



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIA LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGÍSTER EN
AGROINDUSTRIA**

**MODALIDAD:
INFORME DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:
INFLUENCIA DE PROTEÍNA AISLADA DEL SUERO DE LECHE Y MEZCLAS DE
DOS ESTABILIZANTES EN LA ELABORACIÓN DE UN HELADO ARTESANAL**

**AUTOR:
ABRAHAN CALIXTO LOOR REYES**

**TUTOR:
Ing. RICARDO MONTESDEOCA PÁRRAGA, Mg.**

CALCETA, AGOSTO 2019

DERECHOS DE AUTORÍA

ABRAHAN CALIXTO LOOR REYES, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

ABRAHAN CALIXTO LOOR REYES

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

ING. RICARDO MONTESDEOCA PÁRRAGA, Mg., certifica haber tutelado el trabajo de titulación **INFLUENCIA DE PROTEÍNA AISLADA DEL SUERO DE LECHE Y MEZCLAS DE DOS ESTABILIZANTES EN LA ELABORACIÓN DE UN HELADO ARTESANAL**, que ha sido desarrollado por **ABRAHAN CALIXTO LOOR REYES**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al **REGLAMENTO DE UNIDAD DE TITULACIÓN DE LOS PROGRAMAS DE POSGRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. RICARDO MONTESDEOCA PÁRRAGA, Mg.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **INFLUENCIA DE PROTEÍNA AISLADA DEL SUERO DE LECHE Y MEZCLAS DE DOS ESTABILIZANTES EN LA ELABORACIÓN DE UN HELADO ARTESANAL**, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por **ABRAHAN CALIXTO LOOR REYES**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al **REGLAMENTO DE UNIDAD DE TITULACIÓN DE LOS PROGRAMAS DE POSGRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. CARLOS BANCHÓN BAJAÑA, M.Sc
MIEMBRO

ING. ROSANNA LOOR CUSME, Mg.
MIEMBRO

ING. LENIN ZAMBRANO VELÁSQUEZ, Mg.
PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme guiado por el camino de la verdad brindándome vida, salud, fuerzas y soporte para avanzar en el sendero de la educación.

A cada uno de los que son parte de mi familia, a mi madre por el apoyo incondicional y a mis hermanos quienes me brindaron soporte para lograr lo que ahora he alcanzado.

A mi esposa Maritza Aidee Zambrano quien ha sido mi soporte emocional para seguir adelante a pesar de las adversidades que se presentaron en el camino.

A la Dra. María Fernanda Garzón Félix por el soporte brindado durante el periodo de estudio de la maestría, por sus consejos y recomendaciones en momentos arduos del proceso de estudio de la maestría.

A mi tutor de tesis quién me guio en el proceso de realización del experimento y estudio. Agradezco a todos mis catedráticos quienes nos han impartido conocimientos valiosos para la vida profesional.

A todo quienes fueron parte de mi preparación profesional brindando soporte y conocimientos en todo momento.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí por abrir sus puertas del conocimiento para nosotros sus alumnos y por el soporte brindado durante el proceso de estudio de la Maestría en Agroindustrias

ABRAHAN C. LOOR REYES

DEDICATORIA

Después de tres semestres de esfuerzo, sacrificios, privaciones y arduo trabajo llegó a su fin esta meta, la cual la dedico con mucho orgullo:

A Dios por darme la vida, salud, fortaleza y por permitirme vivir a diario con las personas que amo.

A mis padres exclusivamente, este logro es consagrado para ellos por lo que han sido mi pilar en toda mi vida estudiantil la cual viene desde la escuela, colegio, la universidad y ahora un posgrado cuyo título será un complemento para mi metas y objetivos que tengo planteados para mi vida profesional y laboral.

A mi esposa quien ha estado conmigo como soporte emocional en todo momento hasta ahora que he llegado a la meta deseada.

ABRAHAN C. LOOR REYES

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
CONTENIDO GENERAL	viii
CONTENIDO DE CUADROS	viii
CONTENIDO DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. Planteamiento y formulación del problema	1
1.2. Justificación	2
1.3. Objetivos	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos	5
1.4. Hipótesis	5
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	6
2.1. Suero de leche	6
2.1.1. Composición del suero de leche	6
2.1.2. Ámbito nutricional del suero de leche	7
2.1.3. Proteínas del suero de leche	8
2.2. Proteínas aisladas del suero de leche	12
2.2.1. Aplicación del suero de leche	13
2.2.2. Estabilizantes y su aplicación en la industria	15
2.2.3. Estabilizantes y sus porcentajes en el helado	16
2.3. Historia de los helados	16
2.3.1. Formulación del helado	17
2.4. Materia prima e insumos	18
2.4.1. Goma guar	18
2.4.2. Carboximetilcelulosa (CMC)	19
2.4.3. Insumos	20
2.4.4. Interacción de insumos (hidrocoloides)	20
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	22
3.1. Ubicación de la investigación	22

3.2. Duración	22
3.3. Factores en estudio	22
➤ Tratamientos	23
3.4. Unidad experimental.....	23
3.5. Manejo del experimento	24
3.5.1. Descripción del proceso de elaboración de helado artesanal.....	24
3.5.2. Diagrama de proceso	27
3.6. Variables respuesta.....	28
3.7. Métodos y técnicas aplicados.....	28
3.7.1. Determinación de proteínas.....	28
3.7.2. Determinación de viscosidad	28
3.7.3. Determinación de sinéresis.....	29
3.7.4. Determinación de la relación peso/volumen	29
3.8. Diseño experimental.....	29
➤ Esquema de adeva.....	29
3.8.1 Análisis estadístico	30
3.8.2. Tratamiento de datos	30
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
4.1. Proteína totales de la pasta base	31
4.2. Relación peso volumen	32
4.3. Viscosidad	33
4.4. Sinéresis.....	35
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
5.1. Conclusiones.....	36
5.2. Recomendaciones.....	36
BIBLIOGRAFÍA	37
ANEXOS	45

CONTENIDO DE CUADROS

3.1 Detalle de tratamientos	23
3.2. Formulación de los tratamientos (pasta base).....	24
3.3. Esquema de ADEVA Ax B	29
4.1. Análisis de la Varianza de proteínas totales en la pasta base.....	32
4.2. Categorización de medias Kruskal Walis para proteínas totales	32
4.3 Análisis de la Varianza de relación peso-volumen en helado artesanal.....	33

4.4. Prueba tukey para proteínas totales, mezclas de estabilizantes e interacción de factores sobre la relación peso-volumen.....	33
4.5. Análisis de la varianza de viscosidad	34
4.6. Comparación de medias Kruskal Wallis.....	34

CONTENIDO DE FIGURA

3.1. Diagrama de proceso de elaboración de helado.....	27
--	----

CONTENIDO DE GRÁFICO

4.1. Comparación de la relación peso-volumen de los tratamientos frente a la norma INEN 706 (2005).....	32
---	----

CONTENIDO DE ANEXOS

ANEXO 1. Pesado de proteína ahislada de suero de leche.....	46
ANEXO 2. Insumos para elaboración de pasta base	46
ANEXO 3. Adición de leche al pastomater.	47
ANEXO 4. Maduración de la pasta base a 4C°.....	47
ANEXO 5. Pasta base previa a la incorporación de aire.	48
ANEXO 6. Análisis fisico-químicos.	48
ANEXO 7. Incorporación de aire (1 minuto por kilogramo).....	49
ANEXO 8. Envasado del producto elaborado.	49
ANEXO 9. Helado listo para el consumo.	50
ANEXO 10. Prueba de sinéresis (ausencia).	50
ANEXO 11. Análisis de viscosidad.	51
ANEXO 12. Contraste de Levene sobre porcentaje de proteínas totales.....	51
ANEXO 13. Shapiro-Wilk sobre porcentaje de proteínas totales.....	51
ANEXO 14. Contraste de Levene sobre la relación peso-volumen.....	51
ANEXO 15. Estadístico de Shapiro-Wilks sobre relación peso volumen.....	51
ANEXO 16. Contraste de Levene sobre datos de viscosidad.....	51
ANEXO 17. Estadístico de Shapiro-Wilks sobre viscosidad.....	51

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el uso de proteína aislada del suero de leche y mezclas de dos gomas como estabilizantes en la elaboración de helado artesanal. Se aplicaron dos niveles de proteína aislada de suero de leche (3 y 5%) y mezclas de gomas (0,3 y 0,5%); lo cual dio lugar a cuatro tratamientos, el ensayo se condujo con un diseño completamente al azar y tres replicas. La unidad experimental consistió en 15 kg de pasta de helado. Las variables respuestas fueron: porcentaje de proteínas totales, viscosidad, sinéresis y relación peso-volumen. Respecto a la variable contenido de proteínas, los tratamientos aplicados presentaron mayores porcentajes en los análisis realizados; de igual manera se evidenciaron valores altos en la viscosidad y relación peso-volumen en comparación a las normas NTE INEN 706 (2005) y en comparación a otras investigaciones tomadas como referencias. Se resalta que hubo ausencia de sinéresis en todos los tratamientos. Los resultados obtenidos de sólidos totales fueron altos en relación al requerimiento mínimo de la norma NTE INEN 706 (2005) par helados; de igual manera, se pudo evidenciar un alto porcentaje de proteínas totales en un rango de 3,21 a 4,74% en referencia a dicha norma. Se concluye que la característica del helado fue la esperada por el considerable contenido de grasa y el alto aporte de sólidos totales.

Palabras clave: Helados, proteína de suero, estabilizantes, relación peso volumen, sinéresis y viscosidad.

ABSTRACT

In this work, the use of whey protein isolate and mixtures of two gums as stabilizers in the production of artisanal ice cream was evaluated. Two levels of whey protein isolate (3 and 5%) and gum mixtures (0.3 and 0.5%) were applied; which resulted in four treatments, the research was conducted with a completely randomized design and three replicas. The experimental unit consisted of 15 kg of ice cream paste. The response variables were: percentage of total proteins, viscosity, syneresis and weight-volume range. Regarding the variable protein content, the treatments applied showed higher percentages in the analyzes performed; Similarly, high values in viscosity and weight-volume ratio were evidenced in comparison to the NTE INEN 706 (2005) standards and in comparison to other investigations taken as references. It is highlighted that there was absence of syneresis in all treatments. The results obtained of total solids were high in relation to the minimum requirement of the NTE INEN 706 (2005) standard for ice cream; similarly, a high percentage of total proteins could be evidenced in a range of 3.21 to 4.74% in reference to said norm. It is concluded that the characteristic of the ice cream was expected due to the considerable fat content and the high contribution of total solids.

Key words: Ice cream, whey protein, stabilizers, overrun, syneresis and viscosity.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

En Ecuador se producen alrededor de 5,3 millones de litros al día de leche de los cuales el 73% se produce en la sierra, el 18% en la costa y el 9% en el resto del país (Núñez, San Martín, Salazar & Avilés, 2015); siendo el 31% destinado para la elaboración de queso (Concurso de Innovación Láctea, [CIL], 2018). La cantidad resultante del suero de leche depende del tipo de queso que se elabore, aunque la cifra recuperable oscila entre el 70 y 80% (Guerrero, Ramírez & Puente, 2011). La producción estimada de suero a nivel nacional es de 771 millones de litros anuales; sin embargo, es poco difundido el aprovechamiento industrial del suero de la leche (Grupo de Investigación de Lácteos [GILAC], 2017), siendo aprovechado en una mínima proporción para alimentación animal.

