



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

“Elaboración de un helado bajo en grasa con lactulosa
adicionada y obtenida a partir de electro-activación *in situ* de
lactosa proveniente de permeado de suero lácteo”

Tesis

que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestra en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

presenta

IQAL. María de Lourdes Pérez Tamayo

dirigida por:

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano

Santiago de Querétaro, Qro. Diciembre, 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Elaboración de un helado bajo en grasa con lactulosa
adicionada y obtenida a partir de electro-activación in
situ de lactosa proveniente de permeado de suero
lácteo

por

María de Lourdes Pérez Tamayo

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: FQMAC-164684



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología en Alimentos

“Elaboración de un helado bajo en grasa con lactulosa adicionada y obtenida a partir de la electro- activación *in situ* de lactosa de permeado de suero lácteo”

Tesis

que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

presenta

IQAL. María de Lourdes Pérez Tamayo

dirigida por:

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano

Directora

Firma

Dr. Eduardo Castaño Tostado

Asesor

Firma

Dr. Carlos Regalado González

Asesor

Firma

Dra. Beneranda Murúa Pagola

Asesor

Firma

Dr. Adrián Sosa Domínguez

Asesor

Firma

Centro Universitario, Querétaro, Qro

Diciembre, 2023

México

DEDICATORIA

“El error está permitido siempre que se cometa una sola vez y dentro de una búsqueda sincera de conocimiento. Ésa es la condición humana: el hombre busca el conocimiento”

A mi abuelo Jesús

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primera instancia a FOPER 2022, porque gracias al recurso pudo llevarse a cabo la elaboración de este proyecto, gracias por el recurso, la enseñanza en gestión y por permitirme ejecutar mi idea.

A CONAHCYT por permitirme llevar a cabo uno de mis sueños.

Agradezco a la Dra. Silvia Amaya por darme la libertad de plasmar mis ideas en papel y llevarlas a cabo, gracias por darme la confianza y por todo el apoyo brindado hacia mi persona.

Al Dr. Carlos Regalado, Dr. Eduardo Castaño y Dra. Beneranda Murúa y al Dr. Adrián Sosa, gracias por compartirme sus conocimientos y sus anécdotas

Dra Luci, le agradezco todo el apoyo, los consejos y el batallar en el que usted me ha acompañado en este proyecto. Gracias por la confianza, por el conocimiento y por los boletos de Taylor.

A mis padres Salvador y Lourdes, mis sueños han sido diferentes y agradezco el impulso, el apoyo, los regaños, las risas, los llantos, pero sobre todo el amor que me dan. Los amo mucho.

A mis hermanos Chava y Quique, a quienes amo inmensamente, compartir mi vida con ustedes ha sido un reto, un disfrute y una vida llena de carcajadas.

A mis tías Mayos, Maty y Cachito, gracias por siempre darme ánimos y no dejarme rendirme.

A mi tío Chucho por proporcionarme mi electrodo de trabajo, gracias por esto y por todo.

A mis amigos Silvie, Naye, Andrés, Paola y Maggie por hacer de mis días un arcoíris emergiendo de la tormenta. Gracias por su apoyo, por sus risas, por sus consejos, por sus buenas intenciones. Si existe una amistad alquímica, la quiero con ustedes.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'M. S. Rojas', enclosed within a blue oval shape.

