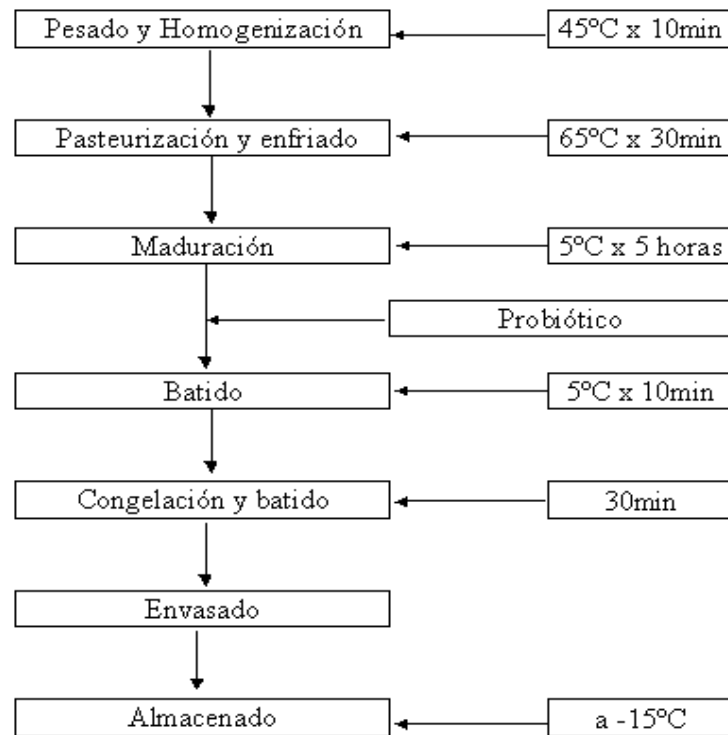
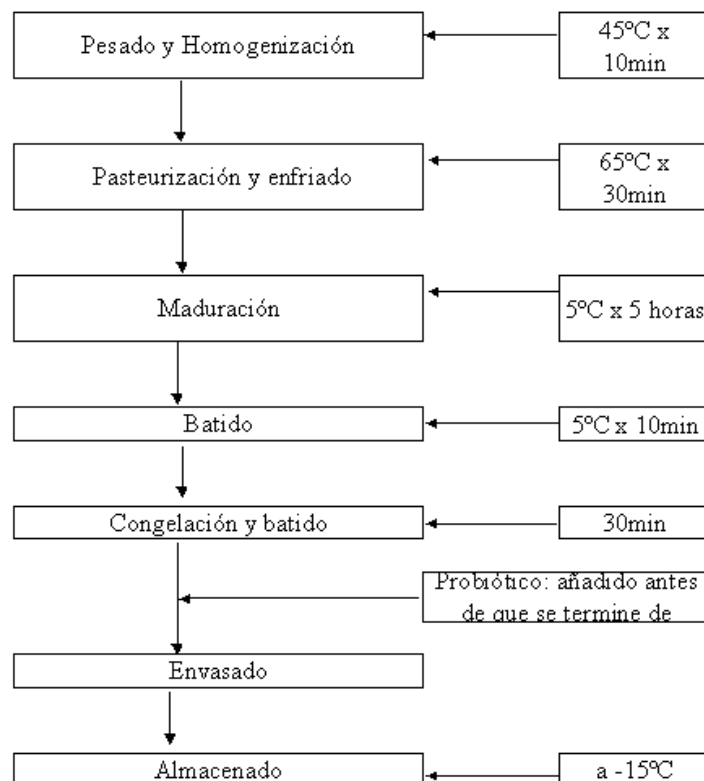
Para la elaboración de 1 litro de agua peptonada se utilizó 15 gr de peptona universal.

3.2. Elaboración del helado

Para esta investigación se elaboraron helados, inoculando la cepa en distintos momentos del proceso. De cada uno de estos tiempos de adición del probiótico se elaboraron 5 muestras. A continuación detallaremos el diagrama que se siguió para cada tratamiento.

Tratamiento 1 (T1) Inoculación antes de la maduración.



Tratamiento 2 (T2) Inoculación antes del batido.**Tratamiento 3 (T3) Inoculación antes del envasado.**

3.3. Pruebas microbiológicas

Al siguiente día de elaborado el helado se realizaron las siembras respectivas, tomando 1gr de la muestra y pasándolo a un tubo con agua destilada (concentración 10^{-1}). De esta solución se realizó una dilución seriada hasta llegar a la concentración 10^{-3} . De cada dilución se inoculó 1 ml a las cajas con el medio de cultivo. Esto se lo realizo en una cámara de flujo laminar, previamente desinfectada. Luego las cajas fueron colocadas en fundas de sellado hermético para favorecer el crecimiento bacteriano en ausencia de oxígeno. Las placas fueron incubadas en estufa a una temperatura de 37° C por 4 días, con suministro de humedad. Este proceso fue replicado luego de 15 días.



Foto 2 Cajas inoculadas con muestra de helado en condiciones de anaerobiosis



Foto 3 Proceso de incubación a 37° C

3.4 Recuento bacteriano y observaciones al microscopio de las bacterias aisladas

Las placas preparadas e inoculadas según lo descrito en 2.3 fueron analizadas para verificar el crecimiento de colonias aisladas de *Lactobacillus*. Se revisó el crecimiento de bacterias a las 24, 48 y 96 horas después de la inoculación. Las colonias bien crecidas y diferenciables al ojo humano fueron contabilizadas y registradas. Además, se realizaron frotis de las bacterias aisladas, los cuales fueron teñidos con azul de metileno y observados en microscopio Olympus CH2 con la ayuda del lente 100x.

CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1 Recuento de *Lactobacillus* en los tratamientos aplicados para la elaboración de helado probiótico

A continuación se presenta el recuento de *Lactobacillus*, realizado a los diferentes tratamientos utilizados para la elaboración de helado probiótico. El conteo de colonias se realizó 96 horas después de la inoculación para todos los tratamientos.

Tratamiento	T1			T2			T3		
Repetición	10^1	10^2	10^3	10^1	10^2	10^3	10^1	10^2	10^3
1	233	108	156	12	21	1	581	456	110
2	369	136	115	16	11	2	126	33	125
3	356	447	243	41	15	1	274	119	126
4	221	37	155	24	31	2	186	562	64
5	189	13	123	36	2	4	324	144	96
Promedio	273,6	148,20	158,4	25,8	16,00	2	298,2	262,80	104,2

Cuadro 1: Resumen de recuento de *Lactobacillus* en los tratamientos aplicados para elaboración de helado probiótico.

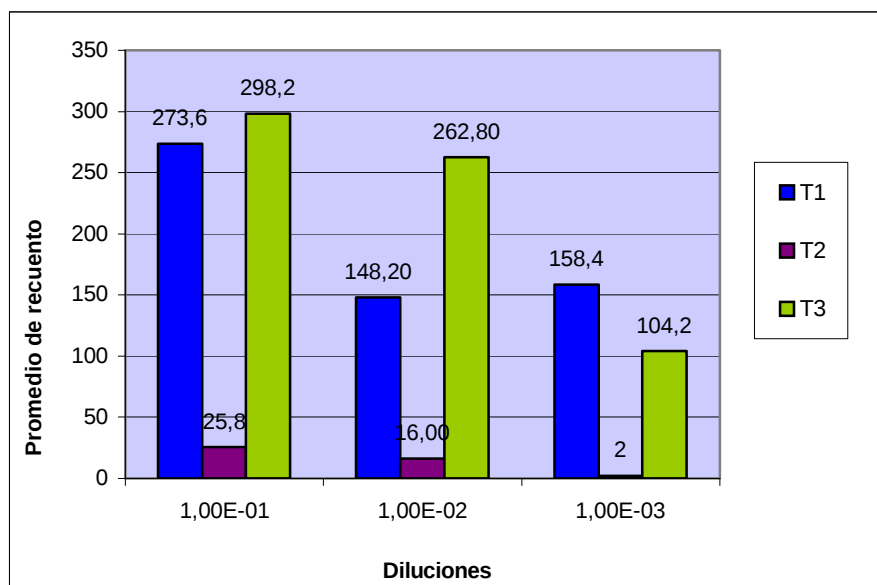


Gráfico 1: Resumen de recuento de *Lactobacillus* en los tratamientos aplicados para elaboración de helado probiótico.

Transcurridos 15 días de la inoculación, se realizó un nuevo recuento de microorganismos con los tratamientos 1 y 3, ya que fueron los que presentaron mejor viabilidad inicial del microorganismo.

