

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

Instituto de Tecnologías

Programa de Especialización Tecnológica en Alimentos

“Estabilidad del helado de crema de leche”

Seminario de Graduación

Previa a la obtención del título de:

Tecnólogo en Alimentos

Tema:

Estabilidad del helado de crema

Presentado por:

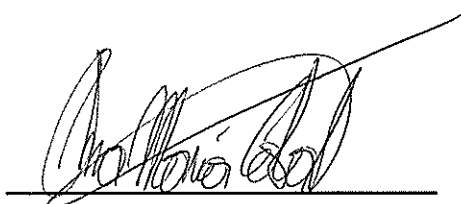
Alexis Bejarano Villamar

Alfonso Silva Ochoa

Guayaquil – Ecuador

2010

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



MSc. Ana María Costa

Directora del Seminario



MBA. Mariela Reyes

Delegada por el Coordinador de Protal



AGRADECIMIENTO

Agradecemos primeramente a Dios por permitirnos concluir con una más de nuestras metas, por guiarnos y darnos una maravillosa familia, porque sin él nada somos y nada podemos hacer.

Este trabajo se lo dedicamos a nuestros padres porque todo lo que somos se lo debemos a ellos. Gracias por sus enseñanzas, por su buen ejemplo, por creer en nosotros, por apoyarnos, por estar siempre a nuestro lado, por comprendernos, por ser nuestros amigos y sobre todo por brindarnos siempre todo su amor.

Agradecemos también a los profesores de la carrera por los conocimientos impartidos durante nuestra preparación profesional.

Finalmente agradecemos a nuestros amigos de la universidad por ayudarnos durante todo el proceso de formación, sin ustedes no hubiera sido lo mismo.



D-63089

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de este Trabajo de Grado nos corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Escuela Superior Politécnica del Litoral”.



Alexis Bejarano V.



Alfonso Silva O.

INDICE GENERAL

CAPITULO I

¿Qué es el helado?	1
Diagrama de Flujo	3
Descripción del Proceso	4

CAPITULO II

Análisis Físicos Químicos	6
Humedad	6
Acidez total	9
Análisis Sensoriales	10
Defectos típicos en la textura	10
Análisis Microbiológicos	11
Microbiología en el helado	11
Descomposición	12
Higiene	12

Análisis Microbiológico	15
Método para el recuento de Aerobios	17
Recuento de Coliformes Totales	20
Método para recuento de Mohos Y Levaduras	23
CAPITULO III	
Análisis Físicos Químicos	26
Humedad	26
Acidez total	27
Análisis Sensoriales	28
Análisis Microbiológicos	29
Método para el recuento de Aerobios	29
Recuento de Coliformes Totales	31
Método para recuento de Mohos Y Levaduras	32
CAPITULO IV	
Conclusiones	34
ANEXOS	
BIBLIOGRAFIA	

RESUMEN

El presente trabajo contiene una descripción detallada sobre los estudios realizados al helado libre de aditivos de manera artificial, para determinar su tiempo de vida útil en el mercado. El trabajo presenta cuatro capítulos, en el primer capítulo se muestra detalladamente las generalidades del producto, diagrama de flujo y la descripción detallada del proceso.

En el segundo capítulo no muestra los análisis necesarios realizados al helado de acuerdo a sus componentes, a los cambios organolépticos, físicos, químicos y microbiológicos que presente a medida que pasa el tiempo.

El tercer capítulo de este trabajo presenta sus respectivos resultados obtenidos durante los análisis con el fin de demostrar la veracidad de la teoría. Estos análisis fueron realizados durante un periodo de 15 días manteniéndose las características igual que al inicio del estudio. Además de los análisis físico-químicos, se presentan análisis microbiológicos y sensoriales realizados al producto para detallar su estabilidad en el mercado.

El cuarto capítulo incluye las conclusiones y recomendaciones en base a la experiencia adquirida durante el tiempo de los análisis y los resultados obtenidos, la bibliografía utilizada como soporte para la redacción del presente trabajo y sus respectivos anexos cuyo objetivo es promover un mejor entendimiento del mismo.

PROBLEMA

Debido a la nueva tendencia de los consumidores en elegir productos naturales para una alimentación correcta y sana; con este propósito hemos elaborado el helado totalmente libre de aditivos.

Pero sin la presencia de estos, se desencadena ciertas dificultades con respecto a la textura, ya que no se está utilizando ningún tipo de emulgente artificial y a la vez este puede presentar algún tipo de crecimiento de microorganismos sobre todo los psicrófilos ya que el helado no tiene preservante y está almacenado por congelación.

HIPOTESIS

Como mencionamos anteriormente que el helado está libre de aditivos, se estima que la estabilidad del producto durará aproximadamente 3 meses. Comparando con un helado existente en el mercado que dura 6 meses y tiene todos los aditivos necesarios para mantener su textura y calidad.

Además hay que hacer el estudio del crecimiento microbiano, mediante muestreos periódicos de la estabilidad del producto para poder así cuantificar el desarrollo de los microorganismos.

OBJETIVO

Demostrar que la vida útil del producto se puede mantener durante 3 meses, usando el método de conservación de larga duración como la congelación y que además se va a obtener un helado totalmente inocuo para el consumo humano, con sus características organolépticas deseadas.

INTRODUCCIÓN

La vida útil del helado depende ampliamente de las condiciones de almacenamiento del mismo. Lo importante es evitar fluctuaciones de temperatura durante su almacenamiento y distribución, además de lograr un adecuado proceso.

Los cristales de hielo son relativamente inestables, pueden sufrir cambios de tamaño, número y forma en un proceso conocido como recristalización. Si la temperatura aumenta durante el almacenamiento, algunos de los cristales, particularmente los más pequeños, se fundirán y de esta manera aumentará la cantidad de agua no congelada. Por lo contrario, cuando la temperatura disminuya, el agua no congelada volverá a cristalizar pero no volverá a formar núcleos sino que se depositará en la superficie de los cristales más grandes, disminuyendo así el número total de cristales y aumentando el tamaño promedio de los mismos. La recristalización se puede minimizar manteniendo temperaturas bajas y constantes durante el almacenamiento del producto. Cuando la temperatura se mantiene entre -30 y -40⁰C (temperatura ideal), el helado puede permanecer estable por períodos casi indefinidos sin agrandamiento de los cristales de hielo. Cabe decir que la temperatura practicable estaría aproximadamente entre los -25 a -30 °C. Por encima de esa temperatura los cristales de hielo pueden crecer y las burbujas de aire pueden expandirse, limitando la vida

útil del producto con las mismas características físicas que al comienzo del congelamiento.