Según la investigación realizada por Aider, de Halleux & Melnikova (2009) alrededor del 90% del total de la leche utilizada en la industria quesera es eliminada en forma de suero de leche, el cual retiene cerca de 55% del total de ingredientes de la leche como la lactosa, proteínas solubles, lípidos y sales minerales. Algunas posibilidades de la utilización de este residuo han sido propuestas, pero las estadísticas indican que una importante porción de este residuo es descartada como efluente el cual crea problemas ambientales al no ser tratado correctamente previo a su desecho.

Las proteínas y la lactosa presentes en el suero se transforman en contaminantes cuando el líquido es arrojado al ambiente sin ningún tipo de tratamiento, ya que la carga de materia orgánica que contiene permite la reproducción de microorganismos produciendo cambios significativos en la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) del agua contaminada, ya que en valores altos de la DBO que varía entre 30000 a 50000 mg/L, va a alterar

significativamente los procesos biológicos del agua (Valencia & Ramírez, 2009).

Con los avances tecnológicos en lácteos, nuevos ingredientes como leche en polvo, suero de leche en forma de polvo o concentrados de proteína de suero de leche están ahora disponibles para la incorporación dentro del procesamiento de productos (Angulo, 2005); sin embargo, los bajos recursos económicos de los productores de la zona son los limitantes para poder adquirir dichas tecnologías, lo cual conlleva a una falta de interés por el aprovechamiento del suero de leche aplicado a productos alimenticios.

“El suero lácteo es tratado con el fin de obtener concentrados de proteína de suero con 40 a 80% de proteínas, y proteínas asiladas del suero con porcentajes proteicos mayores al 80%, lo que permite el amplio uso de estos productos, principalmente, en la industria alimentaria” (Superintendencia de Industria y Comercio [SIC], 2013).

Sin embargo, en mayor porcentaje es vertido en ríos, quebradas y esteros, aunque existen las aplicaciones en la industria alimenticia como una materia prima para la obtención de proteínas y así aprovechar sus propiedades nutricionales (Burgos, 2015); en base a esto se plantea la siguiente interrogante de estudio: ¿Cuál sería la influencia de proteína aislada del suero de leche y la mezcla de estabilizantes Guar y CMC (50/50) en la elaboración de un helado artesanal?

1.2. JUSTIFICACIÓN

La Academia Americana de Pediatría en un estudio realizado por Greene, Hambidge, Schanler & Tsang (1988) apoya el uso de alimentos lácteos como una fuente importante de calcio para la salud mineral ósea y otros nutrientes que facilitan el crecimiento en niños y adolescentes. Si se eliminan los productos lácteos, se deben proporcionar otras fuentes dietéticas de calcio o suplementos de calcio.

En un estudio realizado por Pal & Ellis en el año 2009 se demostró que tanto las proteínas de suero y caseína consumido más de 12 semanas redujo significativamente diastólica y presión arterial sistólica desde el inicio en individuos con sobrepeso; sin embargo, el consumo de proteínas de suero también redujo significativamente la rigidez arterial.

Según Meyer, Kircher, Usami, Berlijn & Medina (1986) las proteínas de la leche son de un alto valor biológico (30 a 36 g/L) siendo las proteínas del suero de leche de un alto valor nutricional fundamental en la nutrición humana con un porcentaje del 20%, siendo las proteínas del suero de leche de dos tipos: Lactoglobulina y Lactoalbúmina, en las que destacan aminoácidos muy fácilmente digeribles con un alto porcentaje de ácido glutámico, metionina, cisteína y triptófano con un valor biológico de 85 al 90%.

El suero de leche que se obtiene en la elaboración del queso contiene los componentes que no se integran en la coagulación de la caseína. Posee alto contenido nutricional (Brito et al., 2015).

El suero de leche de tiene una alta calidad nutrimental, contiene proteínas, grasa, minerales, vitaminas y una cantidad importante de aminoácidos esenciales. El suero aparte de ser rico en estos, también lo es en aminoácidos de cadena ramificada, que son la valina, leucina y la isoleucina, estos evitan el catabolismo muscular y algunos vienen adicionados de glutamina (McIntosh et al., 1998).

También mencionan que en la actualidad se ha iniciado el estudio y aplicación del suero de queso, para la elaboración de diversos productos, debido a que presenta un alto valor nutrimental. Así se ha reportado su uso como aditivo y enriquecedor de diversos alimentos, incluyendo sopas, salsas, aderezos para ensaladas, en carnes y en la elaboración de productos bajos en grasa, como la obtención de queso bajo en grasa y alto contenido de proteínas.

De igual manera González (2006) menciona que el suero de leche es una excelente fuente de nutrientes; considerándose nutricionalmente completo, ya que contiene todos los aminoácidos esenciales y es de fácil digestibilidad conteniendo el 37% de la energía metabolizable de la leche en polvo”.

En el estudio de Arbuckle (1986) se define a los helados como productos lácteos ampliamente consumidos, los cuales son básicamente una emulsión de agua, grasa y proteína, con la adición de otros ingredientes que se someten a congelación con incorporación de aire o sin él (como se citó en Rincón, León, Beltrán, Clamens & Guerrero, 2008). Estos productos se almacenan, distribuyen y se expenden en estado congelado parcial o total.

De acuerdo con Marshall un elemento importante a incorporar a los helados para mantener el estado de emulsión son las gomas, hidrocoloides que cumplen múltiples funciones en la preparación de los helados, incrementan la viscosidad de la fase acuosa, lo cual contribuye a una mayor estabilidad; por lo tanto, evitan defectos en la textura y mejoran la cremosidad del producto final; proveen excelentes propiedades sensoriales y retardan el proceso de derretido de los helados (como se citó en Rincón et al., 2008).

Tomando en cuenta lo antes mencionado se plantea la elaboración de un helado enriquecido de acuerdo al Instituto Nacional de Normalización norma (INEN) en la norma NTE INEN:0706, 2005 para helados de leche, mediante la adición de proteína aislada procedente del suero de leche y dos tipos de gomas como estabilizantes.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la proteína aislada del suero de leche en el enriquecimiento de un helado artesanal con mezclas de estabilizantes Guar y Carboximetilcelulosa (CMC).

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer el porcentaje de proteína aislada de suero de leche en la obtención del helado artesanal.
- Determinar el porcentaje de las mezclas de gomas para lograr la estabilidad coloidal del helado artesanal.

1.4. HIPÓTESIS

Los porcentajes de las proteínas del suero de leche y las gomas Guar y CMC (50/50) influyen en la obtención del helado enriquecido nutricionalmente y su estabilidad coloidal.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. SUERO DE LECHE

La leche es ampliamente utilizada en la elaboración de una infinita variedad de quesos, dando como resultado un subproducto que es el suero de leche, el cual “es un líquido opalescente, amarillo verdoso debido a su elevado contenido de vitamina B2. Presenta en dilución vitaminas, sales minerales y otra serie de sustancias más o menos conocidas” (Hernández, 1982).

La leche contiene dos grupos principales de proteínas: caseínas y suero proteínas. Según Aimutis (2004) “las caseínas representan casi el 80% y las proteínas del suero representan el 20% del total de proteínas en leche bovina” como se citó en Pal, Ellis & Dhaliwal, (2010).

La utilización del suero en los últimos años va aparejada a la realización de investigaciones en la industria láctea, siendo considerado hoy en día uno de los campos más importantes de investigación y desarrollo de esta industria. Las razones principales que han motivado la utilización del suero de leche expuestas por Hernández (1982) son:

- El aumento de la disponibilidad a partir del incremento de la producción láctea.
- Las estrictas regulaciones sanitarias que impiden la contaminación del medio ambiente.
- El incremento en el costo de inversión y operación de las plantas de tratamiento de residuales.
- El déficit productivo en la alimentación.

2.1.1. Composición del suero de leche

Según Alais (1981) el suero se puede obtener por diferentes vías: coagulación ácida, enzimática o por fermentación bacteriana, como se citó en Guerrero,

Ramírez & Puentes, (2011); siendo este el líquido que se separa de la leche en la elaboración del queso, y está constituido por todos los componentes de la leche que no se integran en la coagulación de la caseína. Se estima que a partir de 10 litros de leche de vaca se puede producir de 1 a 2 kg de queso y un promedio de 8 a 9 kg de suero de leche. Esto representa cerca del 90% del volumen de la leche y contiene la mayor parte de los compuestos hidrosolubles de ésta, el 95% de lactosa (azúcar de la leche), el 25% de las proteínas y el 8% de la materia grasa.

De acuerdo con Kirk & Sawyer (2005) la composición del suero varía dependiendo del origen de la leche y del tipo de queso elaborado, pero en general el contenido aproximado es de 93,1% de agua, 4,9% de lactosa, 0,9% de proteína cruda, 0,6% de cenizas (minerales), 0,3% de grasa, 0,2% de ácido láctico y vitaminas hidrosolubles. Cerca del 70% de la proteína cruda que se encuentra en el suero corresponde a un valor nutritivo superior al de la caseína citados por Valencia & Ramírez, (2009).

2.1.2. Ámbito nutricional del suero de leche

Beuvier & Buchin (2004) mencionan que las proteínas, junto con las sales minerales, constituyen la parte más compleja e importante de la leche, tanto por su composición como por el estado fisicoquímico en el que se encuentran, citados por Teniza, (2012).

Esta composición característica del suero ha motivado el interés y gran atención a su posible utilización, así como al proceso de tratamiento, para evitar que se descomponga y no sea apto para el consumo humano. Con vistas al desarrollo de determinados análisis y estudios relacionados con el suero, algunos autores reportan las composiciones promedio del suero.

De manera más específica según se menciona en los estudios de González, Khramtsov & Mann Dairy (1979), el suero está compuesto fundamentalmente por las proteínas solubles (lactoalbúminas y lactoglobulinas), un pequeño porcentaje de grasa y la mayor parte de las sales minerales de la leche en los

que se destacan citratos, fosfatos, calcio, potasio, entre otros; así como las vitaminas hidrosolubles, y en menor parte las liposolubles debido a su bajo contenido de grasa, destacándose como presentes: la riboflavina, el ácido pantoténico y la vitamina C.

2.1.3. Proteínas del suero de leche

Dentro de este grupo se encuentran las β -lactoglobulina, α -Lactoalbúmina y seroalbumina. A continuación, se describen sus propiedades físicas y químicas:

➤ Albúminas

La β -lactoglobulina. - Constituye la proteína soluble más abundante (3 g/L) en la leche, se conocen siete variantes genéticas siendo las A y B las más frecuentes en la leche de los rumiantes y de los mamíferos. La lactoglobulina precipita a 100°C y a pH 4,5 (Belitz & Grosh, 1997).

Su estructura está formada por una sola cadena de 162 residuos de aminoácidos, de los cuales cinco son de cisteína estableciendo dos puentes disulfuro intramoleculares que estabilizan su estructura terciaria compacta, quedando un grupo tiol (-SH) libre muy activo. Se presenta bajo la forma de dímero entre valores de pH de 7 a 3,5 constituido por dos monómeros unidos por enlaces no covalentes. La disociación en los correspondientes monómeros tiene lugar a un pH inferior a 3,5. El grupo tiol libre tiene una gran importancia tecnológica en los cambios que tienen lugar en la leche durante el calentamiento, debido a su implicación en reacciones con otras proteínas (caseína K y α lactoalbúmina), y al desenmascaramiento de estos grupos por el calor, responsables del llamado sabor a "cocido" y de las propiedades antioxidantes en leches hervidas.

Siendo la principal consecuencia de la formación de este complejo la estabilización por precalentamiento. El centro de la proteína es hidrofóbico por lo que es capaz de fijar moléculas hidrófobas como el colesterol

(Caessens, Visser & Gruppen, 1997). Sus propiedades son las siguientes: son fácil de aislar con pureza elevada, son de peso molecular bajo, de gran solubilidad, posee efecto regulador sobre el metabolismo de los fosfatos de la glándula mamaria; a temperaturas ordinarias no está ligada a otras fracciones proteicas y el descenso de la proporción de β -lactoglobulina en las leches normales procede del aumento de la infiltración de las proteínas de la sangre (Belitz & Grosh, 1997).