RESUMEN

El permeado de suero dulce se considera un bioproducto con una vasta cantidad de nutrientes. Por su alta cantidad de lactosa es factible la obtención de algún otro compuesto. Por ello, se aplicó un tratamiento de electro-activación *in situ* para la transformación (isomerización) de la lactosa a lactulosa, es decir, a través de un medio alcalino y el aporte de energía eléctrica por una doble capa eléctrica, que permitió lograrlo. En este tratamiento se ocupó un electrodo de platino a 400 mA. El rendimiento fue de alrededor del 17% de lactulosa, con una resistencia de la celda de 59.7 Ω , y un consumo de energía de 4.77 W/h durante los 30 minutos de tratamiento. La obtención de la lactulosa a partir de la isomerización de la lactosa permitió considerar este suero electro-activado como un posible ingrediente en la elaboración de un helado bajo en grasa con 3% de grasa complementada con un 7% de lactulosa. El helado desarrollado fue sensorialmente aceptable por 50 panelistas no entrenados que le dieron calificaciones iguales a un helado control (8% de grasa, 6% de lactulosa). De esta evaluación sensorial, se concluyó que la lactulosa en un helado bajo en grasa puede disminuir su dureza, aumentar el porcentaje de aireado, así como aumentar el tiempo que puede estar sin derretirse; sin embargo, estos parámetros no sólo dependieron de la lactulosa por sí misma, sino que ingredientes como la grasa, permitieron generar interacciones que promovieron y/o aumentaron estas propiedades. Por último, se llevó a cabo un estudio de vida de anaquel sensorial con un diseño reversa, donde se evaluó el helado durante 45 días tanto en pH, acidez y sensorialmente; se mantuvo la aceptabilidad sensorial del helado hasta 45 días, así como su en pH y acidez. El tratamiento de suero para la obtención sustentable de ingredientes funcionales debe impulsarse ya que permite reformular productos, como el helado, con un mejor balance nutricional.

Palabras clave: Helado, prebiótico, lactulosa, electro-activación, suero dulce, sensorial, anaquel, lácteos.

ABSTRACT

Sweet whey permeate is considered a bioproduct with a vast amount of nutrients. Due to its high amount of lactose, it is feasible to obtain some other compound. For this reason, an in situ electro-activation treatment was applied for the transformation (isomerization) of lactose to lactulose, that is, through an alkaline medium and the contribution of electrical energy through a double electrical layer, which allowed this to be achieved. In this treatment, a platinum electrode was used at 400 mA. The yield was around 17% lactulose, with a cell resistance of 59.7 Ω , and an energy consumption of 4.77 W/h during the 30 minutes of treatment. Obtaining lactulose from the isomerization of lactose allowed this electro-activated whey to be considered as a possible ingredient in the production of a low-fat ice cream with 3% fat complemented with 7% lactulose. The developed ice cream was sensorially acceptable by 50 untrained panelists who gave it equal ratings to a control ice cream (8% fat, 6% lactulose). From this sensory evaluation, it was concluded that lactulose in low-fat ice cream can decrease its hardness, increase the percentage of aeration, as well as increase the time it can remain without melting; However, these parameters not only depended on lactulose itself, but also on ingredients such as fat, allowing interactions to be generated that promoted and/or increased these properties. Finally, a sensory shelf life study was carried out with a reverse design, where the ice cream was evaluated for 45 days both in pH, acidity and sensorially; The sensory acceptability of the ice cream was maintained for up to 45 days, as well as its pH and acidity. Whey treatment for the sustainable obtaining of functional ingredients should be promoted as it allows products, such as ice cream, to be reformulated with a better nutritional balance.

Key words: ice cream, prebiotic, lactulose, electro-activation, sweet whey, sensorial, shelf life, dairy products

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	2
ÍNDICE GENERAL	3
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
1 INTRODUCCIÓN.	1
2 ANTECEDENTES	3
2.1 Composición del permeado de suero dulce.....	3
2.1.1 Proteínas del permeado de suero dulce de leche de bovino.....	4
2.1.2 Contenido de grasa en el permeado de suero dulce de leche.....	5
2.1.3 Carbohidratos en el permeado de suero dulce de leche	5
2.2 Lactulosa	6
2.2.1 Lactulosa como ingrediente tecno-funcional en alimentos.	7
2.2.2 Mecanismo de acción de lactulosa.....	7
2.2.3 Métodos de obtención de lactulosa	11
2.2.3.1 Síntesis química para la obtención de lactulosa	12
2.2.3.2 Síntesis enzimática de lactulosa	13
2.2.3.3 Síntesis de lactulosa por electro-activación	13
2.3 Alimentos funcionales.....	17