CAPITULO I

¿Qué es el helado?

El helado es un lácteo solidificado producido por el congelamiento de una mezcla pasteurizada por agitación para incorporar aire y garantizar una uniformidad en la consistencia. La mezcla está compuesta de una combinación de leche, azúcar, dextrosa, jarabe de maíz en forma seca o líquida, agua y huevos, saborizantes inofensivos, y estabilizadores o emulsificantes- todos de materiales comestibles saludables. La composición de los helados varía en diferentes mercados y localidades, el cual es sabroso, nutritivo, saludable y relativamente barato. La producción de helado se ha incrementado rápidamente en los años recientes en muchos países del mundo.

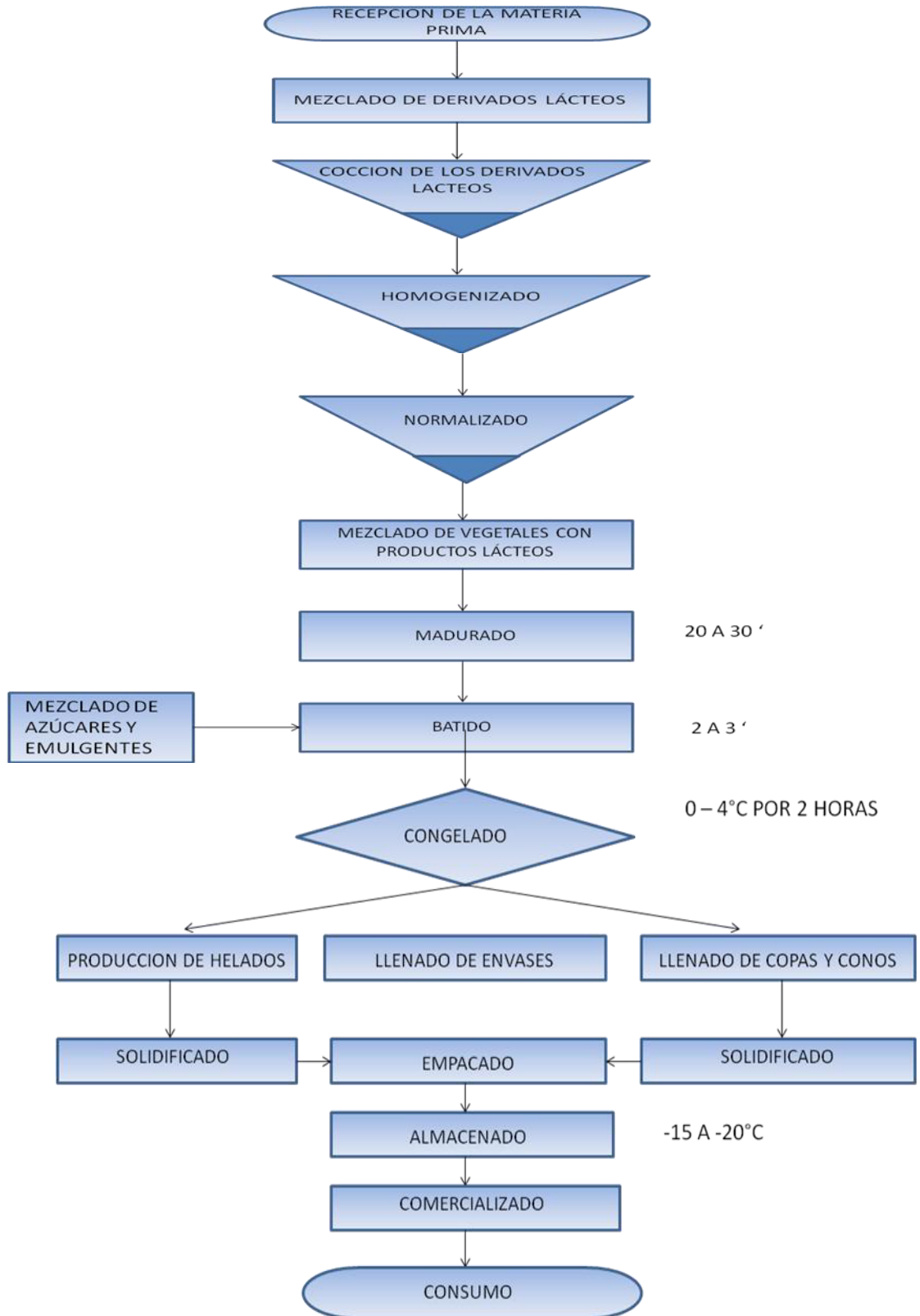
Algunos factores que contribuyen al desarrollo de la industria de helados son: la perfecta refrigeración y adaptación de la industria alimenticia, la mejora en el método de manufactura y el desarrollo de los equipos de procesamiento de mejor calidad semejante a sistemas de operación continua automatizada, más y mejores ingredientes con mejora de conocimiento en el uso de ellos.

La utilidad del helado como alimento es realizada por muchos conocimientos científicos que están generando una ganancia en la producción y comercialización de esta industria.

Los métodos y las maquinarias usadas en la producción de helados son muy importantes para el mantenimiento de altos estándares de higiene, con altos beneficios.

El helado de crema recibe esta denominación por estar preparado a base de leche y grasa procedente de la leche (grasa butírica) y cuya fuente de grasa y proteínas es la láctea.

DIAGRAMA DE FLUJO



Descripción del proceso

1. La correcta proporción de ingredientes son pesados y mezclados a través de una bomba mezcladora, y luego transferidos a un tanque mezclador.
2. El líquido mezclador es minuciosamente mezclado y un poco calentado en la camisa vaporizador de la máquina mezcladora.
3. La mezcla es luego bombeada a través del sistema HTST (alta temperatura, corto tiempo) por homogeneización, pasteurización y enfriamiento.
4. La mezcla pasteurizada es dejada reposar por 4 horas a una temperatura de 4°C.
5. Teniendo reposada la mezcla, el helado es puesto en un congelador, donde es sujeto a un proceso llamado overrun (extender la mezcla), en el cual suceden dos cosas. Aire condensador es puesto sobre la mezcla para incrementar el volumen del producto final por más del 120%. Al mismo tiempo se añade el saborizante que uno desea.
6. El helado es luego enviado a las diferentes máquinas rellenadoras, donde es moldeado de acuerdo a la forma deseada y/o puestos dentro de contenedores apropiados.

(A) Copas y conos son rellenos y puestos en el túnel solidificador que congela los helados a una velocidad acelerada.

(B) Las barras de helados son moldeadas y puestas dentro de envolturas de papel, luego son enviados al túnel solidificador.