Tratamiento	T1			T3		
Repetición	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ¹	10 ²	10 ³
1	187	136	35	124	16	6
2	273	118	109	82	32	23
3	209	205	80	79	10	10
4	107	269	116	118	17	14
5	113	117	64	111	42	23
Promedio	177,8	169,00	80,8	102,8	23,40	15,2

Cuadro 2: Resumen de recuento de *Lactobacillus* en los tratamientos con los mejores resultados aplicados para elaboración de helado probiótico.

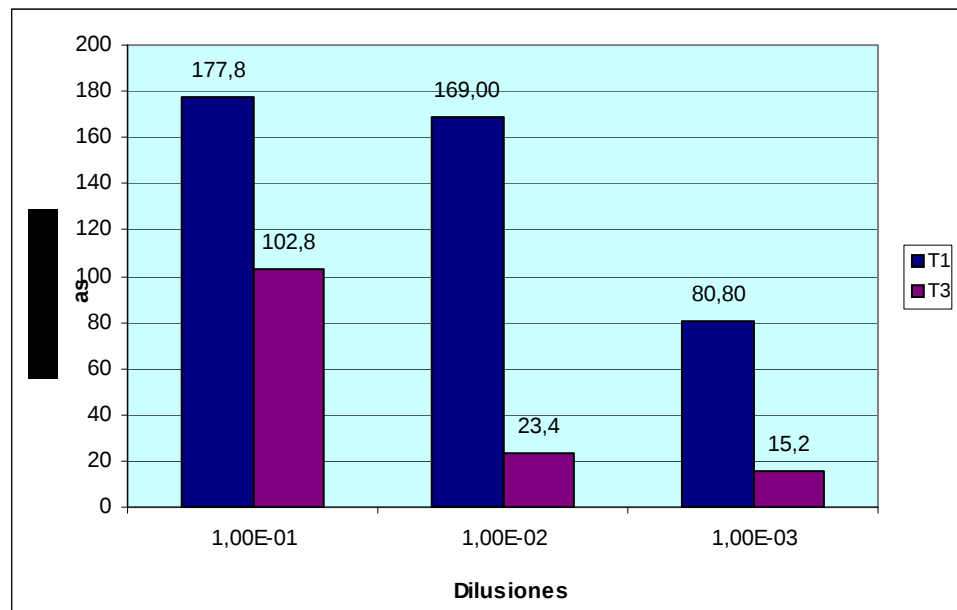
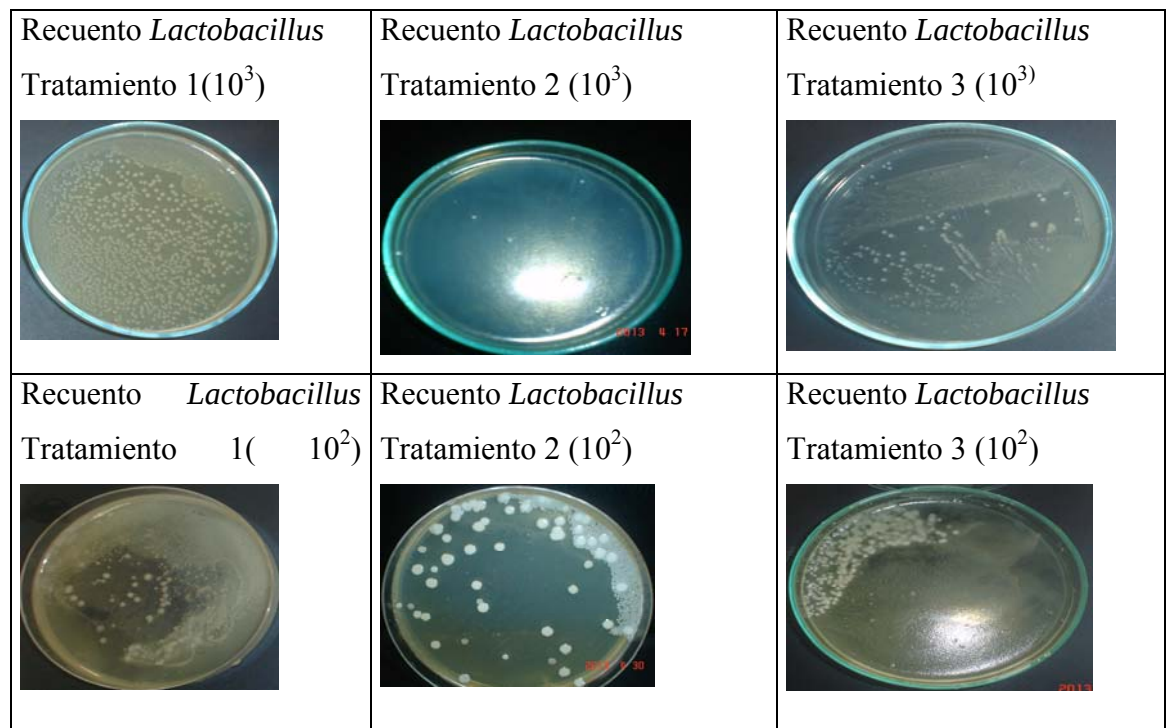


Gráfico 2: Resumen de recuento de *Lactobacillus* en los mejores tratamientos aplicados para elaboración de helado probiótico.

A continuación se presentan imágenes de las placas, luego del crecimiento de colonias diferenciadas de *Lactobacillus*.



Fotos 4: Fotografías del crecimiento en placas con agar MRS de *Lactobacillus* del helado probiótico.

4.1.2 Observación al microscopio de colonias aisladas de *Lactobacillus*

Los resultados de las observaciones al microscopio de colonias de *Lactobacillus* obtenidas de las placas preparadas según 2.3 se presentan a continuación.

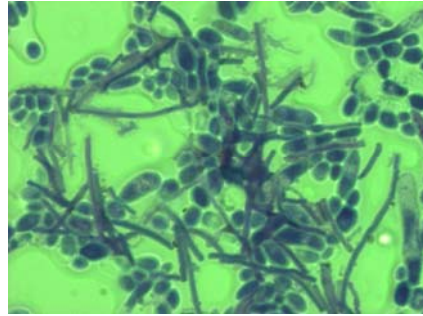


Foto 5: Observación microscópica de colonias de *Lactobacillus* aisladas de helado probiótico.

4.2 Discusión

Los retos actuales para desarrollar helados funcionales tienen que ver con dos aspectos: el mantenimiento de la calidad del producto terminado, midiendo propiedades físicas del producto y aceptabilidad del consumidor; así como la viabilidad de los microorganismos probióticos en el proceso de cristalización, sometiendo esta materia biológica a los fuertes efectos provocados por un estrés mecánico y cambios bruscos de temperatura.

En nuestro helado se pudo contabilizar un promedio de 1.5×10^5 UFC por gramo de producto, lo que comparando con los resultados obtenidos en investigaciones que han sido realizadas, en el muestran resultados similares a los obtenidos en nuestro helado probiótico.

La viabilidad en el tratamiento en el que se inoculó el microorganismo antes del proceso de maduración de la mezcla (T1), se debe a que durante este periodo los microorganismos tuvieron un mayor tiempo de adaptación al medio. En el tratamiento 3, los microorganismo inoculados momentos antes del envasado, las bacterias no sufrieron los daños ya que en el tiempo de almacenamiento se adaptaron, se activaron y crecieron (González *et al*, 2012).

Se estima que en el tratamiento 2, no hubo un mayor crecimiento bacteriano porque estas fueron adicionadas en antes del batido, por lo que sufrieron daños por el cizallamiento y además por la adición de aire a la mezcla, que provoca una alteración de la membrana celular, terminando en la deshidratación intracelular y desnaturalización de proteínas.

En el periodo de almacenamiento se observa que la población bacteriana comienza su descenso lentamente, sin embargo aun conserva propiedades de alimento funcional (carga de probióticos mínimo 1×10^6 ufc/g). Esta tendencia, se debe posiblemente a factores como el frío, el cual retarda la acción metabólica de las células vivas, haciendo que éstas entren en un estado de latencia; además hay que controlar la etapa de congelación del producto, ya que una lenta congelación produce cristales de hielo mas grandes que afectan directamente la membrana celular de los microorganismos, haciendo que estos mueran. Por otro lado la crema de leche que contiene el producto brinda una protección a las bacterias, protegiéndolas un poco de la congelación y los cristales de hielo (Hernández, 2011).