La α -lactoalbúmina. Es una proteína globular y está presente en la leche de todos los mamíferos y junto con la anterior son las dos más importantes del suero de leche. Es una proteína muy sensible a la temperatura, se desnaturaliza fácilmente de modo reversible.

Según manifiestan Cox & Lehninger (2006) y Konrad & Kleinschmidt (2008), existen 2 variantes genéticas, A y B (es la que se presenta en la leche de vacas de razas europeas), que se diferencian en un único aminoácido y con las siguientes particularidades:

- a) Interviene en la reacción enzimática implicada en la síntesis de la lactosa,
- b) Presenta gran afinidad por el Ca^{+2} en las zonas con gran cantidad de ácido aspártico, liga un átomo de Calcio por molécula, que da lugar a interacciones iónicas aportando gran estabilidad a la estructura y haciéndola más resistente a la desnaturalización irreversible por cambios térmicos.
- c) Es una proteína estructuralmente similar a la lisozima de otras especies, con pesos moleculares de 14,2 KDa, sus aminoácidos terminales son idénticos y presenta cuatro puentes disulfuro.

La seroalbúmina (SA). Es uno de los componentes mayores del suero sanguíneo. Supone solamente el 5% de las proteínas solubles de la leche. Es una proteína globular cuya estructura presenta numerosos repliegues estabilizados por 17 puentes disulfuro, algunos de los cuales son dobles, lo

que da lugar a una fuerte aproximación entre los segmentos de la cadena, configurando una estructura compleja (Grasselli et al., 1997).

➤ **Globulinas**

Este grupo comprende principalmente a las inmunoglobulinas, estas son proteínas capaces de reconocer y unirse específicamente a las estructuras contra las que están dirigidas (antígenos), permitiendo su reconocimiento y facilitando su destrucción por el conjunto del sistema inmune, son anticuerpos sintetizados en respuesta al estímulo de antígenos. Aglutinan numerosos tipos de bacterias y esporas y se consideran dentro del grupo de las principales sustancias antibacterianas de la leche cruda. Las inmunoglobulinas, son las moléculas más grandes de todas las presentes en la leche, encontrándose en pequeña cantidad y proceden de la sangre o son sintetizadas en la propia glándula mamaria. Son las más termoresistentes de la leche (Mehra, Marnila & Korhonen, 2006).

La leche contiene muy poca cantidad de estas globulinas, un promedio de 0,6 g/L en la leche de vaca, representado el 2% de las proteínas totales. En la leche y en el calostro las tres inmunoglobulinas principales según Mehra et al (2006) son:

- a) Inmunoglobulina G (IgG). Es la que se encuentra presente en mayor cantidad (80 a 90%), con un peso molecular de 150 KDa, contiene pocos glúcidos.
- b) Inmunoglobulina A (IgA). está conformada por dos moléculas de IgG con un peso molecular de 385 KDa, contienen del 8 al 10% de glúcidos.
- c) Inmunoglobulina M (IgM). Asociación de 5 a 6 unidades básicas con un peso molecular de 900 KDa.

➤ **Proteasas-peptona**

Constituyen una fracción compleja formada por una mezcla heterogénea de polipéptidos que permanecen solubles después del calentamiento de la leche a 95° C durante 20–30 minutos seguido de una acidificación a pH 4,6. Presenta alta estabilidad térmica. A pesar de poseer masas moleculares relativamente pequeñas se las incluye en el grupo de las proteínas porque precipitan en gran parte bajo la acción del ácido tricloroacético (TCA) a la concentración de 12% (Belitz & Grosch, 1997).

Sus principales características son: a) efecto deprimente en el volumen del pan adicionado de suero de leche, b) fracción nitrogenada de la leche que posee la mayor actividad de superficie (descenso de la tensión superficial), c) sustrato de la reacción activada por la luz solar que conduce a la producción de sabores anormales y d) son Inhibidas por la lipólisis en la leche de vaca.

➤ **Lactoferrina**

Posee 2 funciones importantes: transportadora de Fe y presenta acción bacteriostática. Constituye, junto con la lisozima y el sistema lactoperoxidasa, las llamadas proteínas protectoras de la leche. Son proteínas no inmunológicas que aumentan y complementan el sistema inmune.

En la especie humana es uno de los componentes de la leche que participan en la protección del recién nacido frente a los microorganismos y es de color rojo (0,2 g/L). En condiciones fisiológicas, tiene muy poco fierro unido y es capaz de fijar el que se encuentra en el medio, de tal forma que los microorganismos no disponen de él para su proliferación. Es una glicoproteína sencilla de peso molecular de 80–92 KDa que liga dos átomos de Fe+3 por molécula, esta es segregada por la glándula mamaria, mucosas

lacrimales, bronquial, salivar y renal (Belitz & Grosch, 1997); (Wakabayashi, Yamauchi & Takase, 2006).

2.2. Proteínas aisladas del suero de leche

Los mercados mundiales se han inundado de bebidas que han sido denominadas “energizantes”, y que según sus productores fueron creadas para incrementar la resistencia física, proveer reacciones más veloces y generar mayor concentración; aumentando de esta forma el estado de alerta mental, evitando el sueño, y proporcionando sensación de bienestar al estimular el metabolismo (Sarmiento, 2003).

Las proteínas de este subproducto de la industria quesera desempeñan un importante papel nutritivo como una rica y balanceada fuente de aminoácidos esenciales aportando un 26% de ellos. También tienen un alto valor biológico debido a su contenido en leucina, triptófano, lisina y aminoácidos azufrados, con una calidad igual a las del huevo y no son deficientes en ningún aminoácido (Ha & Zemel, 2003; Ibrahim, Babiker, Yousif & Tinay 2005).

Por otra parte, encontramos a los concentrados de proteína de suero de leche que de acuerdo con Zadow (2003); Muñi, Páez, Faría, Ferrer & Ramones (2005) son elaborados por la ultrafiltración que consiste de una membrana semipermeable, la cual selectivamente permite pasar materiales de bajo peso molecular como agua, iones y lactosa, mientras retiene materiales de peso molecular alto como la proteína siendo así concentrado por evaporación y liofilizado, como se citó en Parra, (2009).

Las proteínas del suero de leche como producto son definidas por el Código de Estados Unidos de Regulaciones Federales como la sustancia obtenida por la eliminación de la mayor cantidad de constituyentes no proteico a partir de suero para que el producto seco final contenga no menos del 25% de proteína. La mayoría de las proteínas del suero de leche en el mercado contienen entre 34 y 35% hasta un 80% de proteína (Foegeding & Luck, 2002).

2.2.1. Aplicación del suero de leche

Según mencionan Londoño, Sepúlveda, Hernández & Parra (2006) el 45% del suero de leche de la producción de quesos a nivel mundial se desechan en ríos, lagos y otros centros de aguas residuales, o en el suelo, lo que representa una pérdida significativa de nutrientes ocasionando serios problemas de contaminación. Por otra parte, el porcentaje que si es tratado y transformado en varios productos alimenticios, el 45% es aplicado directamente en forma líquida, 30% en polvo, 5% en la obtención de lactosa y subproductos, y el restante en la obtención de concentrados de proteína del suero de leche (Panesar, Kennedy, Gandhi & Bunko, 2007).

“Entre los productos de exitosa aceptación debido a sus bajos costos de producción, grado de calidad alimenticia y aceptable sabor, se encuentran las bebidas refrescantes” (Londoño et al., 2008), de igual manera “las bebidas fermentadas, y alcohólicas, proteína unicelular, biopelículas, producción de ácidos orgánicos, concentrados de proteínas, derivados de lactosa entre otros (Koutinas et al., 2009; Almeida, Tamime & Oliveira, 2009).

Las β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina provenientes del suero de leche contribuyen a las propiedades funcionales de los ingredientes de proteínas (Flett & Correding, 2009) y en las formulaciones de alimentos (Nicorescu et al., 2009), dentro de estas propiedades se ha demostrado las capacidades de solubilidad, hidratación, emulsificación, textura y consistencia, formación de espuma y propiedades de gelificación de las proteínas de lactosuero (Spellman, O’cuinn, & FitzGerald, 2009).

Fórmulas infantiles. La elaboración está principalmente basada en leche de bovinos y sus derivados como un sustituto de la leche humana cuando en los años 70 aparecieron fórmulas infantiles basadas en el suero de leche simulando la leche humana, la atención giró al desarrollo de estos productos (Parra, 2009). “Este fue el inicio de las fórmulas infantiles mezclando iguales cantidades de leche descremada, suero de leche desmineralizado y otros

componentes como vitaminas, minerales, taurina, nucleótidos entre otros” (Sinha, Radha, Prakash & Kaul, 2007).

Panificación. - De acuerdo con Wit (2003) otro uso del suero de leche es en la industria de la panificación donde se aplica como ingrediente para resaltar su sabor, cualidades de calidad, volumen, textura, corteza y retención de frescura en el pan de trigo siendo estas características proporcionadas por la incorporación de una combinación de emulsificantes y suero de leche en polvo, como se citó en Parra, (2009).

Bebidas fermentadas. - En la investigación realizada por Zambrano & Zambrano en el año 2013 se utilizó el suero de leche como sustituto parcial para la elaboración de una bebida fermentada. En otra investigación realizada en donde se aplicó suero de leche para su aprovechamiento en la elaboración de una bebida nutraceutica (Valencia, 2009).

Aislados de proteína de suero de leche. - Tienen 90% de proteína y entre 4 y 5,5% de agua; esto indica que son altamente puros y por ello son usados extensivamente en suplementación nutricional, bebidas deportivas y medicinales, (Foegeding & Luck, 2002). Estas proteínas han sido empleadas en alimentos funcionales para la elaboración de formulaciones de alimentos, por sus propiedades de hidratación, gelificación, emulsificación, y propiedades para formación de espuma (Nicorescu et al., 2009), adicionalmente, estos productos son elaborados para la aplicación de agentes complejamente específicos los cuales se enlazan con proteínas, permitiendo la eliminación de suero de leche, utilizando absorbentes como carboxy-metil celulosa u óxidos inorgánicos (Zadow, 2003).

Una de las aplicaciones de las proteínas del suero de leche está dada en la dieta de deportistas está fundamentada en su alto contenido de aminoácidos de cadena lateral ramificada; siendo promotores del crecimiento muscular, regeneración de tejidos e incluso, reposición de la masa muscular en pacientes con SIDA (Lollo et al., 2014).

2.2.2. Estabilizantes y su aplicación en la industria

“Dentro de los aditivos alimentarios, los estabilizantes de las características físicas (espesantes, gelificantes, emulsionantes, entre otros) conforman un grupo de gran importancia ya que aportan al alimento propiedades tales como textura, cuerpo, consistencia y estabilidad” (Aditivos Alimentarios EPSA, 2013).

Las gomas, hidrocoloides, cumplen múltiples funciones en la industria alimentaria, actúan como agentes estabilizantes, emulsificantes, espesantes y/o viscosantes, gelificantes, entre otras. Se ha reportado el uso de las gomas como aditivo en la elaboración de alimentos. En la manufactura de yogurt disminuyen la sinéresis durante su almacenamiento (El-Salam, El Etriby & Shahein, 1996), en quesos (duros y semiduros) mejoran las propiedades organolépticas tales como brillo, color, aroma y textura (Kampf & Nussinovitch, 2000); en néctares de frutas; reducen la consistencia poco viscosa, evitan la sedimentación de la pulpa durante el almacenamiento, aportan cuerpo al producto final y mejora los atributos sensoriales de estos productos (Delmonte, Rincón, León & Guerrero, 2006).