(C) Los helados vendidos en envases de tamaño familiar es moldeado por estrujado y luego puestos en recipientes.

7. Los productos finales son puestos en una correa o faja transportadora y colocados dentro de congeladores, donde ellos son almacenados hasta que estén listos para su comercialización.

CAPITULO II

ANALISIS FISICOS QUIMICOS

Humedad

El agua, es el más simple de todos los constituyentes de los alientos y su determinación analítica, es de importancia para el consumidor, pues sirve de medida de la calidad y cantidad del alimento, como también al productor y al químico.

Todos los alimentos, cualquiera que sea el método de industrialización a que hayan sido sometidos, contienen agua en mayor o menor proporción y su cantidad, estado físico y dispersión afecta su aspecto, olor, sabor y textura.

Es el más barato de todos los adulterantes, no sólo para productos químicos, sino también, para aquellos que tienen cierto grado de humedad. Ejemplo de ello, es la leche, en la que es agregada el agua para aumentar su volumen, disminuyendo el valor nutritivo de la misma; y, la mantequilla, en la cual el fabricante añade agua deliberadamente, con el objeto de obtener mayor peso y por consiguiente menor cantidad de lípidos de leche.

Por otro lado, cantidades pequeñas de agua, también perjudican la calidad de ciertos alimentos. Por ejemplo, los vegetales, pierden valor comercial al marchitarse, mientras que el pan lo pierde al secarse.

En los tejidos vegetales y animales, existen dos formas generales de agua: “agua libre” y “agua ligada”. El agua libre o absorbida, es la forma predominante, se libera con facilidad y es valorada por la mayor parte de los métodos usados para el cálculo del contenido del agua. El agua ligada, se haya combinada o adsorbida. Se encuentra en los alimentos como agua de cristalización (en los hidratos), o ligadas a las proteínas y a las moléculas de los sacáridos (almidones), pectinas, celulosa y adsorbida sobre la superficie de las partículas coloidales.

Estas formas requieren de la aplicación de altas temperaturas, para lograr la remoción total del agua. Parte de la misma permanece ligada al alimento, incluso a temperaturas que lo carbonizan; de ahí la importancia en la elección del método para determinar la humedad.

Tanto e las industrias alimenticias, como en los laboratorios de análisis bromatológico, la humedad es el primer parámetro a determinar y ésta, se la realiza inmediatamente después de abrir la muestra. La importancia de esto radica, en que, hay niveles máximos permitidos, que están señalados en las Regulaciones y códigos de Alimentos.

Aparte de ello, las siguientes razones justifican esta determinación:

- Cuando el industrial compra la materia prima, no desea adquirir agua en exceso.
- Cuando el agua está presente sobre ciertos niveles, facilita el desarrollo de microorganismos.
- La mayor parte de alimentos tienen límites de tolerancia, ejemplo: mantequilla, leche en polvo, harinas, etc.
- En presencia de agua, los materiales pulverulentos se aglomeran, como el azúcar y la sal.
- Un exceso de humedad en ciertos alimentos, afectan considerablemente la textura. Ejemplo: en las carnes curadas: jamones, mortadela, salchicha, etc.

Acidez Total

La acidez determina el estado de conservación de un producto alimenticio. Un proceso de descomposición por hidrólisis, oxidación o fermentación, altera casi siempre la concentración hidrogeniónica.

La acidez valorable total se determina (casi siempre) con hidróxido de sodio 0.1 N e indicador fenolftaleína. No obstante, suele presentar dificultades, la determinación exacta del punto final, a causa de la presencia de sustancias tampones o de color oscuro en los alimentos. En tales casos, se puede obtener un punto final muy aproximado, usando grandes cantidades de indicador y diluyendo con agua, pero es preferible, efectuar valoraciones potenciométricas.

La acidez de los productos alimenticios, cuando se tratan de alimentos como harinas, fideos, pan, galletas, avena, cereales, etc., se expresa en ml% de solución normal. Su acidez se debe, a la presencia de fosfatos ácidos y pequeñas cantidades de ácidos orgánicos, sobre todo el láctico.

La acidez, aumenta por acción microbiana, por lo cual su determinación, nos da una indicación sobre el estado de conservación del producto.

Para otro tipo de productos como: leche, el resultado se expresa en ácido láctico; en los vinos y vinagres, se expresan en ácido acético; en los aceites y grasas, en ácido oleico; en la mayor parte de las frutas, como ácido cítrico; en las manzanas como ácido málico.

ANALISIS SENSORIALES

Defectos típicos en la textura

La textura depende principalmente del número y tamaño de las partículas, su organización y su distribución; debe ser suave y producir una sensación agradable en la boca.

Áspero: Ocurre cuando los cristales de hielo han crecido hasta un nivel sensorial detectable. Los cristales se funden en la boca.

Arenoso: Se percibe como una contextura arenosa causada por el crecimiento de cristales de lactosa. Estos cristales no se funden en la boca.

Esponjoso: El producto es escamado y se rompe con facilidad. Este defecto es causado con un excesivo overrun, gran tamaño de células de aire o niveles inadecuados de estabilizantes.

Gomoso: Es de estructura compacta y apariencia pegajosa. Es causado por un overrun insuficiente, alta concentración de sólidos o demasiado estabilizante.

Blando: El helado se funde rápidamente en la boca. Las causas de este defecto son: bajo contenido de sólidos totales, alto overrun, inapropiado balance entre grasa y sólidos del suero, o inadecuado nivel de estabilizantes.

ANALISIS MICROBIOLÓGICOS

Microbiología en el helado: Enfermedades transmitidas por los alimentos

Las enfermedades microbianas transmitidas por los alimentos se originan de diversas maneras, según el microorganismo patógeno del cual se trate:

- **Infección:** El alimento actúa de vehículo para introducir al microorganismo dentro de cuerpo humano. Una vez allí, los gérmenes comienzan a multiplicarse. El organismo humano, entonces, responde ante la presencia del germen o ante los metabolitos que éste produce. La dosis mínima de microorganismos necesarios para provocar dicha infección es muy baja.
- **Intoxicación:** Los gérmenes patógenos se multiplican en el alimento y en él forman toxinas. Las toxinas son sustancias nocivas que provocan daños aún en pequeñas concentraciones. La enfermedad se produce cuando se consume el alimento sin necesidad de la multiplicación de microorganismos dentro del hombre.

Hay datos recientes de retiradas del mercado en Estados Unidos de casi 1.000 litros de helado de chocolate por contener una elevada contaminación con *Listeria monocytogenes*. Es importante destacar que los alimentos contaminados por gérmenes patógenos no suelen presentar manifestaciones perceptibles, por lo que resulta necesario realizar los

controles correspondientes a fin de asegurar la calidad microbiológica del producto.