2.3.1	Alimentos lácteos funcionales	17
2.3.2	Productos lácteos con prebióticos	20
2.3.2.1	Aspectos tecnológicos de los productos lácteos con prebióticos.	22
2.4	Helados.....	23
2.4.1	Estructura del helado	24
2.4.2	Ingredientes del helado	27
2.4.2.1	Grasa	27
2.4.2.2	Sustitutos de grasa	27
2.4.2.3	Sólidos no grasos.	27
2.4.2.4	Endulzantes	28
2.4.2.5	Estabilizadores.....	28
2.4.3	Composición y valor nutritivo de los helados.....	29
2.4.3.1	Helados bajos en calorías.....	29
3	JUSTIFICACIÓN.....	30
4	Objetivos.....	32
4.1	Objetivo general.....	32
4.2	Objetivos específicos	32
4.2.1	Obtener lactulosa por la técnica de electro-activación <i>in situ</i> sobre lactosa de permeado de suero dulce.....	32

4.2.2	Elaborar una formulación de helado bajo en grasa por la incorporación de lactulosa	32
4.2.3	Caracterizar fisicoquímicamente el helado formulado	32
4.2.4	Evaluar la vida de anaquel sensorial del helado desarrollado	32
5	MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	33
5.1	Materiales	33
5.2	Metodología	33
5.2.1	Obtención de la muestra de permeado de suero dulce de leche de bovino. 33	
5.2.2	Proceso de electro-activación <i>in situ</i> del suero lácteo	33
5.2.3	Determinación de perfil de carbohidratos mediante HPLC.....	34
5.2.4	Determinación de resistencia y consumo de energía.....	35
5.2.5	Formulación del helado	35
5.2.6	Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico.....	37
5.2.7	Determinación de proteína por el método de titulación con formaldehído	37
5.2.8	Determinación de grasa por el método Gerber.....	38
5.2.9	Determinación de pH.....	38
5.2.10	Determinación de acidez titulable.	38
5.2.11	Resistencia al derretimiento.....	38

5.2.12	Determinación de aireado.....	39
5.2.13	Determinación de dureza del helado	39
5.2.13	Microbiología del helado	40
5.2.14	Evaluación sensorial.....	41
5.2.15	Evaluación de vida de anaquel sensorial	41
5.2.16	Diseño experimental y análisis estadístico.....	42
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
6.1.	Caracterización del suero lácteo dulce.....	43
6.2.	Proceso de electro-activación <i>in situ</i> del permeado de suero lácteo	44
6.3.	Determinación de carbohidratos mediante HPLC.....	49
6.4	Determinación de resistencia y consumo de energía de la celda	54
6.5.	Formulación del helado.....	56
6.6.	Evaluación sensorial del helado	57
6.7.	Análisis proximales de los helados.....	62
6.8.	Análisis microbiológicos del helado	64
6.9	Análisis tecno-funcionales del helado.....	65
6.9.1	Análisis de aireado.....	66
6.9.2	Análisis de resistencia al derretimiento	67
6.9.3	Análisis de dureza del helado.....	68

6.10	Análisis de vida de anaquel sensorial.....	70
7	CONCLUSIONES	75
8	REFERENCIAS.....	76
9	ANEXOS	86
9.1	Infografía para reclutamiento de consumidores de helado	86
9.2	Carta de consentimiento informado	87
	87
9.3	Hoja de evaluación sensorial.	90
	90
9.4	Formato de revocación de consentimiento	91
	91

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No.	Pág.
1. Composición del permeado de suero dulce	4
2. Tipos de alimentos comúnmente incorporados en la formulación de alimentos lácteos funcionales	20
3. Especificaciones fisicoquímicas del helado.....	25
4. Formulación de helados.....	36
5. Datos de la caracterización del permeado de suero lácteo dulce	43
6. Concentración de carbohidratos en muestras de suero electro-activado.....	53
7. Composición proximal de las formulaciones de helados elaboradas.	63
8. Resultados de los análisis microbiológicos de los helados.	65
9. Valores de porcentaje de aireado del helado	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.	Pág
1. Estructura de la lactosa (adaptado de Szilagyi, 2019).	6
2. Estructura y formación de lactulosa a partir de isomerización de lactosa (adaptado de Karahan et al., 2021).....	9
3. Mecanismo de acción de la lactulosa. (adaptado de Karahan et al., 2021.....	10
4. Efectos dependientes de la dosis de lactulosa (adaptado de Karahan et al., 2021).....	11
5. Representación esquemática del reactor de electroactivación con tres compartimentos para isomerizar la lactosa a lactulosa: CEM: membrana de intercambio catiónico; AEM: membrana de intercambio aniónico; CD: corriente directa; ORP potencial de ox-red (adaptado de Ahasanul & Mohammed, 2021).	15
6. Principales actores y factores implicados en el desarrollo de alimentos lácteos funcionales (adaptado de Martins et al., 2019)	19
7. Componentes prebióticos de acuerdo al nivel de evidencia de efectos a la salud: FOS (fructo-oligosacáridos), GOS (galacto-oligosacáridos), XOS (xilo-oligosacáridos), IMO (isomalto-oligosacáridos), RFO (rafinosa). Tomado de Rosa et al.,2021	22
8. Principales efectos tecnológicos por la adición de prebióticos en productos lácteos (adaptado de Rosa et al; 2021).	23
9. Estructura esquemática de helado y la mezcla de helado (adaptado de Goff, 2018).....	26