De igual manera El-Salam, El-Etriby & Sayed (1997) reportan que las gomas, hidrocoloides, incrementan la viscosidad de la fase acuosa, lo cual contribuye a una mayor estabilidad; por lo tanto, evitan defectos en la textura y mejoran la cremosidad del producto final; proveen excelentes propiedades sensoriales y retardan el proceso de derretido de los helados.

Se ha reportado el uso, en la preparación de helados, de las gomas de *Acacia senegal* (goma arábica), *Astragalus spp* (goma tragacanto), *Cyamopsis tetragonolobus* (goma guar), *Ceratonia siliqua* (goma de algarroba), *Chondrus spp* (carraginosos) y *Macrocyster pyrifera* (alginatos) (El-Salam et al., 1997). Estas gomas se han ensayado en mezclas para aprovechar la sinergia. El empleo de mezcla hace posible obtener un efecto intensificado, debido al sinergismo existente entre los diferentes tipos de gomas, lo cual se ha aprovechado en beneficio industrial (Kailasapathy & Sellepan, 1998).

2.2.3. Estabilizantes y sus porcentajes en el helado

Los estabilizantes con más aplicaciones en la elaboración de helados son la carboximetilcelulosa y los polisacáridos como las gomas guar, xantana, carragenina, karaya y tara. Como emulsionantes se utilizan la lecitina de soya y los monoglicéridos y diglicéridos de ácidos grasos (Ortiz & Horvitz, 2016)

Las sustancias que mantienen la estabilidad en los helados conocidos como hidrocoloides son importantes debido a su efecto en la formación de la estructura de los cristales de hielo y su estabilidad durante la congelación y la vida útil, características que se reflejan en la textura del helado. “Los hidrocoloides mejoran la estabilidad de la emulsión, estabilizan al sistema contra la separación de fases ligando el agua libre a los glóbulos de grasa, incrementan la viscosidad de la mezcla, y mejoran la incorporación de aire” (Hagiwara & Hartel, 1996; Hernández, Dolz, Dolz & Pellicer, 2011). En el estudio realizado por Rincón et al., (2008) se aplicaron gomas previamente pulverizadas disueltas en agua destilada (3%), a temperatura ambiente (24°C).

Clarke indica en el año 2004 que se puede usar una combinación de 2 o 3 hidrocoloides como estabilizantes (en concentraciones de 0,2 a 0,5%) en la producción de helados para crear un efecto positivo en la viscosidad de la base del helado, para superar la formación de cristales de hielo durante el procesamiento y almacenamiento y preservar la estructura al disminuir la fusión en la etapa de consumo.

2.3. Historia de los helados

Dentro de la historia de la alimentación humana se encuentra una variedad importante de sabores que han evolucionado con el paso del tiempo. Encontramos alimentos salados y dulces, estos últimos normalmente llamados postres. Uno de los productos alimentarios, catalogado como postre, más importantes a nivel mundial es el helado, esto dado su alto consumo (Soukoulis, Rontogianni & Tzia 2010). Sus orígenes se remontan hasta antes del siglo 13 d.C., siendo Marco Polo quien introdujera a Europa recetas para

helados a base de agua, al regreso de sus viajes por Asia oriental. La receta utilizada era a base de nieve recolectada en los Alpes europeos y mezclada con porciones de fruta y azúcar. Al ser este postre un producto difícil de mantener en su estado físico lo convertía en un producto altamente costoso, por lo que sólo era servido a la nobleza y reyes existentes.

2.3.1. Formulación del helado

De acuerdo con Arbuckle (1986) citado por Rincón et al. (2008) los helados son productos lácteos de amplio consumo formados por una emulsión de agua, grasa y proteína, con la adición de otros ingredientes que se someten a congelación con incorporación de aire o sin él. Estos productos se almacenan, distribuyen y se expenden en estado parcial o totalmente congelado.

Según la norma NTE INEN:0706 (2005) “el helado es 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, 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”.

Por otra parte, desde el punto de formulación según mencionan William & Harpell (2010) los helados son sistemas complejos que consisten en células de aire, cristales de hielo, glóbulos de grasa parcialmente unidos o agregados, rodeados por una matriz de azúcar, proteínas, sales y agua, influyendo cada uno de los ingredientes de formulación en las propiedades del helado.

En el estudio realizado por Rincón et al. (2008) prepararon 30 Kg de helados para cada tratamiento, los ingredientes fueron agregados paulatinamente en un recipiente de acero inoxidable, con agua a 50° C bajo agitación constante. La mezcla obtenida fue transferida a un tanque de pasteurización provisto de dos

agitadores continuos, luego fue homogenizada y se mantuvo en reposo hasta alcanzar temperatura ambiente, se adicionó la vainilla y refrigeró. Esta mezcla se transfirió a la cremera con agitación e inyección de aire (overrun) durante su paso por un tornillo sin fin. Posteriormente, se inició el proceso de congelamiento. Los productos obtenidos se envasaron en un recipiente de cartón (100 mL), taparon, codificaron y trasladaron a una cava congeladora Whirlpool, Modelo ED20TK. Se empleó una planta piloto Monoblack, Mark, Tipo Mp, Serie 482, EUA, provista de agitadores mecánicos y un congelador continuo marca Cherry Burrell, modelo F262, EUA.

2.4. Materia prima e insumos

2.4.1. Goma guar

Se obtiene del endospermo de la semilla de la planta guar *Cyamopsis tetragonolobus*, oriunda de la India y Pakistán. Tiene la capacidad de disolverse completamente en agua fría, produciendo alta viscosidad; sin embargo, no gelifica y su principal uso es como formador de cuerpo, estabilizante y ligador de agua (Dziezak, 1991).

La Goma Guar es el hidrocoloide natural que alcanza uno de los niveles más altos de viscosidad siendo esta característica el resultado del efecto de las largas estructuras ramificadas del polisacárido; adicicionamlemte, es muy estable en un amplio intervalo de pH 1 a 10,5 siendo un hidrocoloide neutro (Badui, 2013).

La goma Guar es aplicada principalmente como espesante para soluciones acuosas y para controlar la movilidad de materiales dispersados o disueltos; siendo un polímero no iónico es compatible con la mayoría de otros hidrocoloides vegetales como tragacanto, karaya, arábiga, el agar, alginatos, carragenatos, goma de algarrobo, pectina, metilcellulosa y carboxy-metilcellulosa. La Goma Guar también es compatible con casi todos los almidones químicamente modificados, almidones crudos, celulosas

modificadas, polímeros sintéticos, y proteínas solubles en agua (Bristhar Laboratorios, 2010).

2.4.2. Carboximetilcelulosa (CMC)

La goma Carboximetilcelulosa (CMC) es un hidrocoloide de gran utilidad en la industria de alimentos por su transparencia, viscosidad y tolerancia a medios ácidos se emplea en muchos en la elaboración de productos lácteos congelados, panificación, dulces, bebidas de frutas o sabores, bebidas en polvo, leches saborizadas, entre otros. Su carga negativa favorece el desarrollo de sus características de viscosidad. Particularmente esto se ve influenciado en productos con presencia de proteína, por ejemplo, cuando se deshidrata y congela huevo la CMC estabiliza las proteínas o bien, en productos lácteos ayuda a evitar la precipitación de la caseína (Fennema, 2000).

La CMC se obtiene al tratar la celulosa con álcalis y ácido acético monoclorado o su sal sódica. Este tratamiento le otorga nuevas características a la celulosa como ser soluble en agua y actuar como estabilizante, emulsificante, agente de glaseado, agente endurecedor, espesante, humectante, agente de volumen. Por su diversidad de propiedades funcionales la Goma CMC es usada ampliamente en la industria alimenticia, química y farmacéutica. (Regulation of the European Community, 2008).

De igual manera se menciona que en respecto a sus características como emulsificante, este ingrediente ayuda a mantener de manera homogénea una mezcla de dos o más fases inmiscibles entre sí, por ejemplo agua y aceite presentes en un producto alimenticio; como agente de volumen este ingrediente favorece el incremento significativo de un producto y como espesante permite el incremento de la viscosidad del alimento con la facultad de que puede ser aplicada en la cantidad que sea necesaria.

Sus porcentajes de uso común en formulación como gelificante se suele aplicar de 3 al 6%. Se puede aumentar más aún la consistencia de los geles elevando

la concentración entre el 8 hasta 10%, en emulgente en emulsiones se puede aplicar entre el 0,25 y 1% y en soluciones entre el 0,1 y 1,0% (Instituto Europeo de Dermocosmetica, 2017).

2.4.3. Insumos

Para la fabricación de bases de helado en un estudio realizado por Pintor & Totosaus, (2012) se empleó una formulación estándar que dispersa ingredientes secos como: azúcar (15,0%), leche en polvo sin grasa y concentrado de proteína de suero de leche (8,0% y 4,0% respectivamente, mezcla de hidrocoloides (0,5%), emulsionantes (monoestereato de sorbitán y diglicéridos en agua (ca. 58%) a 60° C, para dispersar el butírico y grasas vegetales formulando dos helados diferentes, uno con Viscarin SD 389 iota carragenano (ICG) y el otro con Viscarin GP 209 lambda-carragenina (KCG); ambas mezcladas con carboximetilcelulosa Avicel (CMC) (FMC Biopolymers) y goma de algarroba de Viscogum (LBG) (Texturant Systems) para conformar la mezcla hidrocoloide.

2.4.4. Interacción de insumos (hidrocoloides)

Posada, Sepulveda & Restrepo (2012) en su investigación sobre selección y evaluación de un estabilizante integrado de gomas sobre las propiedades de calidad en mezclas para helado duro para seleccionar la mejor interacción de hidrocoloides, aplicaron siete combinaciones de las tres gomas (100% goma guar, 100% goma karaya, 100% goma de algarrobo en mezclas 50/50 de goma guar y goma karaya; mezcla 50/50 de goma guar y goma de algarrobo; mezcla 50/50 de goma de algarrobo y goma karaya; y mezcla 1/3 goma guar: 1/3 goma de algarrobo: 1/3 goma karaya).

Por otra parte, en el estudio realizado por Rincón et al. (2008) se ensayaron cuatro tratamientos en la preparación de los helados parcialmente descremados, más un tratamiento control sin goma. Las mezclas de gomas comerciales fueron -1 MGC1 (algarroba, carraginosos y xantán), mezcla de

gomas comerciales -2 MGC2 (guar, carraginos y carboximetilcelulosa (CMC)) y mezcla de gomias investigadas MGI (A. glomerosa, E. cyclocarpum e H. courbaril).

Posada, Sepúlveda & Restrepo (2012) elaboraron un helado y comprobaron mediante pruebas físicas (porcentaje de overrun, porcentaje de derretimiento y tiempo de caída de la primera gota) que el uso de una mezcla de varios tipos de estabilizantes para la elaboración de helados permite obtener mejores resultados que cuando se utilizando una goma de forma individual.

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El desarrollo de la investigación se llevó cabo en el taller de procesos lácteos, y en los laboratorios de bromatología y química de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López (ESPAM MFL), ubicados en el sitio El Limón Latitud -0.826211, Longitud -80.186294 (google maps), cabecera cantonal del cantón Bolívar, de la provincia de Manabí.

3.2. DURACIÓN

El proceso de elaboración de la investigación hasta la obtención de datos de los resultados en conjunto con los respectivos análisis y conclusiones de estos tuvo una duración de cinco meses.

3.3. FACTORES EN ESTUDIO

Los factores manejados en el estudio de la elaboración de un helado enriquecido con proteína del suero de leche y estabilizantes fueron:

Factor A: Porcentajes de proteína aislada del suero de leche.