El recuento de bacterias registró valores de 1.5×10^5 UFC/g. Este valor es inferior a la concentración de microorganismos que debe tener un producto para ser considerado probiótico (10^9 UFC/g), según lo que nos dice Moscoso, 2008. Según la FDA recomienda que el recuento de probiótico mínimo en un alimento deba ser de al menos 10^6 CFU por gramo o ml de producto, según este criterio, nuestro helado tiene un valor cercano para ser considerado un producto probiótico.

No se realizaron pruebas de degustación del producto, pero no hubo mucha diferencia en el sabor del helado en los diferentes tratamientos. En el T1 se apreció una ligera acidez, debido a que las bacterias tuvieron mayor tiempo de producir ácido láctico, por lo mismo tuvo una mayor resistencia a la incorporación de aire.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Según los datos obtenidos se pudo determinar los siguientes puntos:

- Se evaluaron tres puntos de inoculación del *Lactobacillus acidophilus* La-5 y se encontró que la mejor etapa de inoculación de los probióticos fue antes de la maduración y antes del congelado.
- Las bacterias siguieron viables, luego de 15 días de almacenado el producto.
- Se confirma que un producto lácteo como el helado puede servir como vehículo para llevar microorganismos probióticos al ser humano.
- Se recomienda realizar una investigación más detallada en la que se evalúe la cantidad de probiótico a inocular y el grado de aceptación del producto, por parte del consumidor.
- Para que exista una mejor vialidad de las bacterias, pueden protegerse mediante una técnica de encapsulado, con lo cual se evita que existan mayores pérdidas de vialidad.

BIBLIOGRAFÍA

- AIGAJE Elias y CACHIPUENDO Carlos, PROYECTO DE INVERSIÓN PARA LA CREACIÓN DE UNA FÁBRICA DE HELADOS DE CONO, EN EL CANTÓN CAYAMBE, PROVINCIA DE PICHINCHA, Tesis [online]. 2010, [citado 2013-05-06], pp. 76. Disponible en: <http://www.biblioteca.ueb.edu.ec/bitstream/15001/376/1/Documento.pdf>
- AMORES R, et al PROBIÓTICOS, REV ESP QUIMIOTERAPIA. [online]. 2004, Vol. 17 (Nº 2) : 131-139 [citado 2013-04-25] Disponible: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/17/2/131.pdf>
- ARRIBAS Maria, PROBIÓTICOS: UNA NUEVA ESTRATEGIA EN LA MODULACIÓN DEL SISTEMA INMUNE, España, Tesis, [online], 2009, [citado 2013-04-25], Disponible en: <http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/2159/1/17820467.pdf>
- ASEMI, et al, EFFECT OF DAILY CONSUMPTION OF PROBIOTIC YOGHURT ON INSULIN RESISTANCE IN PREGNANT WOMEN: A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL, European Journal of Clinical Nutrition Rev., [online], 2013, [citado 2013-04-25], Disponible en: <http://www.sbs-italia.it/public/News/allegato8.pdf>
- BHADORIA y MAHAPATRA LAS PERSPECTIVAS, ASPECTOS TECNOLÓGICOS Y LIMITACIONES DE LOS PROBIÓTICOS - UNA RESEÑA MUNDIAL. Rev. [online]. 2011, Vol. 1 (2): 23-42, [citado 2013-04-25] Disponible: http://www.sciencedomain.org/download.php?f=1301583884-published_Bhadoria_2011_EJFRR055.pdf
- BARRIO A. PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS Y SIMBIÓTICOS. DEFINICIÓN, FUNCIONES Y APLICACIÓN CLÍNICA EN PEDIATRÍA, Rev. Pediátrica [online], , 2006, [citado 2013-04-14], pp.20. Disponible en: <http://www.pap.es/files/1116-531-pdf/556.pdf>
- CAICEDO Yanina, ESTUDIO DE LA VIABILIDAD EN LA INCORPORACIÓN DE BACTERIAS PROBIÓTICAS MICRO ENCAPSULADAS EN HELADOS, Tesis, [online], Colombia 2010, [citado 2013-03-26], pp.68. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/2385/1/107372.2010.pdf>

- CÓCCARO Graciela, DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS ALIMENTOS FUNCIONALES Y NOVEL FOOD ALTERNATIVAS PARA EL DISEÑO DE ALIMENTOS Y SU MARCO LEGAL, Informe. [online], 2010, [citado 2013-04-13], pp.20. Disponible en: <http://www.pap.es/files/1116-531-pdf/556.pdf>
- CORRALES A; HENDERSON, M y MORALES, I. SOBREVIVENCIA DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS EN HELADO BATIDO CON LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS y Bifidobacterium lactis. *Rev. Chil. Nutr.* [Online]. 2007, vol.34, n.2 [citado 2013-02-26], pp. 157-163. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000200008
- DALTO Paula, EFECTO DE LOS PROBIÓTICOS SOBRE EL COLESTEROL PLASMÁTICO *Rev. nutricional.*, [online], 2012, [citado 2013-04-25], Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/diaeta/v30n139/v30n139a03.pdf>
- DI BARTOLO Eduardo, GUÍA PARA LA ELABORACIÓN DE HELADOS, *Rev. Argentina.* [online]. 2005, [citado 2013-04-26], pp. 59. Disponible en: <http://www.infolactea.com/descargas/biblioteca/134.pdf>
- GUARNER Francisco et al, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE GASTROENTEROLOGÍA GUÍAS PRÁCTICAS: PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS, *Revista*, [online], *World Gastroenterology Organisation*, 2008, [citado 2013-03-26], pp.22. Disponible en: http://www.worldgastroenterology.org/assets/downloads/es/pdf/guidelines/19_probioticos_prebioticos_es.pdf
- GONZÁLEZ Ramírez, et al, ESTADO DEL ARTE Y AVANCES EN LA ELABORACIÓN DE HELADOS, México *Rev.* [online]. 2012, VOL. 11 [citado 2013-05-08], Disponible: <http://www.eumed.net/rev/tlatemoani/11/elaboracion-helados.pdf>
- HERNÁNDEZ Aldo, et al. DESARROLLO DE HELADOS CON CULTIVOS PROBIÓTICOS LACTOBACILLUS CASEI Y LACTOBACILLUS. *Rev.* [online]. 2011, [citado 2013-05-06], pp. 16. Disponible en: http://www.alimentariaonline.com/media/MLC043_hela.pdf

- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN-706, 205, Primera revisión.
- LIDBECK A, et al, IMPACT OF LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS SUPPLEMENTS ON THE FAECAL MICROFLORA AND SOLUBLE FAECAL BILE ACIDS IN COLON CANCER PATIENTS *Rev. [online]*. 1998, VOL. 4: 81-88 [citado 2013-05-08], Disponible: www.microbecolhealthdis.net/index.php/.../8940
- LJUNGH Åsa, WADSTRÖM Torkel, LACTOBACILLUS MOLECULAR BIOLOGY: FROM GENOMICS TO PROBIOTICS, Norfolk UK, Caister Academic Press, año 2009. pp 179. 1era edición [online], [citado 2013-05-02], Disponible en: <http://books.google.com.ec/books?id=d7GUXvQhxnoC&printsec=frontcover&dq=Lactobacillus&hl=es-419&sa=X&ei=4NiKUZ6dJYa89QSonDABA&ved=0CDQQ6AEwAQ#v=onepage&q=Lactobacillus&f=false>
- MANZANO A, et al, EFECTOS CLÍNICOS DE LOS PROBIÓTICOS: QUE DICE LA EVIDENCIA. *Rev. Chil. Nutr. [Online]*. 2012, vol.39, n.1 [citado 2013-05-08], pp. 98-110. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182012000100010&lng=es&nrm=iso. ISSN 0717-7518. doi: 10.4067/S0717-75182012000100010.
- MADRID, A; CENZANO, I. HELADOS: ELABORACIÓN, ANÁLISIS Y CONTROL DE CALIDAD. España. Mundi prensa. Año 2003. pp. 340. 1era edición. Disponible en: <http://books.google.es/books?id=8-d0UZvoijQC&pg=PA7&dq=helados&hl=es&sa=X&ei=HPqWUdrIMluC9gS49IDYAw&ved=0CDkQ6AEwAQ#v=onepage&q=helados&f=false>
- MONTIEL Alexandra, EVALUACIÓN IN VITRO DE ACCIÓN DE CULTIVOS PROBIÓTICOS (*BIFIDOBACTERIA*) SOBRE CEPAS DE ENTEROBACTERIAS (*E. COLI*, *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* Y *ENTEROBACTER*) NOSOCOMIALES CON RESISTENCIA MICROBIANA Tesis, [online], Colombia 2010, [citado 2013-05-06], pp.45. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/2791/1/107409.2010.pdf>
- MOSCOSO Xavier, EFECTO SIMBIÓTICO ENTRE UN CULTIVO PROBIÓTICO *LACTOBACILLUS CASEI SUBS. CASEI* Y EL