10. Celda de electro-activación in situ del permeado de suero dulce	45
11. Comportamiento de pH en función del tiempo de los tratamientos de 200, 300 y 400 mA.....	48
12. Cromatogramas de las soluciones estándar de: a) lactosa, b) lactulosa y c) galactosa	50
13. Cromatogramas donde se observa la lactulosa al tiempo de 30 minutos para los tratamientos: a) 400 mA, b) 300 mA, c) 200 mA	52
14. Comportamiento de lactosa y lactulosa durante el tratamiento a 400 mA.....	53
15 Diagrama de cajas para la resistencia de las celdas en los tratamientos a 200, 300 y 400 mA a los 30 minutos de tratamiento	55
16. Consumo de energía de las celdas en los tratamientos 200, 300 y 400 mA a los 30 minutos de tratamiento	56
17. Características a evaluar sensorialmente: A) color, B) olor, C) textura y D) sabor. Diferentes letras en los diagramas de cajas indican una diferencia.	59
18. Evaluación sensorial del gusto del helado	61
19. Análisis microbiológicos: a) NCL, b) NSL, c) RCL, d) RSL, e) BCL, f) BSL; primera fila: mesófilos aerobios, segunda fila: coliformes totales; tercera fila: mohos y levaduras.....	64
20. Porcentaje de resistencia al derretimiento de los helados.	68
21. Dureza de helados formulados.	69
22. Gráficas de pH y acidez durante 6 semanas del helado en congelación a 18°C.	71

23. Gráficos de la evaluación sensorial de vida de anaquel: A) olor, B) color, C) sabor y D) textura.....	72
24. Diagrama de cajas de la vida de anaquel sensorial del helado bajo en grasa con lactulosa, evaluando de forma general el helado	73

1 INTRODUCCIÓN.

En México, la industria de helados tiene un valor que supera los 900 millones de dólares anuales; cada persona consume al año 2 litros de helado, pudiéndose incrementar hasta un 48% en temporadas de primavera y verano. Aunque es un sector consolidado con la adaptación de nuevas tendencias, los últimos años han sido cruciales para su mercado; por ello, uno de los retos a los que se han enfrentado las compañías, es la concientización en sectores como el ambiental y el de salud, haciendo esto necesaria una búsqueda de formulaciones de helados más sanos (García-Villafuerte, 2020). El helado es un producto lácteo hecho por el congelamiento de la mezcla de crema con agitación. Se compone de una mezcla de ingredientes como productos lácteos, materiales edulcorantes, estabilizadores, colores, sabores y productos de huevo. (Deosarkar, *et al.*, 2016). Proporciona una ventaja por sobre otros postres lácteos en el mercado, porque tiene un alto valor nutricional, su composición puede cambiarse fácilmente y es un alimento consumido por personas de todas las edades. Por otra parte, en general las tendencias actuales hacen preferibles productos que aporten más que sólo nutrientes al consumidor, siendo los helados funcionales una excelente alternativa (Arslaner, 2020).

Desde la sustentabilidad del sistema alimentario, el suero de leche es un subproducto poco aprovechado, a pesar de que induce que fomenta un problema ambiental al desecharse, por la gran cantidad de materia orgánica que contiene, como lactosa, en alrededor de 40 a 60% (Osorio- Gozález *et al.*, 2018); Dentro de la industria de helados y de postres congelados, este ingrediente ha sido usado exitosamente. Entre los derivados del suero más empleados se encuentran el suero dulce, el concentrado y el aislado de proteína de suero (Young, 2007).