Factor B: Mezclas de estabilizantes.

Para el factor porcentaje de proteínas aisladas del suero de leche se aplicaron los siguientes niveles:

- a1 = 3 % de proteína aislada de suero.
- a2 = 5 % de proteína aislada de suero.

Para el factor de mezclas de gomas estabilizantes se emplearon los siguientes niveles:

- b1 = 0,3% Mezcla de estabilizantes (0,15% de goma Guar y 0,15% de CMC).
- b2 = 0,5% Mezcla de estabilizantes (0,25% de goma Guar y 0,25% de CMC).

TRATAMIENTOS

Las combinaciones de los diferentes niveles de cada factor dieron como resultado los siguientes tratamientos:

Cuadro 3.1 Detalle de tratamientos

TRATAMIENTOS	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN
T1	a ₁ b ₁	3% de proteína aislada de suero + 0,3% de mezclas estabilizante
T2	a ₂ b ₁	5% de proteína aislada de suero + 0,3% de mezclas estabilizante
T3	a ₁ b ₂	3% de proteína aislada de suero + 0,5% de mezclas estabilizante
T4	a ₂ b ₂	5% de proteína aislada de suero + 0,5% de mezclas estabilizante

3.4. UNIDAD EXPERIMENTAL

La investigación constó de cuatro tratamientos, con tres réplicas por cada tratamiento, resultando como total 12 unidades experimentales. De acuerdo con las características de la unidad experimental, la muestra en estudio fue la pasta base para la elaboración de un helado enriquecido con proteína del suero de leche como fuente nutricional. El tamaño de la muestra estuvo dado en base a la capacidad de mínima requerida de los equipos de maduración y mantecación siendo de un peso de 15 kg por repica de cada tratamiento.

Cuadro 3.2. Cuadro de formulación de los tratamientos (pasta base)

ADITIVO / ELEMENTO	TRATAMIENTOS			
	3% proteína 0,3% mezcla	5% proteína 0,3% mezcla	3% proteína 0,5% mezcla	5% proteína 0,5% mezcla
Leche líquida	71,7%	71,7%	71,5%	71,5%
Leche en polvo	3%	5%	5%	3%
Proteína aislada de suero de leche	3%	5%	3%	5%
Mescla de estabilizantes	0,3%	0,3%	0,5%	0,5%
Azúcar	12%	12%	12%	12%
Dextrosa	6%	6%	6%	6%
Grasa	2%	2%	2%	2%
Total	100%	100%	100%	100%

3.5. MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.5.1. Descripción del proceso de elaboración de helado artesanal

Recepción. - Se recibió la materia prima en ambiente adecuado, a la misma que inmediatamente se le realizaron los análisis de control como densidad, prueba de alcohol y análisis de proteína.

Filtración. - Utilizando un tamiz se procedió a filtrar la leche para eliminar impurezas.

Acondicionamiento. - La leche fue introducida en el Pastomaster ya previamente esterilizado.

Adición de la leche en polvo y proteína aislada de suero de leche. - La leche en polvo representa un 8% de la pasta base, siendo reemplazada por la proteína del suero de leche según los porcentajes aplicados en cada tratamiento (3 y 5%). Estos componentes fueron adicionados a una temperatura de 45°C.

Adición del azúcar, dextrosa y estabilizante. - El azúcar, la dextrosa y las mezclas de estabilizantes en los porcentajes de 0,3% (Guar 0,15% y CMC 0,15%) y 0,5% (Guar 0,25% y CMC 0,25%) de los diferentes tratamientos aplicados fueron adicionados juntos a la temperatura de 55°C.

Adición de la grasa hidrogenada o crema de leche. – se adicionó la grasa hidrogenada a los 65°C.

Pasteurización. - La leche se pasteurizó a 85°C y se bajó inmediatamente produciendo un choque térmico en el tanque enchaquetado para su debida pasteurización.

Enfriamiento. - En esta etapa se llevó a cabo rápidamente por la fase crítica (45 a 15°C) porque los pocos gérmenes patógenos que han sobrevivido al calor en esta zona pueden retomar su actividad. Una vez alcanzado los 4°C la actividad de las bacterias se paraliza y la mezcla permanece inalterada.

Maduración. – Al enfriar la mezcla esta permaneció 16 horas en maduración a una temperatura de 4°C permitiendo la hidratación de los componentes para que el estabilizante retenga el agua para evitando su cristalización. Durante la fase de maduración las proteínas de la leche, la crema de leche y estabilizante sufrieron una profunda hidratación, el agua libre se redujo resultando moldeable el helado. Los estabilizantes desarrollan todas sus funciones absorbiendo el agua, convirtiéndola más densa, gelatinosa y estables en unión con las grasas, para un helado más cremoso. Los glóbulos de grasa tienen tiempo de cristalizarse, y mejoran su capacidad de retener el aire para obtener un helado con un mayor aumento de volumen (overrun) 40 a 45%, contra 20 a 25% de una mezcla no madurada; el helado no se derrite con facilidad porque el aire lo protege térmicamente de las oscilaciones de temperaturas. Con la maduración, la mezcla se presentó más densa y más cremosa.

Adición de saborizantes, colorantes, pastas. - Se extrajo la pasta base del Pastomaster y se le adicionó el sabor según las especificaciones del producto.

Mantecación. - La mezcla se vertieron en un cilindro muy frio (- 8°C) y simultáneamente se mezclaron a través de un agitador durante 1 minuto por kg; en esta fase de agitación la mezcla incorporó aire (overrun) y estuvo en

contacto permanente con las paredes del cilindro de donde proviene el frío, helándola en cristales extremadamente diminutos e imperceptibles, creando una masa sólida y cremosa.

Envasado. - El helado se procedió a llenarse en envases térmicos para obtener una mejor conservación en congelación.

Almacenamiento. - El almacenamiento de los helados se mantuvo en un mínimo de -18 y -25°C , esto es para mantenerlo estable por periodos de tiempos muy largos.

3.5.2. DIAGRAMA DE PROCESO

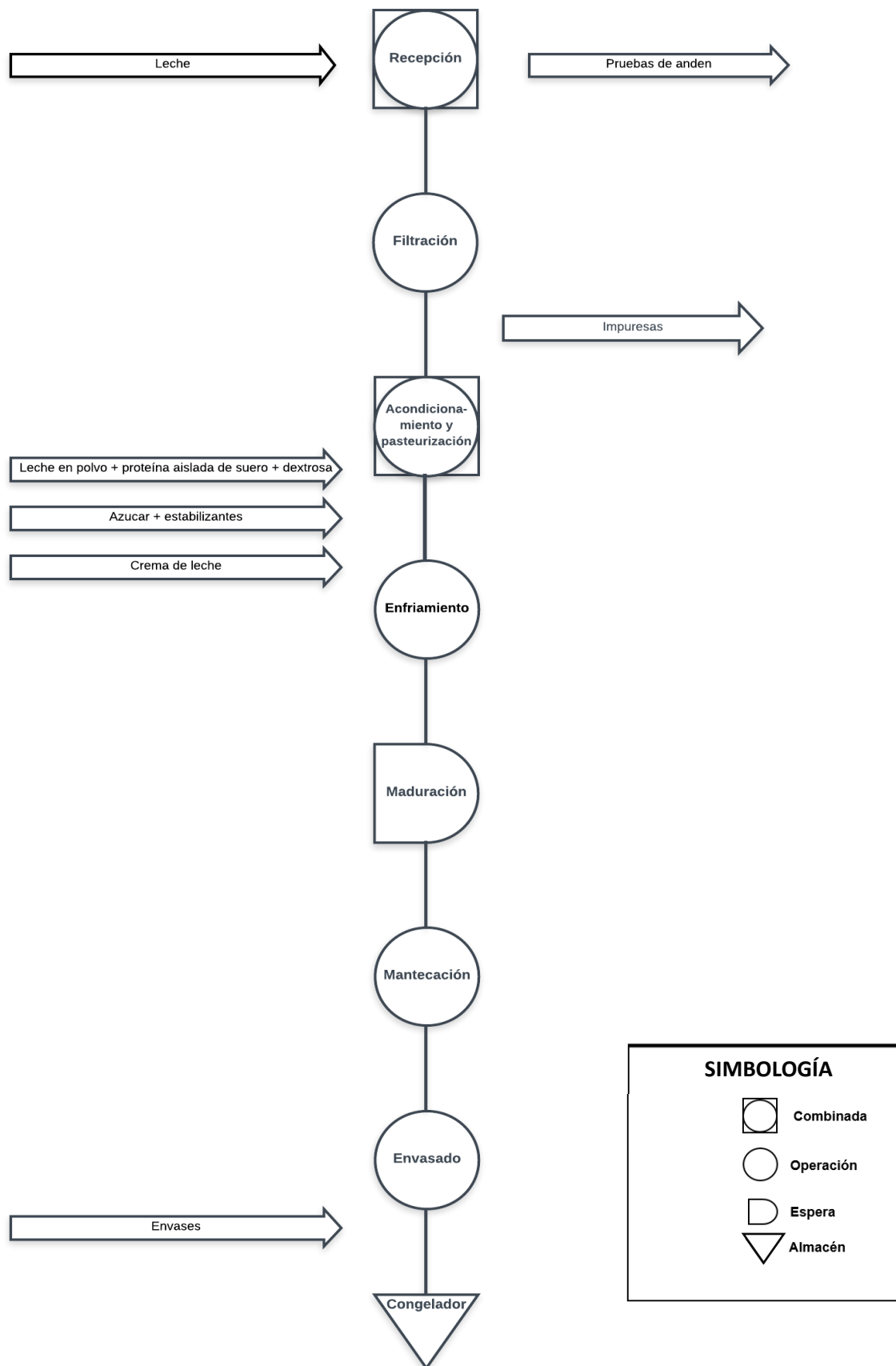


Figura 3.1. Diagrama de proceso de elaboración de helado

3.6. VARIABLES RESPUESTA

- Porcentaje de proteínas totales en la pasta base para el helado
- Viscosidad de la pasta base
- Sinéresis en la pasta base
- Relación peso volumen

3.7. MÉTODOS Y TÉCNICAS APLICADOS

Los parámetros físicoquímicos (proteínas totales, relación peso/volumen y sólidos totales), se determinaron por los métodos establecidos en las normas NTE INEN:0706 para ensayos físico-químicos de helados (2005). El parámetro de viscosidad se determinó con un texturómetro Shimadzu EZ-LX, la grasa láctea se determinó mediante el método de burimetría Gerber y la sinéresis se determinó según el método adaptado por Guinee, Mullins & Cotter (1995).

3.7.1. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS

Los análisis de la cantidad de proteínas totales se realizaron de acuerdo a la norma NTE INEN:0016 (1984) citada en la norma NTE INEN:0706 para ensayos físico-químicos de helados (2005); en donde se determinó el contenido de nitrógeno total mediante el método de Kjeldahl expresando los resultados como porcentaje de proteínas totales.

3.7.2. DETERMINACIÓN DE VISCOSIDAD

Las mediciones se realizaron a 5°C con un texturómetro Shimadzu EZ-LX de fabricación japonés, con celda de fuerza de 500 N, a velocidad de 10 mm/s con sonda de 8 cm de longitud y 1 cm de diámetro de circunferencia; ya para los resultados se utilizó el software TRAPEZIUMX.

3.7.3. DETERMINACIÓN DE SINÉRESIS

Las muestras se llevaron a la centrífuga acelerando la separación de la mezcla hidrocoloide para así poder medir la cantidad de separación de los componentes y posteriormente calcular el porcentaje de sinéresis del producto (Guinee, Mullins & Cotter, 1995); se colocó 10 g de pasta base de helado a 5°C en un tubo de ensayo y se llevó a una centrífuga a 5000 rpm por 10 minutos.