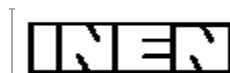
PREBIÓTICO INULINA EN DOS CONCENTRACIONES EN EL QUESO GAUDA SEMIDESCREMADO Tesis, [online], Chile 2008, [citado 2013-04-23], pp.122. Disponible en:

<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2008/egm896e/doc/egm896e.pdf>

- REID G y BURTON J, USE OF LACTOBACILLUS TO PREVENT INFECTION BY PATHOGENIC BACTERIA. , London, Rev., [online], 2002, [citado 2013-05-06], Disponible en:
[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11909742?log\\$=activity](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11909742?log$=activity)
- SAMANIEGO Luz y SOSA Maryla, LACTOBACILLUS SPP.: IMPORTANTES PROMOTORES DE ACTIVIDAD PROBIÓTICA, ANTIMICROBIANA Y BIOCONSERVADORA. Centro de Estudios Biotecnológicos Matanzas-Cuba, Rev. [online], 2000, [citado 2013-05-05], pp.16. Disponible en:
<http://revistas.mes.edu.cu/greenstone/collect/repo/import/repo/20081023/9789591601131.pdf>
- SÁNCHEZ Iris, DISEÑO Y EVALUACIÓN DE UN HELADO FUNIONAL ELABORADO A PARTIR DEL FRUTO LITCHI CHINESNSIS, ADICIONADO CON FIBRA DE AVENA Y BIFIDOBACTERIAS, Tesis [online]. 2009, [citado 2013-02-25], pp. 76. Disponible en:
<http://tesis.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/8473/1/59.pdf>
- SANTOSA Silvia, et al, PROBIOTICS AND THEIR POTENTIAL HEALTH CLAIMS *Nutrition Reviews*, Vol. 64, No. 6., [online], 2006, [citado 2013-05-08], Disponible en:
<http://www.encognitive.com/files/Probiotics%20and%20Their%20Potential%20Health%20Claims.pdf>
- VASEVA Iva, *PROBIOTIC ACTIVITY OF LACTOBACILLUS DELBRUECKII SUBSP. BULGARICUS IN THE ORAL CAVITY*, Helsinki, An in vitro study, [online], 2010, [citado 2013-05-05], pp.82. Disponible en:
<http://www.doria.fi/bitstream/handle/10024/59448/probioti.pdf>

ANEXO 1

Norma técnica ecuatoriana Helados: Requisitos



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 706:2005
Primera revisión

HELADOS. REQUISITOS.

Primera Edición

ICE CREAM. SPECIFICATIONS.

First Edition

DESCRIPTORES: Helados, requisitos.
AL 03.01-430
CDU: 637
CIIU: 312
ICS: 67.100.40

**Norma Técnica
Ecuatoriana
Obligatoria**

**HELADOS.
REQUISITOS.**

**NTE INEN
706:2005
Primera revisión
2005-10**

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que deben cumplir los helados y las mezclas para helados.

2. ALCANCE

2.1 La presente norma se aplica a helados preenvasados o no, listos para el consumo y a los preparados, concentrados, y bases para la fabricación de helados. Esta norma también se aplica a la fracción de helado que entra en la composición de los productos especiales en combinación con otros alimentos tales como: frutas, preparados a base de harinas y otros.

3. DEFINICIONES

3.1 Para los efectos de esta norma, se adoptan las siguientes definiciones:

3.1.1 *Helado*. Producto alimenticio, higienizado, edulcorado, obtenido a partir de una emulsión de grasas y proteínas, con adición de otros ingredientes y aditivos permitidos en los códigos normativos vigentes, o sin ellos, o bien a partir de una mezcla de agua, azúcares y otros ingredientes y aditivos permitidos en los códigos normativos vigentes, sometidos a congelamiento con batido o sin él, en condiciones tales que garanticen la conservación del producto en estado congelado o parcialmente congelado durante su almacenamiento y transporte.

3.1.2 *Mezcla líquida para helados*. Producto líquido higienizado que se destina a la preparación de helado, que contiene todos los ingredientes necesarios en cantidades adecuadas, de modo que al congelarlo, da el producto final definido en el numeral 3.1.1

3.1.3 *Mezcla concentrada para helados*. Producto líquido concentrado, higienizado que contiene todos los ingredientes necesarios en cantidades adecuadas, que después de adición prescrita de agua o leche y al congelarlo da como resultado el producto definido en el numeral 3.1.1

3.1.4 *Mezcla en polvo para helados*. Producto higienizado con un porcentaje de humedad máximo de 4% m/m, que contiene todos los ingredientes necesarios en cantidades adecuadas, que después de añadir la cantidad prescrita de agua o leche y congelarlo da como resultado el producto definido en el numeral 3.1.1.

3.1.5 *Helado de crema de leche*. Producto definido en el numeral 3.1.1, preparado a base de leche y grasa procedente de la leche (grasa butírica) y cuya única fuente de grasa y proteína es la láctea.

3.1.6 *Helado de leche*. Producto definido en el numeral 3.1.1, preparado a base de leche y cuya única fuente de grasa y proteína, es la láctea.

3.1.7 *Helado de leche con grasa vegetal*. Producto definido en el numeral 3.1.1, cuyas proteínas provienen en forma exclusiva de la leche o sus derivados y parte de su grasa puede ser de origen vegetal.

3.1.8 *Helado de yogur*. Producto definido en el numeral 3.1.1, en donde todos o parte de los ingredientes lácteos son inoculados y fermentados con un cultivo característico de microorganismos productores de ácido láctico (*Lactobacillus Bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) y probióticos, los cuales deben ser abundantes y viables en el producto final.

3.1.9 *Helado de yogur con grasa vegetal*. Producto definido en numeral 3.1.8, cuyas proteínas provienen en forma exclusiva de la leche o sus derivados y parte de su grasa puede ser de origen vegetal.

(Continúa)

DESCRIPTORES: Helados, requisitos

3.1.10 Helado de grasa vegetal. Producto definido en el numeral 3.1.1, cuya única fuente de proteína es la láctea y la fuente de grasa es grasa vegetal o aceites comestibles vegetales.

3.1.11 Helado no lácteo. Producto definido en el numeral 3.1.1, cuya proteína y grasa no provienen de la leche o sus derivados.

3.1.12 Helado de sorbete o sherbet. Producto definido en numeral 3.1.1, preparado con agua potable, con o sin leche o productos lácteos, frutas, productos a base de frutas u otras materias primas alimenticias; tiene un bajo contenido de grasa y proteínas las cuales pueden ser total o parcialmente de origen no lácteo.

3.1.13 Helado de fruta. Producto fabricado con agua potable o leche, adicionado con frutas o productos a base de fruta, en una cantidad mínima del 10% m/m de fruta natural, a excepción del limón cuya cantidad mínima es del 5% m/m. El helado de fruta se puede reforzar con colorantes y saborizantes permitidos.

3.1.14 Helado de agua o nieve. Producto definido en el numeral 3.1.1, preparado con agua potable, azúcar y otros aditivos permitidos. No contienen grasa, ni proteína, excepto las provenientes de los ingredientes adicionados y puede contener frutas o productos a base de frutas.

3.1.15 Helado de bajo contenido calórico. Producto definido en el numeral 3.1.1, que presenta una reducción en el contenido calórico, con respecto al producto normal correspondiente.

4. CLASIFICACIÓN

4.1 Clasificación de helados. De acuerdo con su composición e ingredientes básicos, el helado se clasifica en:

4.1.1 De crema de leche

4.1.2 De leche

4.1.3 De leche con grasa vegetal

4.1.4 De yogur

4.1.5 De yogur con grasa vegetal

4.1.6 De grasa vegetal

4.1.7 No lácteo

4.1.8 Sorbete o "sherbet"

4.1.9 De fruta

4.1.10 De agua o nieve

4.1.11 De bajo contenido calórico

4.2 Clasificación de mezclas para helado

4.2.1 Líquida

4.2.2 Concentrada

4.2.3 En polvo

(Continúa)

4.3 Designación

4.3.1 El helado debe designarse de acuerdo con la clasificación correspondiente del numeral 4.1, seguida del ingrediente que lo caracteriza y a continuación indicarse claramente si se trata de un producto con saborizante.