Descomposición

Los alimentos alterados microbiológicamente suelen manifestarse como tales por su aspecto u olor. No suelen ser peligrosos para la salud a pesar de considerarse no aptos para consumo normal.

En los helados los variados ingredientes utilizados como materia prima y los aditivos son, antes de congelar, susceptibles a la descomposición.

Los principales problemas de descomposición están relacionados con las materias primas leche y huevos. Las alteraciones que éstos pueden sufrir son, entre otras, desdoblamiento de proteínas dando productos malolientes, fermentación con producción de ácidos y lipólisis que se manifiesta generalmente con el enranciamiento de los productos.

Higiene

El número de microorganismos presentes y la tasa de *coliformes* se consideran indicadores higiénicos. Es decir, si los resultados obtenidos de los recuentos arrojan valores altos están indicando deficiencias higiénicas. Esto representa puntos críticos que deben ser corregidos o eliminados.

Las principales causas de contaminación microbiana en los helados son, entre otras, personas vehiculadoras de gérmenes (enfermas o lastimadas), refrigeración insuficiente del producto, ausencia o deficiencia

de calentamiento de la mezcla, prolongados tiempos de reposo de la mezcla (no inmediato enfriamiento), materias primas contaminadas.

A fines de obtener los alimentos en adecuadas condiciones higiénicas deben seguirse una serie de normas higiénicas que comprometen al personal, establecimiento, instalaciones, maquinarias y utensilios. Las normas comunes a nivel internacional implementadas para la fabricación higiénica de alimentos se conocen como BMP o GMP ("buenas prácticas de manufactura"). Estas fueron publicadas primero por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos para diversos grupos de alimentos.

Los restos de helado son un excelente medio para el desarrollo de microorganismos, sobre todo si se dan las condiciones óptimas de temperatura para el desarrollo de los mismos. Por ello es importante evitar, a lo largo del proceso, la acumulación de éstos en las maquinarias e instalaciones, sobre todo en el área de trabajo a mayor temperatura. Para impedir la formación de nidos de gérmenes en los restos de producto acumulados es necesario realizar desinfecciones regulares en las instalaciones que entran en contacto directo con el producto durante su fabricación.

Es necesario realizar controles microbiológicos de las materias primas y asegurar un posterior almacenamiento adecuado hasta el momento de su utilización.

Durante la pasteurización se elimina un 99,6 - 99,9% de los gérmenes. Los microorganismos esporógenos sobreviven a la pasteurización dado que sus esporos son termoresistentes. Para evitar que estos microorganismos y otros eventuales sobrevivientes puedan desarrollarse, es necesario enfriar la mezcla inmediatamente después de la pasteurización. Los helados son muy sensibles a las fluctuaciones de temperatura y a las contaminaciones cruzadas con todos los utensilios con los que se manipulan.

Un problema común de importancia lo constituyen los trapos de limpieza utilizados para limpiar los lugares de trabajo, máquinas o utensilios. Si estos paños no se desinfectan luego de cada utilización, lo único que se logra, utilizando los mismos, es distribuir gérmenes uniformemente. En estos paños se han encontrado cerca de 200 millones de microbios por cm^2 . Si los mismos sólo se lavan con agua caliente y se retuercen enérgicamente no se logra una disminución considerable en el número de microorganismos.

Otro punto a considerar es el de las cucharas servidoras de helado. Lo óptimo sería tener una cuchara para cada helado para evitar mantenerla en agua, puesto que, si es agua no se renueva continuamente, se pueden alcanzar recuentos de microorganismos del orden de 10^7 por mililitro.

Los niveles de contaminación en la boquilla de máquinas expendedoras merecen, también, una mención especial. En los que se denominan

helado soft las máquinas suelen estar en el exterior o en lugares cálidos, donde algunos consumidores pueden tocar la boquilla por donde sale el helado, quedando ésta desprotegida de bajas temperaturas. En estas boquillas, el número de bacterias pueden superar los 10 millones por gramo, creciendo con especial facilidad enterobacterias, entre ellas la *salmonella*.

Análisis microbiológico

Para determinar los microorganismos presentes en una muestra de helado se realizan diferentes métodos de cultivo. Estos pueden ser en placas de crecimiento de colonias o en medio líquido, en el cual el crecimiento se detecta por enturbiamiento de la solución. Ambos métodos utilizan medios nutritivos cuya composición dependerá del microorganismo que interese detectar. Además de dicha composición existen otros parámetros a considerar para lograr la selectividad del medio, como ser: temperatura de incubación (temperatura óptima de crecimiento), tiempo de incubación y tensión de oxígeno necesaria.

Los informes microbiológicos indican el método por el cual fueron determinados. Los resultados así obtenidos se confrontan luego con los límites legales establecidos.

En las muestras de helado es importante realizar una revivificación de los microorganismos alterados, pero no muertos, por el efecto de la congelación. Esto se realiza en algunos casos de sospecha de gérmenes

patógenos como cepas enteropatógenas de *Escherichia coli* o *Yersinia enterocolítica*.

Método para el recuento de Aerobios Mesófilos en Placas Petri

Materiales, Equipos y Medios empleados

Materiales y Equipos

- Balanza
- Autoclave estacionario con presión interna a vapor
- Mechero de Bunsen
- Incubadora regulada entre 30+/- 1°C
- Placas de Petri de 100*15 mm
- Baño de Agua regulado entre 44 y 46°C
- Fiolas o tubos de dilución
- Pipetas graduadas o pipeteador automático, con puntas estériles
- Contador de colonia

Medio de Cultivo

- Agar Plate Count (PCA)

Reactivos

- Diluciones de agua de peptona, estériles

- Agua destilada

Composición del Medio de Cultivo PCA g/litro

- Peptona de Caseína 5g.
- Extracto de Levadura 2.5g.
- D + glucosa 1.0g.
- Agar agar 14.0g.

Preparación del Medio

- Disolver 22.5g del Agar Plate Count en un litro de agua destilada y esterilizar en autoclave 15 minutos a 121°C.
- Una vez estéril el medio es colocado en baño de María a 47°C, hasta su uso.
- Las placas con medio de cultivo son claras e incoloras.

Procedimiento

- Prepare la muestra de alimento, según Anexo 1.
- Las diluciones son preparadas y homogenizadas, según Anexo 2.
- Mida con una pipeta estéril 1 ml de la dilución y transfíralo en una caja Petri estéril.