% = porcentaje de sinéresis

P = peso

100 = valor constante

$$\% \text{ Sinerisis} = \frac{(P_{\text{suero}}) * (100)}{P_{\text{muestra}}} \quad [3.1]$$

3.7.4. DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN PESO/VOLUMEN

La relación peso volumen también conocido como overrun (incorporación de aire) se determinó mediante el método AOAC 33.8.01 (968.14) citada en la norma NTE INEN: 0706 para ensayos físicoquímicos de helados (2005).

3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con un arreglo bifactorial AxB con tres réplicas por cada tratamiento.

➤ ESQUEMA DE ADEVA

Cuadro 3.3. Esquema de ADEVA AxB

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD (n-1)
Total	11
AxB	3
Error	8
A	1
B	1

3.8.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de las variables en estudio se realizaron las siguientes pruebas:

- Prueba de normalidad: Se realizó mediante el estadístico de Levene.
- Prueba de homogeneidad: Se realizó mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks modificado.
- Análisis de varianza: Se aplicó para determinar la diferencia significativa estadística entre tratamientos.
- Coeficiente de variación (CV): Se aplicó para analizar la variabilidad de los datos obtenidos con respecto de las variables.
- Prueba de Tukey: Permite determinar la magnitud de las diferencias entre tratamientos. Se analizó la probabilidad al 5% de acuerdo con los grados de libertad (GL) del error.

3.8.2. TRATAMIENTO DE DATOS

El análisis de los datos se llevó a cabo por medio del programa software de análisis estadísticos InfoStat 2018-version libre.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PROTEÍNA TOTALES DE LA PASTA BASE

Se realizó la prueba de homogeneidad por el estadístico de Levene ($p > 0,05$) y la prueba de normalidad por el estadístico de Shapiro-Wilks en donde no se cumplido el supuesto de normalidad ($p < 0,05$); por ende se realizó el análisis de ADEVA no paramétrico Kruskal Wallis (ver anexos 12 y 13).

Los resultados obtenidos en los análisis de proteínas totales con respecto al requerimiento mínimo (1,8%) de la norma NTE INEN 706 para helados (2005) fueron mayores y se presentaron en un rango de 3,21 hasta 4,74% como se evidencia en las medias del cuadro 4.2. Según el ADEVA realizado los tratamientos tuvieron una varianza significativas ya que el p-valor fue menor que 0,05 (ver cuadro 4.1); con respecto a la categorización de la medias de los tratamientos, el mejor fue el T2 (5% de proteína aislada de suero) y se establece como el mejor porcentaje para adición de proteína aislada de suero a fin de obtener mayores porcentajes de proteínas totales. Estos resultados (media general 3,73%) son similares a los obtenidos por (Boumba & Rodríguez, 2011) quienes probaron la adición de proteínas de suero de queso obteniendo una media de proteínas totales de 3,24%.

Los altos porcentajes de proteínas obtenidos se pueden contrastar de forma positiva como un aporte a las características generales del helado debido a las propiedades físicas de las β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina provenientes del suero de leche como lo afirman Flett y Correding, (2009); de igual manera aportan solubilidad, hidratación, emulsificación, textura, consistencia y propiedades de gelificación al producto final (Spellman, O'cuinn, & FitzGerald, 2009). De igual forma Arévalo, Zamora & Miguel, (2011) afirman en su estudio que al aumentar los porcentajes de concentrados de proteínas de suero en la pasta base se obtiene mayor firmeza, ya que las proteínas ayudan a mejorar la estabilidad del helado y a mantener la estructura del mismo.

Cuadro 4.1. Análisis de la Varianza de proteínas totales en la pasta base.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-Valor
Modelo	1,94	3	0,65	1078,87	<0,0001
Proteínas	0,78	1	0,78	1300,5	<0,0001
Estabilizantes	1,14	1	1,14	1901,39	<0,0001
Proteínas*Estabilizantes	0,02	1	0,02	34,72	<0,0004
Error	0,0048	8	0,0006		
Total	1,95	11			

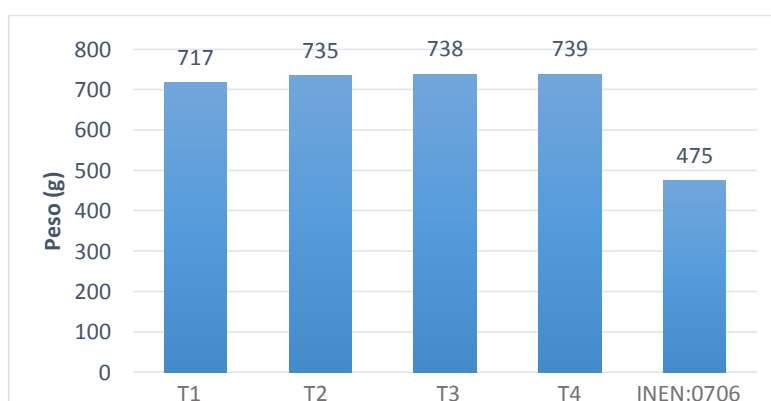
Cuadro 4.2. Categorización de medias de Kruskal Wallis para proteínas totales en la pasta base.

PROTEÍNAS	ESTABILIZANTES	MEDIAS	RANGOS	Categorización			
a ₂ (5%)	b ₁ (0,3%)	4,34	0,01	1			
a ₁ (3%)	b ₁ (0,3%)	3,74	0,01		2		
a ₂ (5%)	b ₂ (0,5%)	3,64	0,01			3	
a ₁ (3%)	b ₂ (0,5%)	3,21	0,01				4

4.2. RELACIÓN PESO VOLUMEN

Se realizó la prueba de homogeneidad por el estadístico de Levene ($p > 0,05$) y la prueba de normalidad por el estadístico de Shapiro-Wilk en donde no se cumplido el supuesto de normalidad ($p < 0,05$); por ende se realizó el análisis de ADEVA no paramétrico Kruskal Wallis (ver anexos 14 y 15).

Los resultados obtenidos de la relación peso volumen se presentaron en un rango de 717 a 739 g/L de helado (ver gráfico 4.1) siendo considerablemente altos en comparación al peso requerido por la normas NTE INEN 706 (2005) que estipulan un mínimo de 475 g para helados de leche.

**Gráfico 4.1.** Comparación de la relación peso-volumen de los tratamientos frente a la norma INEN 706 (2005).

En el análisis de varianza se determinó que al menos uno de los tratamientos tuvo diferencia significativa ya que el p-valor fue menor que 0,05 (ver cuadro 4.3); por ende se realizó la prueba de Tukey para comparar los tratamientos, siendo el T4 (5% proteína aislada y 0,5% mezcla de gomas) el de menor peso en relación al volumen y por ende obtuvo mayor incorporación de aire.

Cuadro 4.3. Análisis de la Varianza de relación peso-volumen en helado artesanal.

F.V.	n	Medias	D.E.	GI	p-Valor
a2 (5%) b2 (0,5%)	3	717,33	2,52	3	<0,035
a2 (5%) b1 (0,3%)	3	739,00	2,00		
a1 (3%) b2 (0,5%)	3	738,00	2,00		
a1 (3%) b1 (0,3%)	3	735,33	1,53		

Cuadro 4.4. Prueba tukey para proteínas totales, mezclas de estabilizantes e interacción de factores sobre la relación peso-volumen.

COMPARACIÓN POR FACTORES						
Proteínas	Estabilizantes	Medias	n	E.E.	Categorización	
a2		728,17	6	0,83	1	
a1		736,67	6	0,83		2
	b2	727,67	6	0,83	1	
	b1	737,17	6	0,83		2
COMPARACIÓN POR TRATAMIENTOS						
a2	b2	717,33	3	1,18	1	
a1	b1	735,33	3	1,18		2
a1	b2	738,00	3	1,18		2
a2	b1	739,00	3	1,18		2

4.3. VISCOSIDAD

Se realizó la prueba por el estadístico de Levene ($p < 0,05$) para los datos de viscosidad obtenidos; donde se muestra que no se cumple el supuesto de homogeneidad, al igual que el supuesto de normalidad por Shapiro-Wilks ($p < 0,05$), realizándose el análisis ADEVA no paramétrico Kruskal Wallis (ver anexos 16 y 17).

En la variable viscosidad los resultados obtenidos se presentaron en un rango de 536 hasta 649 centipoises como se evidencia en el cuadro 4.6, siendo el tratamiento T4 quien presentó la mayor viscosidad debido a la influencia de los

niveles que consistieron en aplicar mayor porcentaje de mezclas de estabilizantes (0,5%) y mayor porcentaje de proteína aislada de suero (5%); dando como resultado en el ADEVA no paramétrico de Kruskal Wallis que hubo varianza significativa y evidenciando en el cuadro de comparación de medias que el T4 obtuvo una categoría “2” y la mayor viscosidad con respecto a los demás tratamientos; mediante lo cual se establece q aplicando 5% de proteína y 0,5% de mezclas de gomas se obtiene mayor viscosidad.

Cuadro 4.5. Análisis de la varianza de viscosidad.

Variable	Proteína	Mezclas	N	Medias	D.E.	Medianas	GI	p
Viscosidad	a2	b2	3	649,33	12,1	645	3	0,02
	a2	b1	3	549	2,65	550		
	a1	b2	3	540,67	3,06	540		
	a1	b1	3	536,33	3,79	538		

Cuadro 4.6. Comparación de medias Kruskal Wallis.

Tratamiento	Medias	Rangos	Categorías	
a1:b1	536,33	2,5	1	
a1:b2	540,67	4,5	1	
a2:b1	549	8	1	2
a2:b2	649,33	11		2

Los resultados obtenidos en viscosidad de la pasta base fueron elevados debido al uso de porcentajes altos de mezcla de estabilizantes y proteína aislada de suero; confirmándolo con la investigación de Michue, Encina, & Ludeña, (2015) sobre su estudio en la optimización de overrun, dureza y viscosidad de un helado mediante el diseño de mezclas donde se aplicó 1% de proteínas de suero de leche y 0,35% de estabilizantes obteniendo viscosidades promedio de 540 centipoises, determinando que a mayor porcentaje de proteínas de suero y mayor porcentajes de estabilizantes la viscosidad será mayor.

En concordancia con lo antes mencionado, el alto grado de viscosidad de los presentes resultados tuvo un efecto positivo en el producto final ya que evitó la separación de la grasa; confirmado por Baer, Wolkow, & Kasperson (1997) como se citó en Posada, Sepulveda & Restrepo (2012) que hace referencia a la

alta viscosidad de la pasta base para la elaboración de helados y su influencia sobre el aumento de la suavidad y cuerpo del producto elaborado.

4.4. SINÉRESIS

Con respecto a los análisis de sinéresis, los resultados obtenidos en todos los tratamientos no presentaron separación de los componentes; determinando que los niveles de mezclas de estabilizantes fueron adecuados y cumplieron su rol en la pasta base manteniendo la estabilidad de los componentes, lo cual se contrasta a lo mencionado por Hernández, Dolz, Dolz & Pellicer, (2011) quienes afirman que los hidrocoloides mejoran la estabilidad de la emulsión, estabilizan al sistema contra la separación de fases ligando el agua libre a los glóbulos de grasa. Los resultados se pueden sustentar con la investigación de Bear, Wolkow & Kasperson, (2011) quienes evaluaron los efectos de estabilizantes en el cuerpo y textura de helados con 0,3%, obteniendo ausencia de separación de los componentes de helado.