Ejemplos:

Helado de crema de leche con mora; Helado de agua sabor a fresa; Helado de leche con grasa vegetal, sabor a vainilla.

4.3.2 En el caso de los productos de bajo contenido calórico se debe conservar el nombre del producto normal adicionado de la declaración, de acuerdo a lo establecido en los Códigos Normativos Vigentes (Código de la Salud / Normas Técnicas INEN / Codex Alimentarius / Código Federal de Regulaciones del FDA).

Ejemplo:

Mezcla líquida para helado sabor a mora, "De bajo contenido calórico" / Light / Lite / Ligero / Bajo en.....".

4.3.3 Las mezclas para helados se designan de acuerdo con la clasificación correspondiente del numeral 4.2, seguida de la indicación del producto resultante de acuerdo con la clasificación del numeral 3.1 y del ingrediente que la caracteriza indicando claramente si se trata de un producto con saborizante.

Ejemplo:

Mezcla concentrada para helado de leche, sabor a mora.

5. DISPOSICIONES GENERALES

5.1 En la fabricación de helados se permiten los siguientes ingredientes:

5.1.1 Leche, constituyentes derivados de la leche y productos lácteos frescos, concentrados, deshidratados, fermentados, reconstituidos o recombinados.

5.1.2 Grasas y aceites vegetales, o animales comestibles.

5.1.3 Proteínas comestibles no lácteas.

5.1.4 Edulcorantes naturales y artificiales permitidos.

5.1.6 Agua potable

5.1.7 Huevos y productos de huevo, pasteurizados o productos de huevo que hayan sido sometidos a un tratamiento térmico equivalente.

5.1.8 Frutas y productos a base de fruta.

5.1.9 Agregados alimenticios, destinados a conferir un aroma, sabor o textura; por ejemplo: café, cacao, miel, nueces, cereales, licores, sal, coberturas y otros, o designados a ser vendidos en una sola unidad con el helado, por ejemplo: bizcocho, galletas, etc.

5.2 En la fabricación de helados se permiten el uso de los aditivos alimentarios que pertenezcan a las respectivas clases y que figuren en las listas positivas de aditivos alimentarios de la NTE INEN 2074, Codex Alimentarius o Código Federal de Regulaciones del FDA.

5.3 Cuando el helado se presente en combinación con otros ingredientes alimenticios como los indicados en el numeral 5.1, el helado debe ser el componente principal en una cantidad mínima de 50% en volumen.

(Continúa)

5.4 Los ingredientes lácteos que se emplean en la reconstrucción de las mezclas para helados deben ser higienizados.

5.5 En los helados no se deben exceder los límites de residuos de plaguicidas, y medicamentos veterinarios establecidos en las normas nacionales de carácter oficial adoptadas del Codex Alimentarius (Véase en el numeral 8, FAOSTAT DATA BASE), o de otras normas internacionales.

5.6 En la fabricación de helados de bajo contenido calórico el porcentaje de grasa, de azúcar, o de ambos puede ser reemplazado por sustitutos aprobados por la autoridad de salud competente, con el fin de mantener las características organolépticas lo más parecidas posible al helado normal correspondiente.

5.7 El producto que se descongele no debe congelarse nuevamente.

5.8 No se permite la adición de hielo a la masa de helado durante su elaboración o congelación.

5.9 Las temperaturas de almacenamiento y transporte de las mezclas para helado se deben establecer de acuerdo con su proceso de higienización.

6. REQUISITOS

6.1 Requisitos específicos

6.1.1 Requisitos fisicoquímicos. Los helados y mezclas para helados deben cumplir los requisitos fisicoquímicos indicados en la tabla 1.

TABLA 1. Requisitos fisicoquímicos

Clase de helado Requisito	De Crema de leche	De leche	De leche con grasa vegetal	De yogur	De Yogur con grasa vegetal	De grasa vegetal	No lácteo	Sorbete o "Sherbet"	De fruta	De agua o nieve
Grasa total, % m/m, mín	8	1,8	6	1,5	4,5	6	4	0,5	---	---
Grasa láctea, % m/m, mín	8	1,8	1,5	1,5	1,5	---	0	---	---	---
Grasa vegetal, % m/m, mín	---	---	*	0	3	6	4	---	---	---
Sólidos totales, % m/m, mín	32	27	30	25	25	30	26	20	20	15
Proteína láctea, % m/m, mín (N x 6,38)	2,5	1,8	1,5	1,8	1,5	1,8	0	-----	-----	0
Ensayo de fosfatasa alcalina	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	---	Negativo	---	---
Peso/volumen, g/l mín	475	475	475	475	475	475	475	475	475	-----
Acidez como ácido láctico, % m/m mín	-----	-----	-----	0,25	0,25	-----	-----	-----	-----	-----
Colesterol ** Min	0,10	0,10	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Colorantes ***										

NOTA La mezcla en polvo para helados debe presentar un máximo de 4% de humedad, y cumplir con los requisitos microbiológicos y características fisicoquímicas equivalentes a las indicadas para el helado, según el caso

* El fabricante establece el valor de grasa vegetal, siempre y cuando se cumpla con los valores mínimos de grasa total y de grasa láctea de la Tabla 1.

** Solamente si se declara huevo en su fórmula de composición.

*** Se determinará "Ausencia" o "Presencia".

(Continúa)

6.1.2 Requisitos microbiológicos. Los helados y mezclas para helados concentrada o líquida deben cumplir con los requisitos microbiológicos indicados en la tabla 2.

TABLA 2. Requisitos microbiológicos para helados y mezclas para helados concentrada o líquida

Requisitos	n	m	M	c
Recuento de microorganismos mesófilos ¹⁾ , UFC/g	5	10000	100000	2
Recuento de Coliformes, UFC/g	5	100	200	2
Recuento de E. Coli, ²⁾ UFC/g	5	Ausencia	Ausencia	0
Recuento de Staphylococcus coagulasa positiva, UFC/g	5	50	100	2
Detección de Salmonella/25g	5	Ausencia	Ausencia	0
Detección de Listeria monocytogenes/25g	5	Ausencia	Ausencia	0
1) El recuento de microorganismos mesófilos no se realiza en el helado de yogur. 2) En los helados con agregados en donde se requiere hacer dilución 10^{-1} el resultado se expresará como recuento de E. coli, UFC/g < 10				

En donde:

- n = número de muestras por examinar
- m = nivel de aceptación
- M = nivel de rechazo
- c = número de muestras defectuosas que se acepta

6.1.2.1 Requisitos microbiológicos de las mezclas en polvo para helados. Las mezclas en polvo para helados deben cumplir con los requisitos microbiológicos indicados en la tabla 3.

TABLA 3. Requisitos microbiológicos para mezclas en polvo para helados

Requisitos	N	m	M	C
Recuento de microorganismos mesófilos ,UFC/g	5	10000	100000	2
Recuento de Coliformes, UFC/g	5	10	100	2
Recuento de E. Coli, UFC/g	5	Ausencia	Ausencia	0
Recuento de mohos y levaduras, UFC/g	5	200	1000	2
Detección de Salmonella/25g	5	Ausencia	Ausencia	0

En donde:

- n = número de muestras por examinar
- m = nivel de aceptación
- M = nivel de rechazo
- c = número de muestras defectuosas que se acepta

(Continúa)

6.2 Requisitos complementarios

6.2.1 Higiene

6.2.1.1 Se recomienda que los productos regulados por las disposiciones de la presente norma se preparen y manipulen de conformidad con lo establecido en la Legislación Nacional Vigente sobre Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados o en las secciones correspondientes del Código Internacional de Prácticas Recomendado de Principios Generales de Higiene de los Alimentos (CAC/RCP 1-1969, Rev. 3-1997), y en otros textos pertinentes del Codex Alimentarius.

6.2.1.2 Desde la producción de las materias primas hasta el punto de consumo, los productos regulados por esta norma deben estar sujetos a una serie de medidas de control, las cuales podrán incluir, por ejemplo, la aplicación del sistema HACCP, y deberá demostrarse que estas medidas pueden lograr el grado apropiado de protección de la salud pública.