- Añada de 10 a 15 ml de agar, previamente fundido y temperado entre 44 y 46°C. el periodo de tiempo comprendido entre la preparación de las diluciones y el agregado del agar, no debe exceder de 20 minutos.
- Mezcle las alícuotas con el agar, por movimientos de rotación de las placas de Petri, en ambas direcciones.
- Una vez solidificado el agar, invierta las placas de Petri e incúbalas a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 – 72 horas.
- Una vez cumplido el tiempo de incubación, cuente las colonias y exprese los resultados como unidades formadoras de colonias, UFC por gramo o ml.
- Las colonias que se cuentan son fáciles de reconocer, son de color blanco, pastosas y cremosas.

Recuento de Coliformes Totales en Placas Petri

Materiales Equipos Y Medios Empleados

Materiales y Equipos:

- Balanzas
- Placas Petri
- Incubadora regulada a $30 \pm 1^\circ \text{C}$
- Fiolas o Tubos de dilución
- Baño de agua regulado entre $48 \pm 1^\circ \text{C}$
- Pipetas o pipeteadores automáticos con puntas estériles
- Cuenta Colonias
- Vórtex
- Mechero de bunsen

Medios de Cultivo:

- Agar Violeta Rojo Bilis

Reactivos:

- Dilución de agua de peptona, estériles

- Agua destilada

Composición del Medio de Cultivo VRB g/ lt

- Peptona de carne 7.0 g
- Extracto de levadura 3.0 g
- Cloruro de Sodio 5g
- Lactosa 10g
- Rojo neutro 0.03g
- Mezcla de sales biliares 105g
- Violeta cristal 0.002
- Agar-Agar 13.0g

Preparación del medio de Cultivo

- Disolver 39.5 g/lt y esterilizar con cuidado 30 minutos a vapor
fluyente
- No esterilizar en autoclave
- El medio de cultivo preparado es claro y rojizo pardusco.

Procedimiento

- Prepare el área de trabajo, según Anexo 1

- Las diluciones se preparan según Anexo 2
- Con una pipeta se toma 1ml de la dilución y se colocan en una caja Petri estéril.
- Se agrega de 10 a 15 ml.de agar violeta rojo bilis, previamente fundido y temperado a 45°C. Se homogeniza y se deja solidificar por 6 a 8 minutos.
- Seguidamente, se adiciona una capa de agar en la superficie, para evitar el crecimiento de microorganismos que sean estrictamente aerobios.
- Se invierten las placas y se incuban a 30+/- 1°C por 18 a 24 horas.
- Las colonias de Coliformes son rojas oscuras, rodeada de una zona de precipitación acompañadas de una decoloración del agar.
- Cuento las colonias de acuerdo a la descripción anterior una vez que las placas han cumplido su tiempo de incubación.
- Las colonias son rojas de 0.5 mm
- Calcule los cálculos respectivos.

Método para recuento de Mohos Y Levaduras

Materiales, Equipos Y Medios Empleados

Materiales y Equipos

- Placas petri estériles, de 100 x15 mm
- Baño de agua temperado a 48+/- 1°C
- Incubadora regulada a 30°C
- Mechero
- Balanza
- Contador de Colonias
- Fiolas o tubos de ensayo
- Pipetas o pipeteadores automáticos con puntas estériles
- Vórtex

Medios de Cultivo

- Oxytetraciline Glucose yeast Agar (OGYA)
- Suplemento

Reactivos:

- Agua de peptona estéril
- Agua destilada

Composición del Medio de Cultivo OGYA g/lt

- Extracto de levadura 5.0 g
- D + glucosa 10.0 g
- Agar agar 15.0 g
- Aditivo Oxitetraciclina 0.1 g

Preparación del Medio de Cultivo:

Disolver 30 g/lt, esterilizar en autoclave 15 minutos a 21°C, dejar enfriar hasta unos 50°C, incorporar 0.1g/lt de Oxitetraciclina en forma de disolución acuosa.

Las placas con medio de cultivo son claras e incoloras.

Procedimiento:

- Prepare el área de trabajo, según Anexo 1
- Las diluciones se preparan, según Anexo 2

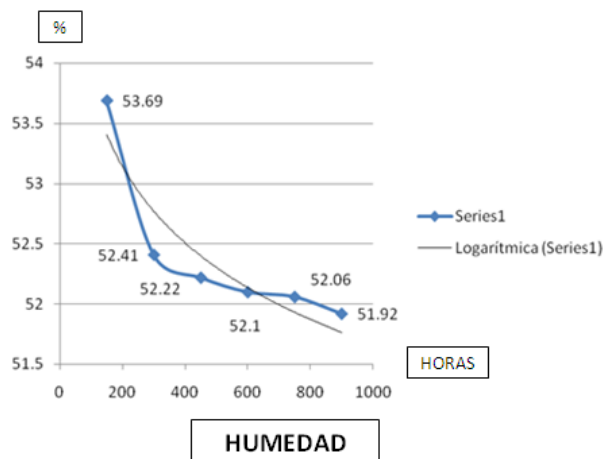
- Con una pipeta se toma 1 ml de la dilución 10 y se colocan en una caja Petri estéril.
- Añada 10-15ml. de agar, previamente temperado a 48°C. Esta temperatura es crítica, ya que si es excedida, podrá causar daño en los mohos y levaduras.
- Mezcle el inóculo con el agar, mediante movimientos de rotación, hacia la izquierda y luego hacia la derecha y luego en forma de cruz.
- Una vez solidificado el agar (aproximadamente 10 minutos) invertir e incubar las placas a 30°C, durante 48 horas.

CAPITULO III
ANALISIS FISICOS QUIMICOS
HUMEDAD

Fundamento

Evaporación del agua por calentamiento en estufa y su determinación por pérdida de peso. Durante la determinación es importante que se cumplan con los siguientes requerimientos:

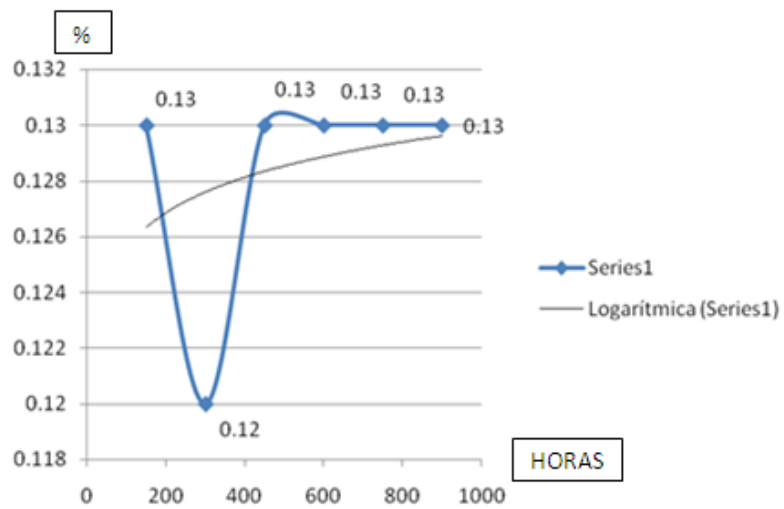
- a) Tiempo: 4-5 horas o hasta peso constante.
- b) Temperatura: 70°C (mieles, mermeladas, etc.); 105°C (otros alimentos).
- c) Material de vidrio.
 - 1) Alimentos sólidos: pesafiltro.
 - 2) Alimentos semi-sólidos: beaker pequeño + arena lavada + agitador.
 - 3) Margarinas, mantequillas: caja de petri.
- d) Muestra 3-10 g.