Por otra parte El-Salam, El-Etriby & Sayed (1997) reportan que las gomas, hidrocoloides, incrementan la viscosidad de la fase acuosa, lo cual contribuye a una mayor estabilidad de los componentes evitando defectos en la textura del producto final; siendo este el sustento principal del porqué hubo ausencia de sinéresis en el presente estudio realizado. De igual manera Abrate (2017) afirma en su estudio sobre la evaluación de la estabilidad en helados de crema utilizando diferentes tipos de proteínas que al aumentar la concentración de estabilizantes, proteínas y sólidos totales se obtendrá una mayor viscosidad y por ende una mayor estabilidad de los componentes agua-proteína-grasa.

CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

El 5% de proteína aislada de suero de leche incrementa el aporte de fuentes proteicas al helado artesanal y la viscosidad de la pasta base, e influye levemente en la relación peso volumen.

El 0,5% de mezclas de gomas en el helado confiere alta estabilidad coloidal de los componentes agua-grasa-proteína.

Mayores porcentajes de proteína aislada de suero de leche y mezclas de gomas guar y CMC se obtiene mayor efecto en el aumento de la viscosidad en la pasta base.

5.2. RECOMENDACIONES

Aplicar 5% de proteínas aislada de suero en la pasta base para la elaboración de helados de leche artesanales a fin de aumentar el valor proteico del producto final.

Aplicar 0,5% de mezclas de gomas en porcentajes de 5% de proteínas aisladas de suero dentro de la formulación de la pasta para helados artesanales a fin de aumentar la viscosidad de la pasta base.

BIBLIOGRAFÍA

- Aditivos Alimentarios EPSA. (2013). Los hidrocoloides, aditivos de alta funcionalidad. Tecnifood. La revista de la tecnología alimentaria.
- Aider, M., de Halleux, D., & Melnikova, I. (2009). Skim acidic milk whey cryoconcentration and assessment of its functional properties: Impact of processing conditions. *Innovative food science & emerging technologies*, 10(3), 334-341.
- Almeida, K.E., Tamime, A.Y. & Oliveira, M.N. (2009). Influence of total solids contents of milk whey on the acidifying profile and viability of various lactic acid bacteria. *LWT - Food Science and Technology* 42(2): 672–678.
- Álvarez, C. (1956). Enciclopedia de la leche. Calpe SA, Madrid, España.
- American Academy of Pediatrics. (2006). Lactose Intolerance in Infants, Children, and Adolescents. Guidance for the Clinician in Rendering Pediatric Care. Revised Volume 118 / ISSUE 3. 62(2):240.
- Angulo, C. R. (2005). Factibilidad de producción y estudio de rendimiento de queso chanco con incorporación de suero en polvo. *Universidad Austral de Chile. Facultad deficiencias agrarias. Magister en ciencias y tecnología de la leche.*
- Arévalo, P., Zamora, C. & Miguel, A. (2011). Evaluación del uso de concentrado de proteína de suero y dos concentraciones de grasa en helado de vainilla.
- Badui, S. (2013). Química de los alimentos. 222-273.
- Belitz, H., & Grosch, W. (1997). Química de los alimentos. Segunda edición, Editorial Acirbia, 1-1134.
- Baer, R. J., Wolkow, M. D. & Kasperson, K. M. (1997). Effect of emulsifiers on the body and texture of low fat ice cream. *Journal of Dairy Science*, 80(12), 3123-3132.
- Bear, R. J., Wolkow, M. D. & Kasperson, K. M. (2011). Efecto de emulsificantes en el cuerpo y textura del helado bajo en grasa.

- Boumba, A., & Rodríguez, T. (2011). Utilización del Suero de Queso en Helado. ISSN 0864 - 4497, pp. 9-12
- Bristhar Laboratorios. (2010). Goma Guar, estabilizante natural. Página web. Disponible en: <http://www.bristhar.com.ve/guar.html>
- Brito, H., Santillán, A., Arteaga, M., Ramos, E., Villalón, P. & Rincón, A. (2015). Aprovechamiento del suero de leche como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental. European Scientific Journal. vol.11, No.26 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.
- Burgos, I. V. (2015). . Estudio investigativo del suero de leche y propuesta gastronómica. p.155. Tesis. Formato pdf disponible en: http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/13014/1/59972_1.pdf
- Caessens, P., Visser, S. & Gruppen, H. (1997). Method for the isolation of bovine β -lactoglobulin from a cheese whey protein fraction and physicochemical characterization of the purified product. Journal Dairy International. 7: 229-235.
- Casas, J. A., & García-Ochoa, F. (1999). Viscosity of solutions of xanthan/locust bean gum mixtures. Journal of the Science of Food and Agriculture, 79(1), 25-31.
- Clarke, C. (2004). Ice cream ingredients. In The Science of Ice Cream. 38-57. Cambridge: Royal Society of Chemistry Publishing.
- Concurso de Innovación Láctea. (2018). IX Foro Lechero Internacional, vive sano Ecuador. Centro de la Industria Láctea del Ecuador.
- Cottrell, Pass & Phillips. (1980). The effect of stabilizers on the viscosity an ice cream mix. J. Sci. Food Agric. 31: 1066-1068.
- Cox, M. & Lehninger, D. (2006). Principios de Bioquímica. Editorial Omega, 1-1232.
- Dairy, M. (1982). Utilización del suero en alimentos. Internacional Industries, 47(3).
- Delmonte, M. L., Rincón, F., LEÓN, D. & Guerrero, R. (2006). Comportamiento de la goma de *E. cyclocarpum* en la preparación de néctar de durazno. Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia, 29(1), 23-28.

- Dziezak J.D. A. (1991). Focus on gums. *Food Technology*. 45, 3, 115.
- El-Salam, M. A., El-Etriby, H. & Sayed, A. F. (1997). Evaluation of some stabilizers in the manufacture of ice cream. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 25, 157-164.
- El-Salam, M. A., El Etriby, H. M., & Shahein, N. M. (1996). Influence of some stabilizers on some chemical and physical properties of yoghurt. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 24, 25-36.
- Fennema, O. (2000). *Química de Alimentos*, libro. 4 (5) 246-248
- Flett, K. L., & Corredig, M. (2009). Whey protein aggregate formation during heating in the presence of κ -carrageenan. *Food chemistry*, 115(4), 1479-1485.
- Foegeding, E. & Luck, P. (2002). Whey protein products. 1957-1960. *Encyclopedia of Foods Sciences and Nutrition*. Academic Press, New York, 2(002).
- Guinee, T., Mullins, W., Cotter, M. (1995). Yoghurts Stabilised with Different Dairy Ingredients. *Editorial Milchwissenschaft*. Estados Unidos. Págs. 308-310.
- González J. (2006). Suero de leche. Composición del suero de leche y su uso. Resumen bibliográfico. MINAL. La Habana.
- Grasselli, M., Navarro, C., Fernández. L., Miranda, V., Camperi, A. & Cascone, O. (1997). ¿Qué hacer con el suero de queso? *Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Asociación Ciencia Hoy* 8: 1-10.
- Greene, H. L., Hambidge, K. M., Schanler, R., & Tsang, R. C. (1988). Guidelines for the use of vitamins, trace elements, calcium, magnesium, and phosphorus in infants and children receiving total parenteral nutrition: report of the Subcommittee on Pediatric Parenteral Nutrient Requirements from the Committee on Clinical Practice Issues of the American Society for Clinical Nutrition. *The American journal of clinical nutrition*, 48(5), 1324-1342.
- Grupo de Investigación de Lácteos. (2017). Valorización del suero de leche. Una visión desde la biotecnología. *Bionatura*, 2(4), 468-476. <https://doi.org/10.21931/RB/2017.02.04.11>.

- Guerrero, H. J. R., Ramírez, P. A. L. & Puente, W. (2011). Caracterización del suero de queso blanco del combinado lácteo Santiago. *Tecnología Química*, 31(3), 313-323.
- Ha, E. & Zemel, M. B. (2003). Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. *The Journal of nutritional biochemistry*, 14(5), 251-258.
- Hagiwara, T. & Hartel, R.W. (1996). Effect of sweeteners stabilizer and storage temperature on ice recrystallization in ice cream. *Journal of Dairy Science* 79: 735-744.
- Hernández, G. (1982). Probabilidades de industrialización del suero de queso. La Habana.
- Hernández, J.M., Dolz, M., Dolz, J. D. & Pellicer, J. (2011). Viscous synergism in carrageenans (κ and λ) and locust bean gum mixtures: Influence of adding sodium carboxymethylcellulose. *Food Science and Technology International* 7: 383-391.
- Ibrahim, F. S., Babiker, E. E., Yousif, N. E. & El Tinay, A. H. (2005). Effect of fermentation on biochemical and sensory characteristics of sorghum flour supplemented with whey protein. *Food Chemistry*, 92(2), 285-292.
- Instituto Europeo de Dermocosmetica. (2017). Carboximetilcelulosa sódica. Ficha técnica. Página web. Disponible en: <http://www.institutodermocosmetica.com/fichas-tecnicas/espesantes/carboximetilcelulosa-sodica/>
- Instituto Nacional de Normalización. NTE.INEN:0706. (2005). Helados, requisitos. Primera revisión.
- Instituto Nacional de Normalización. NTE INEN:009. (2012). Leche cruda, requisitos. Quinta revisión.
- Instituto Nacional de Normalización. NTE.INEN:0012. (1985). Código de practica para la elaboración de productos cárnicos. Primera revisión.
- Instituto Nacional de Normalización. NTE.INEN:0014. (1984). Determinación de sólidos totales y cenizas. Primera revisión.
- Instituto Nacional de Normalización. NTE.INEN:0016. (1984). Leche, determinación de proteínas. Primera revisión.

- Kailasapathy, K., & Sellepan, C. D. (1998). Effect of single and integrated emulsifier-stabiliser on soy-ice confection. *Food chemistry*, 63(2), 181-186.
- Kampf, N., & Nussinovitch, A. (2000). Hydrocolloid coating of cheeses. *Food Hydrocolloids*, 14(6), 531-537.
- Khramtsov, A., & Shilovskaya, T. (1979). Tratamiento biológico del suero. La Habana.
- Konrad, G. & Kleinschmidt, T. (2008). A new method for isolation of native α - lactalbumin from sweet whey. *Journal Dairy International*. 18: 47-54.
- Koutinas, A., Papapostolou, H., Dimitrellou, D., Kopsahelis, N. Katechaki, E. Bekatorou, A. & Bosnea. L. (2009). Whey valorisation: A complete and novel technology development for dairy industry starter culture production. *Bioresource Technology* 100(15): 3734-3739.
- Lim, S. Y., Swanson, B. G., Ross, C. F., & Clark, S. (2008). High hydrostatic pressure modification of whey protein concentrate for improved body and texture of lowfat ice cream. *Journal of dairy science*, 91(4), 1308-1316.
- Lollo, P. C. B., Amaya-Farfan, J., Faria, I. C., Salgado, J. V. V., Chaconl, M. P. T., Cruz, A. G. & Arruda, M. (2014). Hydrolysed whey protein reduces muscle damage markers in brazilian elite soccer players compared with whey protein and maltodextrin. A twelve-week in-championship intervention. *International Dairy Journal*, 34(1), 19-24.
- Londoño, M., Sepúlveda, J., Hernández, A. & Parra, J. (2008). Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *lactobacillus casei*. *Revista Facultad Nacional Agronomía Medellín* 61(1): 4409-4421.
- Marshall, R. T. & Arbuckle, W. S. (1996). Stabilizers and emulsifiers. In: *Ice cream*. 5th Ed. International Thomsong Publishing. 71-80.
- McIntosh, H. Royle, J. Leu, L. Regester, O. Johnson, A. Grinsted, L. Kenward, S. & Smithers W. (1998). Whey proteins as functional food ingredients. *Journal Dairy International* 8: 425-434.
- Mehra, R., Marnila, P. & Korhonen, H. (2006). Milk immunoglobulins for helth promotion. *Journal Dairy International*. 16: 1262-1271.