6.2.2 Las temperaturas de almacenamiento y transporte del helado no deben ser inferior a -18°C .

7. MUESTREO E INSPECCIÓN

7.1 Muestreo

7.1.1 El muestreo se efectuará de acuerdo con lo indicado en la NTE INEN 004. Los planes de muestreo y toma de muestras diferentes a los especificados en esta norma, pueden ser acordados entre las partes, teniendo en cuenta lo establecido en la NTE INEN 255.

7.2 Aceptación o rechazo

7.2.1 Si la muestra ensayada no cumple con uno o más de los requisitos indicados en esta norma, se rechazará el lote. En caso de discrepancia se repetirán los ensayos sobre la muestra reservada para tales efectos. Cualquier resultado no satisfactorio en este segundo caso, será motivo para rechazar el lote.

8. MÉTODOS DE ENSAYOS

8.1 Ensayos fisicoquímicos

8.1.1 *Determinación de la materia grasa*. Se efectuará de acuerdo con lo indicado en la ISO 8262-2, o en la ISO 7328, o en la AOAC 33.8.05 (952.06) adoptado como método Codex (Tipo I) por gravimetría (Röse Gottlieb), se pesan de 4 g a 5 g y se realiza de acuerdo con el método AOAC 33.2.26 (989.05) Mojonier modificado.

8.1.2 *Determinación de los sólidos totales (extracto seco)*. Se efectuará de acuerdo con lo indicado en la NTE INEN 014 (ISO 3728, o en la AOAC 33.8.03 (941.08).

8.1.3 *Determinación de la acidez titulable*. Se efectuará de acuerdo con lo indicado en la NTE INEN 013.

8.1.4 *Determinación de la fosfatasa*. Se efectuará de acuerdo con lo indicado en la NTE INEN 019.

8.1.5 *Determinación de la grasa láctea a través del índice de reichert- meissel*. Se efectuará de acuerdo con lo indicado en la NTE INEN 012.

8.1.6 *Determinación de proteína*. Se efectuará de acuerdo con lo indicado en la NTE INEN 016.

8.1.7 *Determinación de la relación peso/volumen*. Se efectuará de acuerdo con lo indicado en la AOAC 33.8.01 (968.14).

8.1.8 *Determinación del contenido de colesterol*. Se verificará de acuerdo con lo indicado en la NTE INEN 729.

(Continúa)

8.2 Ensayos microbiológicos

8.2.1 *Recuento de microorganismos mesófilos.* Se efectuará de acuerdo con lo indicado en la NTE INEN 1 529-5 (ISO 4833, o en la ISO 6610).

8.2.2 *Recuento de coniformes.* Se efectuará de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 1 529-7 (ISO 4832).

8.2.3 *Recuento de E. Coli.* Se efectuará de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 1 529-8 (ISO 4831).

8.2.4 *Recuento de Staphylococcus aureus coagulasa positiva.* Se efectuará de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 1 529-14.

8.2.5 *Detección de Salmonella/25g.* Se efectuará de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 720 (ISO 6785 (ISO 6579)

8.2.6 *Detección de Listeria monocytogenes/25g.* Se efectuará de acuerdo con lo establecido en la ISO 10560 (ISO 11290-1).

8.2.7 *Recuento de mohos y levaduras.* Se efectuará de acuerdo con lo establecido en la NTE INEN 1 529-11 (ISO 6611).

9. ROTULADO Y ENVASADO

9.1 Rotulado

9.1.1 El rótulo debe cumplir con lo indicado en la NTE INEN 1 334-1 y en la NTE INEN 1 334-2.

9.1.2 La designación del producto se hará de acuerdo con el numeral 4.3.

9.1.3 Los productos de bajo contenido calórico deben declarar la reducción de calorías con respecto al producto normal correspondiente.

9.1.4 En el rótulo de los helados debe incluirse la frase, si se aplica, "Manténgase congelado".

9.1.5 No deben tener leyendas de significado ambiguo ni descripciones de características del producto que no puedan comprobarse debidamente.

9.1.6 La comercialización de estos productos deben cumplir con lo dispuesto en las Regulaciones dictadas con sujeción a la Ley de Pesas y Medidas.

9.2 Envasado

9.2.1 Los envases de los helados deben ser de material y forma tal que den al producto una adecuada protección durante el almacenamiento, transporte y expendio, y deben tener un cierre adecuado que impida la contaminación.

(Continúa)

APENDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 004:1983
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 012:1973

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 013:1984
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 014:1984
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 016:1984
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 019:1973

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 255:1979

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 720:1985

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 729:1985

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 334-1:2000

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 334-2:2000

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-5:1990

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-7:1990

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-8:1990

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-11:1998

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-14:1998

Norma Internacional ISO 3728: 2004

Norma Internacional ISO 4831:1978

Norma Internacional ISO 4832:1991

Norma Internacional ISO 4833:2003

Norma Internacional ISO 6579:2002

Norma Internacional ISO 6610:1992

Leche y productos lácteos. Muestreo.

Leche. Determinación del contenido de grasa

Leche. Determinación de la acidez titulable

Leche. Determinación de sólidos totales

Leche. Determinación de proteína

Leche y productos lácteos. Determinación de la actividad de fosfatasa alcalina usando el método fluorimétrico.

Control de calidad. Procedimientos de muestreo y tablas para la inspección por atributos.

Leche y productos lácteos. Determinación de bacterias patógenas (Salmonella y Shigella)

Leche y productos lácteos. Determinación del colesterol.

Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 1. Requisitos

Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 2. Rotulado nutricional. Requisitos

Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de microorganismos aeróbios mesófilos REP

Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de Recuento de colonias

Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y escherichia coli.

Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la presencia o ausencia de mohos y levaduras (utilizando medio líquido)

Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de Staphylococcus aureus.

Milk and Milk Products. Determinación de sólidos totales.

Microbiology General Guidance for the enumeration of Coliform – Most probable number Technical at 30° C.

Microbiology. General Guidance For The Enumeration Of Coliforms. Colony Count Technique.

Milk and Milk Products. Recuento de microorganismos mesófilos

Milk and Milk Products. Detection de salmonella

Milk and Milk Products. Enumeration of Colony-Forming Units Of Micro-Organisms Colony Count Technique at 30 degrees C.

(Continúa)

Norma Internacional ISO 6611:1992

Milk and Milk Products. Enumeration of Colony-Forming Units Of Yeasts and/or Moulds. Colony Count Technique at 25 degrees C.

Norma Internacional ISO 6785:2001

Milk and Milk Products. Detection of Salmonella spp.

Norma Internacional ISO 7328:1999

Milk – Based Edible Ices and Ice Mixes. Determination of fat Content. Gravimetric Method (Reference Method)

Norma Internacional ISO 8262-2:1987

Milk Products and Milk Based Foods. Determination of Fat Content by the Weibull – Berntrop Gravimetric Method (Reference Method) Part 2. Edible Ice and Ice Mixes.

Norma Internacional ISO 10560:1993/Cor, 1:1994

Milk and Milk Products. Detection of Listeria monocytogenes.

Norma Internacional ISO 11290-1:1996

Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs. Horizontal Method for the Detection and Enumeration of Listeria monocytogenes. Detection Method.

AOAC, 2000, 17th 33.8.03 (941.08)

Total Solids in Ice Cream and Frozen Desserts.

AOAC, 2000, 17th 33.2.26 (989.05)

Mojonnier modificado.

AOAC, 2000, 17th 33.8.05 (952.06)

Fat in Ice Cream and Frozen Desserts.

AOAC, 2000, 17th 33.8.01 (968.14)

Weight per Unit Volume of Package Ice Cream.

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma Técnica Colombiana ICONTEC 1239. *Helados y mezclas para helados*. Instituto Colombiano de Normas y Certificación, Santafé de Bogotá 2002

Norma Venezolana COVENIN 2392 (2 R). *Helados y mezclas para helados*. Comisión Venezolana de Normas Industriales, Caracas 1997

Norma Oficial Mexicana NOM-036-SSA1. *Helados de crema de leche o grasa vegetal. Sorbetes y bases o mezclas para helados*. Especificaciones. Bienes y Servicios, México 1995.