ACIDEZ TOTAL

Fundamento

Titulación con solución valorada de hidróxido de sodio 0.1N frente a fenolftaleína como indicador, hasta un color rosado, que persista durante 30 segundos.



ACIDEZ

ANALISIS SENSORIALES

PARAMETRO	TIEMPO (HORAS)					
	150	300	450	600	750	900
OLOR	PROPIO	PROPIO	PROPIO	PROPIO	PROPIO	PROPIO
SABOR	PROPIO	PROPIO	PROPIO	PROPIO	PROPIO	PROPIO
ASPECTO	PROPIO	PROPIO	PROPIO	PROPIO	PROPIO	PROPIO
COLOR	PROPIO	PROPIO	PROPIO	PROPIO	PROPIO	PROPIO

ANALISIS MICROBIOLÓGICOS

MÉTODO PARA EL RECuento DE AEROBIOS MESÓFILOS EN PLACAS PETRI

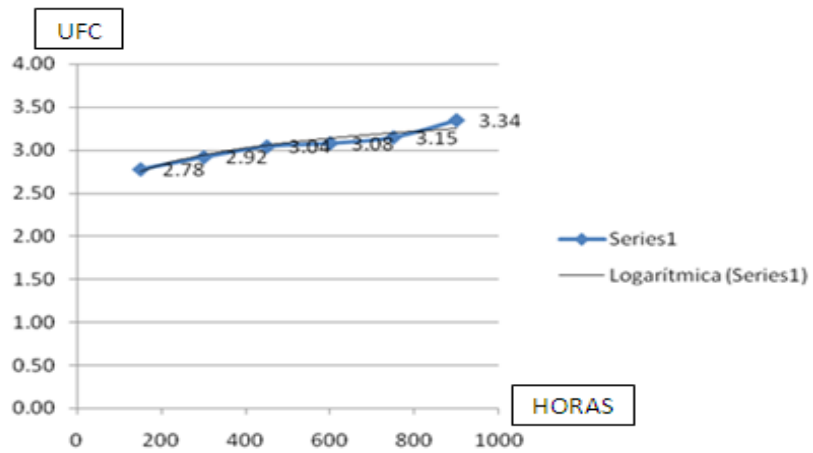
Fundamento

El método de ensayo permite la determinación cuantitativa de microorganismos aerobios por gramo de alimento en leche, productos lácteos, aguas y otros alimentos, mediante la utilización de Placas de Petri y el medio de cultivo Plate Count Agar (Agar peptona de caseína – glucosa extracto de levadura), que es un medio exento de sustancias inhibidoras y de indicadores.

Expresión de Resultados

- Una vez realizado el conteo de las placas, los resultados se multiplican por el factor de dilución y se expresan como unidades formadoras de colonias, UFC por gramo o por mililitros.

<i>tiempo (h)</i>	<i>población (ufc/g)</i>	<i>log (ufc/g)</i>
150	600	2.78
300	830	2.92
450	1100	3.04
600	1200	3.08
750	1400	3.15
900	2200	3.34



RECuento DE AEROBIOS MESÓFILOS

RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES EN PLACAS PETRI

Fundamento:

Este método de ensayo consiste en determinar el número de bacterias Coliformes, inclusive *Escherichia Coli* en aguas, leche, helados, carnes y otros alimentos, mediante la utilización de placas de petri con un medio de cultivo apropiado, el VRB (Agar Violeta cristal rojo neutro bilis)

El Violeta cristal y las sales biliares inhiben el crecimiento, sobre todo, de la flora gram positiva acompañante. La degradación de la lactosa o ácido se pone en manifiesto por el viraje a rojo del indicador de pH Rojo neutro y por una precipitación de ácidos biliares.

Expresión de Resultados

El número de colonias obtenidas se multiplican por el factor de dilución correspondiente y se reporta como UFC./g. O ml

MÉTODO PARA RECuento DE MOHOS Y LEVADURAS

Fundamento:

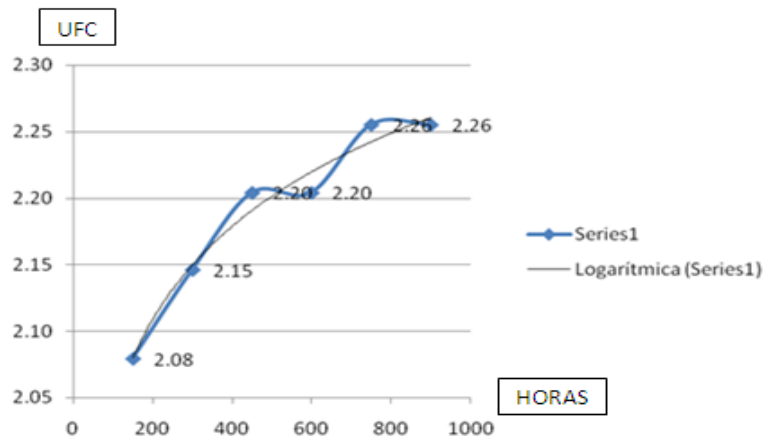
El método de ensayo contempla el procedimiento a seguir para el aislamiento y la determinación cuantitativa de mohos y levaduras en alimentos, mediante la utilización de placas Petri, en un medio de cultivo apropiado y la adición de suplementos inhibidores. El Agar OGY (Agar Oxitetraciclina glucosa extracto de levadura) es un medio selectivo para la demostración y numeración de mohos y levaduras en todo tipo de material de investigación.

Expresión de Resultado:

- Las colonias de levaduras, generalmente, son lisas y cremosas, las colonias de mohos o micelios presentan en el agar un polvillo o pueden presentarse como algodonosas e invasivas.
- Efectuar la lectura, contando las colonias presentes.
- Calcular el número de colonias por g/o ml del producto, teniendo en cuenta la dilución.