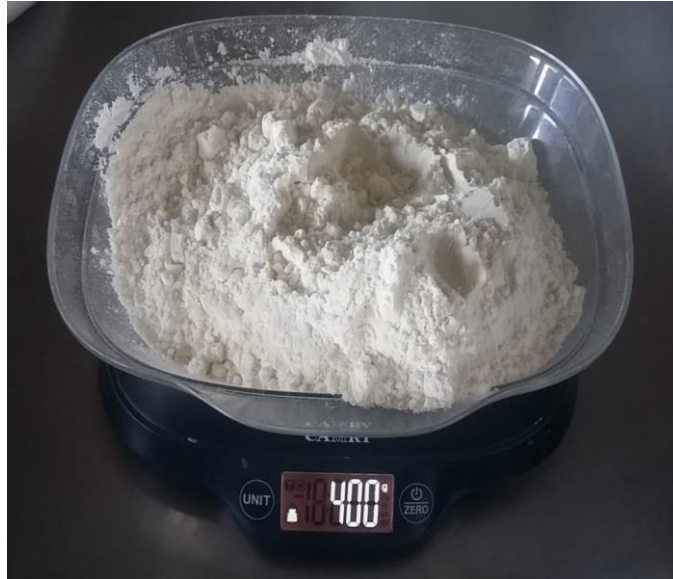
- Meyer, M., Kircher, S., Usami, O., Berlijn, J. & Medina, F. (1986). *Elaboración de Productos Lácteos: Manuales para Educación Agropecuaria*. Editorial Trillas.
- Michue, M. J. E., Encina, Z. C. R. & Ludeña, U, F. E. (2015). Optimización del overrun (aireado), de la dureza, la viscosidad y los costos de un helado mediante el diseño de mezclas. *Ingeniería Industrial*, (033), 229-250.
- Nicorescu, I., Loisel, C., Riaublanc, A., Vial, C., Djelveh, G., Cuvelier, G., & Legrand, J. (2009). Effect of dynamic heat treatment on the physical properties of whey protein foams. *Food Hydrocolloids*, 23(4), 1209-1219.
- Núñez J., San Martín V., Salazar D. & Avilés M. (2015). *Metodología de la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC 2014*. Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC-BM). Quito.
- Ortiz, C. L. E., & Horvitz, S. (2016). "Formulación y elaboración de un helado de mora libre de gluten y lactosa a base de bebida de soya y con contenido medio en azúcar. Facultad de ciencia e ingeniería en alimentos. Tesis. Ambato, Ecuador.
- Pal, S. & Ellis, V. (2009). The chronic effects of whey proteins on blood pressure, vascular function and inflammatory markers in overweight individuals. *Obesity* (Epublication ahead of print version).
- Pal, S., Ellis, V. & Dhaliwal, S. (2010). Effects of whey protein isolate on body composition, lipids, insulin and glucose in overweight and obese individuals. *British Journal of Nutrition*, 104(5), 716-723. doi:10.1017/S0007114510000991
- Panesar, P., Kennedy, J., Gandhi, D. & Bunko, K. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry* 105: 1-14.
- Parra, H. R. A. (2009). Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 62(1).
- Pintor, A. & Totosaus, A. (2012). Ice cream properties affected by lambda-carrageenan or iota-carrageenan interactions with locust bean gum/carboxymethylcellulose mixtures.

- Posada, D. L. R., Sepulveda, V. J. U. & Restrepo, M. D. A. (2012). Selección y evaluación de un estabilizante integrado de gomas sobre las propiedades de calidad en mezclas para helado duro. *Vitae*, 19(2), 166-177
- Regulation of the European Community. (2008). Regulation of the European Parliament and of the Council No (EC) 1333/2008. 354, 16.
- Rincón, F., León de Pinto, G., Beltrán, O., Clamens, C., & Guerrero, R. (2008). Funcionalidad de una mezcla de gomas de Acacia glomerosa, *Enterolobium cyclocarpum* e *Hymenaea courbaril* en la preparación de helados de bajo contenido calórico. *Revista Científica*, 18(1), 87-92.
- Sarmiento, J. M. (2003). Bebidas energizantes. GSSI Base Latinoamérica. Obtenido el, 4.
- Spellman, D., O'cuinn, G. & FitzGerald, R. J. (2009). Bitterness in *Bacillus* proteinase hydrolysates of whey proteins. *Food Chemistry*, 114(2), 440-446.
- Sinha, R., Radha, C., Prakash, J. & Kaul, P. (2007). Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chemistry*, 101(4), 1484-1491.
- Soukoulis C., Rontogianni E. & Tzia C. (2010). "Contribution of thermal, rheological and physical measurements to the determination of sensorially perceived quality of ice-cream containing bulk sweeteners". *Journal of Food Engineering*, Vol. 100, pag: 634-641.
- Superintendencia de Industria y Comercio. (2013). Uso del suero de leche en alimentos y sustitutos, *Boletín Tecnológico*. Bogotá, Colombia.
- Teniza, G. O. (2012). Estudio del suero de queso de leche de vaca y propuesta para el reuso del mismo (Doctoral dissertation).
- Valencia, D. E. & Ramírez, C. M. L. (2009). La industria de la leche y la contaminación del agua. (73) 27-31.
- Valencia, L. T. A. (2009). Aprovechamiento tecnológico del suero del lacto suero y gel deshidratado de *Opuntia subulata* para la elaboración de una bebida nutraceutica. Facultad de ciencias pecuarias, ESPOCH.

- Wakabayashi, H., Yamauchi, K. & Takase, M. (2006). Review: Lactoferrin research, technology and applications. *Journal Dairy International* 16: 1241-1251.
- Zadow, J. G. (2003). Protein concentrates and fractions. 6152-6156. *Encyclopedia of Food Science and Technology*. Wiley, New York.
- Zambrano, A. C. G. & Zambrano, Z. J. R. (2013). Bebida láctea fermentada utilizando lactosuero como sustituto parcial de leche y diferentes estabilizantes comerciales. *Carrera de Agroindustrias*. ESPAM MFL.

ANEXOS

ANEXO 1. Pesado de proteína ahislada de suero de leche.



ANEXO 2. Insumos para elaboración de pasta base.



ANEXO 3. Adición de leche al pastomater.




ANEXO 4. Maduración de la pasta base a 4C°.



ANEXO 5. Pasta base previa a la incorporación de aire.

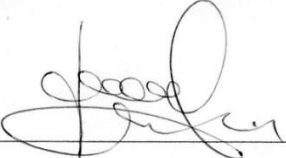


ANEXO 6. Análisis físico-químicos.

	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ ESPAM "MFL"	
	RESULTADOS	
NOMBRE DEL CLIENTE:	ING. ABRAHAN LOOR REYES	
SOLICITADO POR:	ING. ABRAHAN LOOR REYES	
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	CALCETA	
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:	HELADO ARTESANAL CON ADICIÓN DE PROTEÍNA AISLADA DEL SUERO DE LA LECHE	
TIPO DE MUESTREO:	CLIENTE	
ENSAYOS REQUERIDOS:	PROTEÍNA, GRASA, SOLIDOS TOTALES	
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA	09/04/2019 09H35	
FECHA DE REALIZACIÓN DE LOS ENSAYOS:	09/04/2019 – 11/04/2019 – 12/04/2019 – 16/04/2019 – 17/04/2019	
LABORATORIO RESPONSABLE:	BROMATOLOGÍA	
TÉCNICO QUE REALIZÓ EL ANÁLISIS:	ING. EUDALDO LOOR M.	

ITEM	PARÁMETROS	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADOS											
				HELADO ARTESANAL											
				T ₁ R ₁	T ₁ R ₂	T ₁ R ₃	T ₂ R ₁	T ₂ R ₂	T ₂ R ₃	T ₃ R ₁	T ₃ R ₂	T ₃ R ₃	T ₄ R ₁	T ₄ R ₂	T ₄ R ₃
1	PROTEINA	KJELDAHL	%	3,73	3,76	3,74	4,36	4,31	4,34	3,22	3,19	3,22	3,60	3,64	3,67
2	GRASA	GERBER	%	4,4	4,3	4,1	5,2	5,1	5,3	5,9	6,1	5,7	3,8	3,7	4,0
3	SOLIDOS TOTALES	NTE INEN 14	%	38,72	38,19	38,45	37,48	37,12	37,27	37,14	37,76	37,14	37,39	37,89	37,77

OBSERVACIONES:


 FIRMA DEL JEFE DE LABORATORIO
 Fecha: 18/04/2019



 GERENTE DE CALIDAD
 Fecha: 18/04/2019

ANEXO 7. Incorporación de aire (1 minuto por kilogramo).



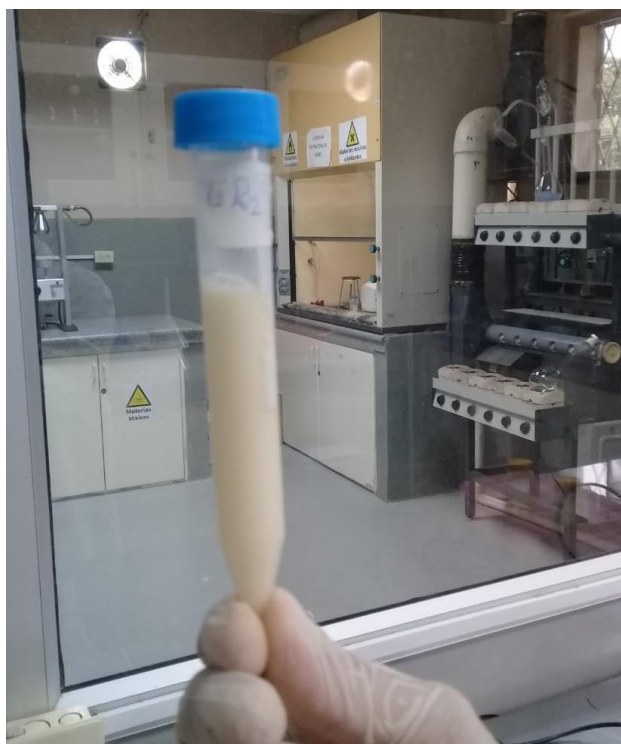
ANEXO 8. Envasado del producto elaborado.



ANEXO 9. Helado listo para el consumo.



ANEXO 10. Prueba de sinéresis (ausencia).



ANEXO 11. Análisis de viscosidad.**ANEXO 12. Contraste de Levene sobre porcentaje de proteínas totales.**

F	gl1	gl2	Sig.
0,718	3	8	0,569

ANEXO 13. Estadístico de Shapiro-Wilk sobre porcentaje de proteínas totales.

Variable	n	Media	D.E.	W*	Sig.
Proteínas totales	12	3,73	0,42	0,84	0,045

ANEXO 14. Contraste de Levene sobre la relación peso-volumen

F	gl1	gl2	Sig.
0,198	3	8	0,895

ANEXO 15. Estadístico de Shapiro-Wilks sobre relación peso volumen.

Variable	n	Media	D.E.	W*	Sig.
Relación Peso-volumen	12	732,42	9,37	0,74	0,001

ANEXO 16. Contraste de Levene sobre datos de viscosidad.

F	gl1	gl2	Sig.
5,198	3	8	0,028

ANEXO 17. Estadístico de Shapiro-Wilks sobre viscosidad.

Variable	n	Media	D.E.	W*	Sig.
Viscosidad	12	568,83	49,10	0,66	0,0001