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN 706 Primera revisión	TÍTULO: HELADOS. REQUISITOS.	Código: AL 03.01-430
---	-------------------------------------	---------------------------------------

ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio:	REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo 1983-06-14 Oficialización con el Carácter de Obligatoria por Acuerdo No. 441 de 1983-09-01 publicado en el Registro Oficial No. 579 de 1983-09-15 Fecha de iniciación del estudio: 2004-11-16
--	--

Fechas de consulta pública: de	a
--------------------------------	---

Subcomité Técnico: HELADOS Fecha de iniciación: 2004-11-16 Integrantes del Subcomité Técnico:	Fecha de aprobación: 2005-01-14
---	---------------------------------

NOMBRES:

Dra. Sonia Luna (PRESIDENTA)
Ing. Mariana Soriano
Dr. Gonzalo Paz
Dra. Rocío Zapata
Dra. Mónica Sosa
Dra. Edith Mayorga
Dr. Carlos Santos
Dra. Maritza Freire
Dra. Paulina Salazar
Dr. Hernán Morales
Dra. Teresa Ávila
Lic. Hugo Bustos
Quim. Mauricio Canchigña
Téc. Sara Iturralde
Dra. Amparo Fuentes
Dra. Narcisa Quito
Ing. Fausto Lara M.(SECRETARIO TÉCNICO)

INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

UNILEVER ANDINA ECUADOR
UNILEVER ANDINA ECUADOR
UNILEVER ANDINA ECUADOR
HELADERIAS CONFRUNAT CIA. LTDA.
INST. NACIONAL DE HIGIENE- QUITO
FABRILACTEOS
ESKIMO S. A.
INST. NACIONAL DE HIGUINE-GUAYAS
COMERCIAL DANESA
DIREC. METROPOLITANA DE SALUD
DIREC. METROPOLITANA DE SALUD
HELADERIAS CONFRUNAT CIA. LTDA.
PASTEURIZADORA QUITO
UNILEVER ANDINA ECUADOR
LECOCEM-PARMALAT
LECHES ANDINAS S.A.
INEN

Otros trámites:

El Consejo Directivo del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 2005-08-25

Oficializada como: Obligatoria Registro Oficial No. 127 de 2005-10-18	Por Acuerdo Ministerial No. 05 783 de 2005-09-30
--	--

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Baquerizo Moreno E8-29 y Av. 6 de Diciembre
Casilla 17-01-3999 - Telfs: (593 2) 2 501885 al 2 501891 - Fax: (593 2) 2 567815
Dirección General: [E-Mail:furresta@inen.gov.ec](mailto:furresta@inen.gov.ec)
Área Técnica de Normalización: [E-Mail:normalizacion@inen.gov.ec](mailto:normalizacion@inen.gov.ec)
Área Técnica de Certificación: [E-Mail:certificacion@inen.gov.ec](mailto:certificacion@inen.gov.ec)
Área Técnica de Verificación: [E-Mail:verificacion@inen.gov.ec](mailto:verificacion@inen.gov.ec)
Área Técnica de Servicios Tecnológicos: [E-Mail:inencati@inen.gov.ec](mailto:inencati@inen.gov.ec)
Regional Guayas: [E-Mail:inenguayas@inen.gov.ec](mailto:inenguayas@inen.gov.ec)
Regional Azuay: [E-Mail:inencuenca@inen.gov.ec](mailto:inencuenca@inen.gov.ec)
Regional Chimborazo: [E-Mail:inenriobamba@inen.gov.ec](mailto:inenriobamba@inen.gov.ec)
URL:www.inen.gov.ec

ANEXO 2

Foto de la presentación de la bacteria liofilizada LA-5 Chr Hansen

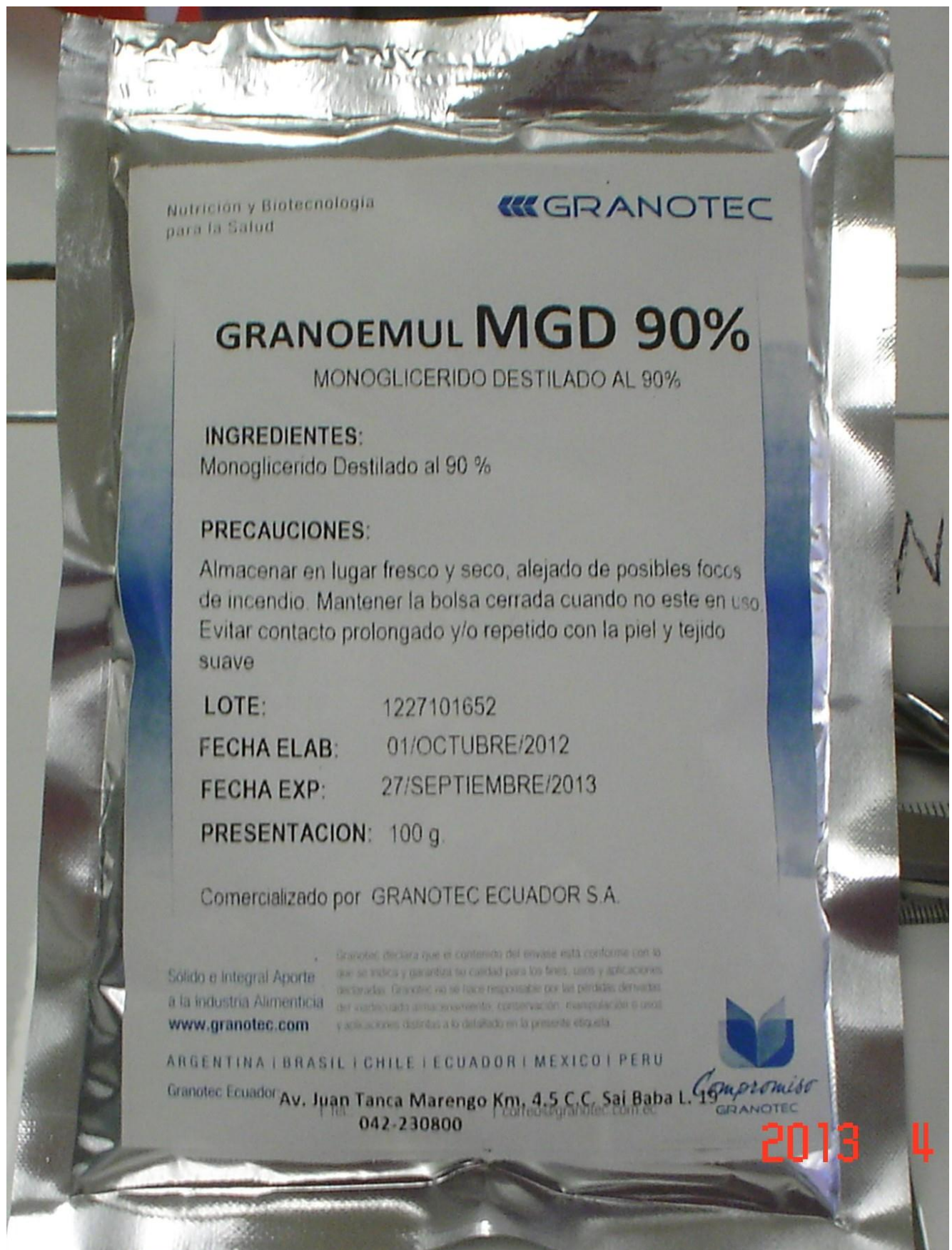
Foto de la presentación de la bacteria liofilizada



ANEXO 3

Foto de la presentación del emulsificante

Foto de la presentación del emulsifiocante



ANEXO 4

Ficha tecnica Crh Hansen

FD-DVS LA-5 Probio-Tec®

Product Information

Version: 1 PI-EU-EN 08-28-2008

Description	Thermophilic Probio-Tec® culture. The culture is a defined single strain selected from Chr. Hansens's culture collection. The strain has a long history of safe use and clinical documentation on possible health benefits are available upon request. LA-5® is a registered trademark of Chr. Hansen.		
Taxonomy	Lactobacillus acidophilus		
Packaging	Material No: 100021	Size 5X25 G	Type Pouch(es) in box
Physical Properties	Color:	Off-white to slightly reddish or brown	
	Form:	Granulate	
Application	Usage The culture is primarily used in production of probiotic milk products (fermented or sweet). The cultures can be applied alone or in combination with other lactic acid cultures, such as Bifidobacterium, yoghurt cultures and mesophilic aromatic cultures (type LD). A HACCP risk assessment has been carried out for fermented dairy products. For all other applications a risk assessment should be completed before the product is released for sale as food safety hazards will differ from fermented products.		
	Suggested dosage It is recommended that LA-5®is inoculated according to the desired probiotic cell count in the final product. This is influenced by the shelf life, the pH and storage temperature of the final product. For fermented products the interaction with other strains as well as fermentation time and temperature may also affect the final probiotic cell count.		