El número de colonias obtenidas se multiplican por el factor de dilución correspondiente y se reporta como UFC/g O ml.

<u>tiempo (h)</u>	<u>población (ufc/g)</u>	<u>log (ufc/g)</u>
150	120	2.08
300	140	2.15
450	160	2.20
600	160	2.20
750	180	2.26
900	180	2.26



**RECuento DE MOHOS Y
LEVADURAS**

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

- ✚ En base a los resultados obtenidos del análisis de humedad podemos concluir que el producto presenta valores descendentes conforme pasó el tiempo, este fenómeno se debió a que el aire que contenía la masa (overrun) fue disminuyendo dándole un aspecto de resequedad sin dejar de ser apetecible al consumidor.
- ✚ Los valores de acidez titulable expresada en ácido láctico tuvieron una leve variación la cual se pudo deber a la incorrecta manipulación en la toma de muestra, aunque el índice de acidez no es considerado como un parámetro de estabilidad.
- ✚ Con respecto a las pruebas sensoriales se determinó que el producto durante los 15 días de estudio guarda consigo las características iniciales de sabor, aspecto, olor y color lo cual es indicador que no ha existido deterioro alguno por parte de microorganismos, siendo los mas representativos en este tipo de alimento.
- ✚ A más de los 15 días en los que se realizó la estabilidad del producto este aún se conserva en óptimas condiciones, a pesar de que han transcurrido ya 3 meses a partir de su elaboración, por lo

cual hemos cumplido con el objetivo propuesto que fue demostrar que un producto libre de aditivos se puede mantener con un método de conservación de larga duración.

- ✚ El valor de aerobios totales presentes en el helado durante el tiempo de prueba no extralimitaron los parámetros mínimos establecidos por la Norma INEN 706 HELADOS REQUISITOS. Por lo que estos resultados dan la seguridad del consumo del helado almacenado en congelación.
- ✚ El valor correspondiente a Coliformes totales no representa ni siquiera el 1% de los valores mínimos requeridos en la Norma INEN correspondiente.
- ✚ Los porcentajes revelados del contenido de mohos y levaduras notifica que el producto se encuentra dentro de los márgenes de seguridad alimentaria, dejando de representar un riesgo para la salud

ANEXO 1

PROCEDIMIENTO PARA ANALISIS MICROBIOLOGICO

- El lugar donde se realiza el análisis microbiológico debe reunir las condiciones de asepsia indispensables para dicho fin.
- Antes de iniciar el análisis, limpie el mesón de trabajo con alguna solución desinfectante (Ej: alcohol al 70%). Encienda a continuación el mechero.
- Coloque las muestras a analizar sobre el mesón. Al abrir el envase o recipiente evite cualquier tipo de contaminación.
- Los envases o recipientes deben, antes de abrirse, desinfectarse el área de abertura con la ayuda de un agente adecuado, tal como alcohol al 70%. Si el envase no se daña por exposición al calor, flameelo con ayuda del mechero.
- En el caso del agua y alimentos líquidos, el recipiente que contiene la muestra debe agitarse hasta que el contenido sea homogéneo. Esto se hace agitando el recipiente 25 veces, con movimiento alterno al brazo, en ángulo de 45° o por rotación del recipiente en diferentes sentidos. En este caso la homogenización de la muestra debe hacerse antes de desinfectar el recipiente.
- Si la muestra es sólida, deben tomarse porciones de diferentes sitios, para tomar una muestra representativa.

ANEXO 2

HOMOGENIZACION Y PREPARACION DE DILUCIONES

Muestras Liquidas

- a) Mida con una pipeta de 10ml de la muestra y transfírela a una frasco de dilución conteniendo 90ml. de agua de peptona.
- b) Proceda a homogenizar la muestra con ayuda del Vórtex, durante 30 segundos. Esto corresponde a la dilución 10^{-1}

Muestras Solidas:

- a) Pese 10g de la muestra y transfírela a un frasco de dilución, conteniendo 90ml de diluyente, a fin de obtener la dilución 10^{-1}
- b) Mezcle

ANEXO 3

ESTERILIZACION DE MATERIAL DE VIDRIO UTILIZADO EN LOS ANALISIS

Características

El material de vidrio debe ser:

- Resistente a temperaturas de esterilización: Autoclave (120°C) y en Horno (200°C).
- Contener cantidades mínimas de álcali libre, a fin de que la diferencia de reacción inicial y final de los medios de cultivo, sea insignificante.
- De preferencia, que sea Pirex.

Limpieza de Placas, tubos, pipetas, rastrillos

- Deben esterilizarse en el autoclave tan pronto se haya realizado la lectura correspondiente
- Se colocan en agua jabonosa y con la ayuda de un cepillo, se retira la suciedad de las paredes
- Luego se procede a enjuagar con abundante agua, a temperatura ambiente
- Dejar escurrir para luego proceder a la esterilización (Horno 200°C)

Nota:

En el caso de las pipetas se procederá a colocar tapones de algodón y guardar en el porta- pipetas, para luego esterilizar.

Cristalería Enturbiada:

- Se introduce el material sucio o turbio en un recipiente, con mezcla sulfocrómica, por varias horas, (Preferentemente por la noche)-
- Retirar el material, escurrido y enjuagado con abundante agua ambiente, y luego con agua destilada, hasta retirar todos los residuos de la mezcla-

Importante:

- Emplear guantes de caucho, en fin de evitar acción corrosiva sobre la piel.

Bibliografía:

Amiot J.,Ciencia y Tecnología de la Leche, Acribia, Zaragoza, España, 1991

Taboada R.L (coordinador) y otros,Helado Total, Publitec Editora, Buenos Aires, Argentina, 1993

www.chemsoc.org/chembytes/ezine/2001/davies_jul01.htm

www.foodproductdesign.com/archive/1997/0897AP.html

www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/icmanu.html

Importante:

- Emplear guantes de caucho, en fin de evitar acción corrosiva sobre la piel.