El permeado de suero y los productos de suero pueden ofrecer importantes beneficios, tales como la rentabilidad para evitar y reducir costos, mejoramiento de la calidad de otros productos, valor nutricional superior y otros beneficios nutricionales, como la reducción del índice glucémico (Young, 2007).

Otra de las aplicaciones del permeado de suero es la utilización de la lactosa; este disacárido puede actuar desde un punto de vista nutraceútico (Zandona *et al.*, 2021), una vez isomerizada. Una forma de isomerizar a la lactosa es mediante la electro-activación, proceso que se basa en una autogeneración de las condiciones alcalinas necesarias después de la reacción redox en la interfase solución/cátodo por la aplicación de corriente eléctrica.

Se considera una tecnología innovadora que puede verse como una técnica ecológica sin el empleo de reactivos (Aissa & Aïder, 2013; Kareb *et a.*, 2016), siendo un proceso prometedor para la producción útil de lactulosa sin reactivos químicos. La lactulosa es un disacárido (compuesto por galactosa y fructosa), del que se ha reportado que muestra propiedades prebióticas tanto en adultos como en infantes (Ruszkowski *et al.*, 2019).

Un prebiótico es un ingrediente alimentario no digerible, que beneficia al huésped estimulando el crecimiento y/o la actividad de bacterias en el colon y por lo tanto mejorando la salud del huésped. (Davani-Davari *et al.*, 2019). En México, Crawford (2018) mencionó que el 79% de los consumidores piensan que la salud digestiva juega un rol muy importante en la salud física, el 65% piensa que es extremadamente importante en los niveles de energía y el 67% piensa que también influye en el humor, sin mencionar que también se consideró beneficioso en el control de peso, en la función inmunológica, así como la apariencia física.

De ahí la importancia del consumo de prebióticos a partir de la adición como ingrediente en alimentos usualmente consumidos, proporcionando no sólo nutrición sino también favoreciendo un buen estado de salud (Crawford, 2018).

Por lo antes mencionado, para este proyecto se propone el aprovechamiento del suero mediante la aplicación de la electro-activación para la obtención de lactulosa a partir de lactosa y posterior uso en la formulación de un helado con propiedades prebióticas.

2 ANTECEDENTES

2.1 Composición del permeado de suero dulce.

El suero es un sub-producto obtenido a partir de la elaboración de queso (Paterson, 2017). En México, este sub-producto no es aprovechado, sino que más bien, es considerado un problema ambiental, produciéndose alrededor de 1.2 millones de toneladas al año (Osorio-González *et al.*, 2018) ya que, para producir 1 kg de queso, se necesitan 10 litros de leche, de los cuales, quedan alrededor de 9 litros en suero (Durham & Houriga, 2007).

Debido al contenido nutricional de este sub-producto y a las características tecnológicas que pueden aportar, tales como los lípidos, minerales, proteínas y lactosa, se ha promovido su valorización, buscándose técnicas que permitan su obtención (Tsermoula *et al.*; 2021). Usualmente una de las técnicas empleadas es la ultrafiltración, la cual permite el aislamiento de la proteína del suero en el flujo retenido (Paterson, 2017). Mientras que el concentrado de proteína puede ser empleado en productos alimenticios, el permeado aún no ha tenido un gran impacto para un posible uso. Para poder incrementar el valor económico de este sub-producto, se pueden identificar componentes que puedan tener un posible uso, tal es el caso de la lactosa y los oligosacáridos, que pueden ser extraídos del sistema (Albayrak & Yang, 2002).

El permeado de suero puede tener la composición típica que muestran en la Tabla 1, en donde la lactosa se encuentra con respecto a los sólidos totales entre un 76-86%, siendo el mayoritario, de 2% – 7% de proteína, de un 8% - 11% de cenizas y hasta un 1% de grasa (O'Donoghue & Murphy, 2023).

Tabla 1. Composición del permeado de suero dulce

Parámetro	Contenido %
Sólidos totales	5.5
Cenizas	0.51
Proteína	0.05
Grasa	<0.01
Lactosa	4.7
Nitrógeno no proteico	0.003
Nitrógeno total	0.008

Adaptado de O'Donoghue & Murphy, 2023.