FD-DVS LA-5 Probio-Tec®

Product Information

Version: 1 PI-EU-EN 08-28-2008

The logo for Chr. Hansen, featuring the text "CHR HANSEN" in white capital letters on a dark blue rectangular background. A small green diamond is positioned below the "H" in "HANSEN".

Directions for Use

Remove cultures from the freezer just prior to use. Do not thaw. Sanitize the top of the pouch with chlorine. Open the pouch and pour the freeze-dried granules directly into the pasteurized product using slow agitation. Agitate the mixture for 10-15 minutes to distribute the culture evenly. The recommended incubation temperature is dependent on the application in which the culture is used. For more information on specific applications see our technical brochures and suggested recipes.

Range

Single strain LA-5® is available in frozen and freeze-dried form and in a Dairy Free (DF) version. Blends with LA-5® for production of probiotic fermented milk are also available.

Storage and handling

< -18 °C / < 0 °F.

Shelf life

At least 24 months from date of manufacture when stored according to recommendations.

At +5°C (41°F) the shelf life is at least 6 weeks.

Technical data

Analytical Methods

References and analytical methods are available upon request.

Other Information

LA-5® is micro-aerophilic and slow growing in milk at temperatures between 28 - 43 °C (82-109 °F). The strain ferments lactose to DL-lactic acid.

LA-5® is very stable and has a high resistance towards acids in fermented dairy products.

Legislation

Chr. Hansen's cultures comply with the general requirements on food safety laid down in Regulation 178/2002/EC. Lactic acid bacteria are generally recognized as safe and can be used in food, however, for specific applications we recommend to consult national legislation.

The product is intended for use in food.

Food Safety

No guarantee of food safety is implied or inferred should this product be used in applications other than those stated in the Usage section. Should you wish to use this product in another application, please contact your Chr. Hansen representative for assistance.

FD-DVS LA-5 Probio-Tec®

Product Information

Version: 1 PI-EU-EN 08-28-2008

The logo for Chr. Hansen, featuring the text "CHR HANSEN" in white capital letters on a dark blue rectangular background. A small green triangle is positioned below the "H" in "HANSEN".

Ingredients	Available upon request.
Labeling	Suggested labeling "lactic acid culture" or "starter culture", however, as legislation may vary, please consult national legislation. Labeling with probiotic strain names is possible if a trademark license agreement is in place. Please Contact your local Chr. Hansen representative for further information.
Trademarks	Trademarks appearing in this document might not be registered in your country, even if they are marked with an ®. Trademarks are owned by Chr. Hansen or used under license.
Dietary status	Kosher: Kosher Dairy Excl. Passover
Technical support	Chr. Hansen's Application and Product Development Laboratories and personnel are available if you need further information.

Probio-Tec® LA-5 Blend-100

Product Information

Version: 1 PI-EU-EN 01-05-2010

Material no.	691923				
Description	Probio-Tec® LA-5 Blend-100 is a standardized white, light beige to light reddish fine powder consisting of a freeze-dried culture.				
Taxonomy	Lactobacillus acidophilus, LA-5®				
Ingredients	Culture, maltodextrin and silicon dioxide.				
Dietary status	Kosher: Kosher Dairy Excl. Passover				
Technical Data	Cell Count This product has a minimum potency of 100 billion (1.0E+11) CFU (Colony Forming Units) per gram of powder by end of bulk shelf life, provided the product is stored according to "Storage and handling".				
Application	This is a semi-finished product for production of dietary supplements. A food safety risk assessment has been carried out based on consumption by healthy consumers above 1 year of age. However, the risk assessment of the final product remains the marketer's responsibility. Please observe that the final product might be regulated by food or medicinal product legislation, nationally. If you wish to discuss the legality of use, please contact your Chr. Hansen representative for assistance.				
Packaging	<table> <tr> <th>Size</th><th>Type</th></tr> <tr> <td>5 kg</td><td>Alu pouch in box</td></tr> </table> Each 5 kg pouch is individually packed into a cardboard box.	Size	Type	5 kg	Alu pouch in box
Size	Type				
5 kg	Alu pouch in box				

Probio-Tec® LA-5 Blend-100

Product Information

Version: 1 PI-EU-EN 01-05-2010

CHR HANSEN

Storage and handling

Temperature: 2 - 8 °C / 36 - 46 °F.

Handling

Store bulk probiotics in the original or tightly closed foil pouch under refrigerated conditions. Allow the product to come to room temperature prior to use. To ensure optimum product quality and enhanced stability of the final product, follow Chr. Hansen's handling and packaging procedure for standardized bulk blends.

Shelf life

In Chr. Hansen's original sealed packaging, the product has a minimum shelf life of 24 months from date of manufacture when stored according to "Storage and handling".

The shelf life of any finished product manufactured from this material will depend on its formulation, packaging and storage conditions and should be established separately.

ANEXO 5

Ficha tecnica Granotec

FICHA TECNICA

Marzo 2013

GRANOEMUL MGD 90

PRODUCTO	GRANOEMUL MGD 90 Monoglicerido Destilado al 90 %
DESCRIPCIÓN	Polvo de color blanco
COMPOSICIÓN	Monoglicerido Destilado al 90 %
ESPECIFICACIONES	

CARACTERISTICAS FISICAS

Aspecto	Polvo de libre fluidez
Color	Blanco crema

CARACTERISTICAS QUIMICAS

Humedad	Max. 2 %
Contenido de monogliceridos	Min. 90%
Glicerol libre	Max. 1,5 %
Valor de Iodo	3 - 37 g/100g
Valor acido	3-5 mg KOH/g

CARACTERISTICAS MICROBIOLOGICAS

Contaje total de bacterias	Max. 5,000/g
Levaduras y mohos	Max. 100 /g
Coliformes	Ausente en 0,1 g
Salmonella	Ausente en 25 g

Metales pesados

Arsénico (As)	Max. 3 mg/Kg
Plomo (Pb)	Max. 2 mg/Kg
Mercurio (Hg)	Max. 1 mg/Kg
Cadmio (Cd)	Max. 1 mg/Kg
Metales pesados como Plomo	Max.

APLICACIÓN	De manera general en panificación y repostería.
------------	---



Granotec Ecuador
Av. Juan Tanca Marengo Km 4.5
Centro Comercial Plaza Sai Baba.
Locales 19 y 20, Guayaquil - Ecuador

PBX: +(593) 4 2230 800 Fax: ext. 103
correo@granotec.com.ec
www.granotec.com

**Transferencia
Tecnológica**
Capacitación

Innovación
Investigación
y Desarrollo

**Nutrientes e
Ingredientes**
Productos

Garantía
Calidad y
Compromiso



**DOSIFICACIÓN
RECOMENDADA**

Aplicación	Nivel de Uso	Funcionalidad
Mezcla base para helado	0,5 %	Mejora volumen y tamaño de los cristales durante la congelación
Salsas y aderezos	0,5%	Aumenta la Vida Útil del Producto Evita sinéresis y precipitación.
Variedad de Panes	0.1 - 0.25 % Peso Harina	Mejora la Suavidad
Muffins	0.1 - 0.35 % Peso Harina	Aumenta la Vida Útil del Producto
Masa Dulce	0.25 - 0.35 % Peso Harina	Mejora la Suavidad
Pastas	0.5 - 1.0 % Peso Seco	Mejora la Tolerancia
Cereales	0.5 - 1.0 % Peso Seco	Reduce la Pegajosidad Mejora la textura y extrusión del Producto

Beneficios

Este tipo de productos concentrado da los mayores resultados con una utilización mínima del producto. Se hidrata fácilmente durante el mezclado. Provee de excelente suavidad y de una mayor vida útil al producto final. También mejora el volumen, textura y maquilidad de la masa.

**Condiciones
almacenamiento**

de Almacenar en un lugar fresco y seco. Mantener el container cerrado cuando no está en uso.

Presentación

Funda de polietileno de baja densidad 22.7 Kg.

Seguridad

Usar equipo de protección sobre el aparato respiratorio. Evitar la formación de polvo.

Vida Útil

12 meses



Granotec Ecuador
Av. Juan Tanco Marengo Km 4.5
Centro Comercial Plaza Sai Baba
Locales 19 y 20, Guayaquil - Ecuador

PBX: +(593) 4 2230 800 Fax: ext. 103
correo@granotec.com.ec
www.granotec.com

**Transferencia
Tecnológica**
Capacitación

Innovación
Investigación
y Desarrollo

**Nutrientes e
Ingredientes**
Productos

Garantía
Calidad y
Compromiso