BIBLIOGRAFÍA:

Amiot J.,Ciencia y Tecnología de la Leche, Acribia, Zaragoza, España, 1991
Taboada R.L (coordinador) y otros,Helado Total, Publitec Editora, Buenos Aires, Argentina, 1993

www.chemsoc.org/chembytes/ezine/2001/davies_jul01.htm

www.foodproductdesign.com/archive/1997/0897AP.html

www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/icmanu.html



Escuela Superior Politécnica del Litoral
LABORATORIO PROTAL - ESPOL
 Acreditado Sistema ISO 17025



Informe de Ficha de Estabilidad: 10-01/0004-M01

GCR -4.1-01-00-03

Datos del cliente

Nombre: Alexis Bejarano	Teléfono: 042368275
Dirección: Bolivia 2601 y Guerrero Balenzuela	

Identificación de la muestra / etiqueta

Nombre: HELADO DE APIO CON LECHE	Código muestra: 10-01/0004-M01
Marca comercial: S/M	Lote: 3012010
Tipo de alimento: Helado de leche	Fecha elaboración: 03/01/2010
Envase: Tarrina de plástico transparente	Fecha expiración: 19/01/2010
Conservación: Congelación -24°C a -18 °C	Fecha recepción: 05/01/2010
Contenido neto declarado: N/A	Fecha inicio prueba: 05/01/2010
Contenido neto encontrado: N/A	Fecha término prueba: 19/01/2010
Presentaciones: N/A	
Condiciones climáticas del ensayo: Temperatura 22.5 °C ± 2.5 °C Y Humedad Relativa 55% ± 15%	

Analisis Inicial

Análisis Organolépticos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Olor *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Sabor *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Aspecto *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Color *	---	Propio	Propio	Sensorial *

Análisis Físico - Químicos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Acidez Expresada como Acido Lactico *	%	0.13	---	AOAC 18th 947.05 *
Humedad * *	%	53.69	---	AOAC 18th 941.08 *

Análisis Microbiológicos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Levaduras y Mohos	UFC/g	1.2 x 10 ²	---	AOAC 18th 997.02
Aerobios	UFC/g	6.0 x 10 ²	10000	AOAC 18th 966.23
Coliformes Totales	UFC/g	< 10	100	AOAC 18th 991.14

Control #1 - 07/01/2010

Análisis Organolépticos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Olor *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Sabor *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Aspecto *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Color *	---	Propio	Propio	Sensorial *

Análisis Físico - Químicos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
--------------------	--------	-----------	------------	--------------



Informe de Ficha de Estabilidad: 10-01/0004-M01

GCR -4.1-01-00-03

Acidez Expresada como Acido Lactico *	%	0.12	---	AOAC 18TH 947.05 *
Humedad *	%	52.41	---	AOAC 18th 941.08 *

Análisis Microbiológicos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Levaduras y Mohos	UFC/g	1.4×10^2	---	AOAC 18th 997.02
Aerobios	UFC/g	8.3×10^2	10000	AOAC 18th 966.23
Coliformes Totales	UFC/g	< 10	100	AOAC 18th 991.14

Control #2 - 11/01/2010

Análisis Organolépticos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Olor *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Sabor *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Aspecto *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Color *	---	Propio	Propio	Sensorial *

Análisis Físico - Químicos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Acidez Expresada como Acido Lactico *	%	0.13	---	AOAC 18TH 947.05 *
Humedad *	%	52.22	---	AOAC 18th 941.08 *

Análisis Microbiológicos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Levaduras y Mohos	UFC/g	1.6×10^2	---	AOAC 18th 997.02
Aerobios	UFC/g	1.1×10^3	10000	AOAC 18th 966.23
Coliformes Totales	UFC/g	< 10	100	AOAC 18th 991.14

Control #3 - 13/01/2010

Análisis Organolépticos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Olor *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Sabor *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Aspecto *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Color *	---	Propio	Propio	Sensorial *

Análisis Físico - Químicos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Acidez Expresada como Acido Lactico *	%	0.13	---	AOAC 18TH 947.05 *
Humedad *	%	52.10	---	AOAC 18th 941.08 *

Análisis Microbiológicos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Levaduras y Mohos	UFC/g	1.6×10^2	---	AOAC 18th 997.02
Aerobios	UFC/g	1.2×10^3	10000	AOAC 18th 966.23



Informe de Ficha de Estabilidad: 10-01/0004-M01

GCR -4.1-01-00-03

Coliformes Totales	UFC/g	< 10	100	AOAC 18th 991.14
--------------------	-------	------	-----	------------------

Control #4 - 15/01/2010

Análisis Organolépticos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Olor *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Sabor *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Aspecto *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Color *	---	Propio	Propio	Sensorial *

Análisis Físico - Químicos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Acidez Expresada como Acido Lactico *	%	0.13	---	AOAC 18TH 947.05 *
Humedad *	%	52.06	---	AOAC 18th 941.08 *

Análisis Microbiológicos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Levaduras y Mohos	UFC/g	1.8×10^2	---	AOAC 18th 997.02
Aerobios	UFC/g	1.4×10^3	10000	AOAC 18th 966.23
Coliformes Totales	UFC/g	< 10	100	AOAC 18th 991.14

Control #5 - 19/01/2010

Análisis Organolépticos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Olor *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Sabor *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Aspecto *	---	Propio	Propio	Sensorial *
Color *	---	Propio	Propio	Sensorial *

Análisis Físico - Químicos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Acidez Expresada como Acido Lactico *	%	0.13	---	AOAC 18TH 947.05 *
Humedad *	%	51.92	---	AOAC 18th 941.08 *

Análisis Microbiológicos

Ensayos realizados	Unidad	Resultado	Requisitos	Métodos/Ref.
Levaduras y Mohos	UFC/g	1.8×10^2	---	AOAC 18th 997.02
Aerobios	UFC/g	2.2×10^3	10000	AOAC 18th 966.23
Coliformes Totales	UFC/g	< 10	100	AOAC 18th 991.14

Los resultados emitidos corresponden exclusivamente a la muestra proporcionada por el cliente.



Informe de Ficha de Estabilidad: 10-01/0004-M01

GCR 4.1-01-00-03

*** Observaciones:**


Dado el comportamiento microbiológicos del producto HELADO DE APIO CON LECHE, el tiempo de vida útil es de 16 días en condiciones de congelación estable. Los datos Microbiológicos se encuentran registrados en el Cuaderno de Alimentos congelados N° 3 en la página N° 328. Los datos Microbiológicos del 1er control se encuentran registrados en el Cuaderno de Alimentos congelados N° 3 en la página N° 329, los del 2° control en la página 330, los del 3er control en la página 331, los del 4to control en la N°332 y los del 5to control en el cuaderno de Alimentos en general N°18, página 2960. Los datos bromatológicos se encuentran registrados en el Cuaderno de Lácteos N°3 en la página 434, 435, 437, 439, 440, 442.

* Parámetros No Acreditados

^ Representa el Exponente

* Subcontratado

Guayaquil, 2 de Febrero del 2010.


Dra. Gloria Bajana de Pacheco
Gerente Técnico


Ing. María Teresa Amador
Gerente de Calidad