Por los nutrientes contenidos en el permeado es que se puede aplicar en la industria de alimentos, tales como en el área de panadería ó en la industria farmacéutica. Sin embargo; las aplicaciones hechas a este subproducto no han sido las suficientes para poder procesar todo el permeado, ya que, sigue utilizándose el remanente en la alimentación de animales de ganadería (O'Donoghue & Murphy, 2023).

2.1.1 Proteínas del permeado de suero dulce de leche de bovino.

Las proteínas del permeado de suero son las mismas que se encuentran en el suero lácteo, sólo que, en una menor cantidad por ser extraídas en su gran mayoría por el proceso de ultrafiltración (Belhamidi *et al.*, 2014). Se consideran valiosas, por su alta calidad en aminoácidos indispensables altamente digestibles (Tsermoula *et al.*, 2021).

El permeado de suero comprende un grupo heterogéneo de proteínas que permanecen en el sobrenadante después de la precipitación de las caseínas; se caracterizan por polimorfismos genéticos que generalmente se traducen en el reemplazo de uno o más residuos de aminoácidos en su secuencia peptídica original. La β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina son las proteínas mayoritarias en el suero; éstas tienen una estructura globular compactada que favorece su solubilidad, a diferencia de las caseínas que se encuentran en suspensión micelar con una

distribución relativamente uniforme de grupos no polares, polares y cargados (Tavares & Malcata, 2013).

2.1.2 Contenido de grasa en el permeado de suero dulce de leche.

El suero dulce fresco contiene un pequeño porcentaje de grasa ($\sim 0.05\%$), el cual está compuesto por 66% de lípidos no polares y un 33% de lípidos polares; estos mismos componentes del suero también se encuentran presentes en el permeado de suero (Csanádi *et al.*, 2016). La fracción no polar, mayoritariamente contiene triglicéridos y diacilglicéridos, mientras que la fracción polar mayoritariamente está constituida por fosfolípidos con 38.5%, fosfatidiletanolamina $\sim 14\%$ fosfatidilcolina, $\sim 32.6\%$ esfingomielinas, $\sim 5.2\%$ fosfatidilinositol y fosfatidilserina con $\sim 9.6\%$. Los fosfolípidos son moléculas anfipáticas originarias de la membrana del glóbulo de grasa de la leche, son lípidos polares que facilitan la emulsificación grasa en pequeñas gotas y contribuyen a una rápida digestión (Tsermoula *et al.*, 2021).

2.1.3 Carbohidratos en el permeado de suero dulce de leche.

El disacárido lactosa es un reductor que está compuesto de galactosa y glucosa, representa el carbohidrato primario en la leche de los mamíferos. Está compuesta por dos aldohexosas, químicamente clasificadas como O- β -D-galactopiranosil-(1-4)- β -glucosa, como se muestra en la Figura 2.

En la industria alimentaria la lactosa se usa para mejorar la calidad del sabor y la coloración. Se considera que tiene un potencial cariogénico debido a su fermentabilidad, sin embargo; se considera el de menor potencial de entre todos los azúcares fermentables (Szilagyi, 2019).

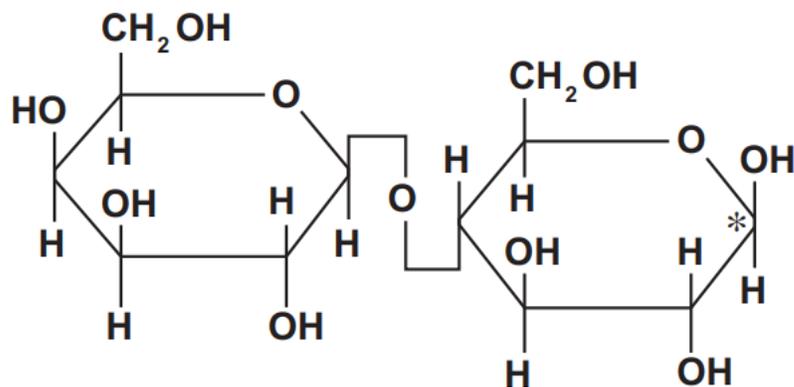


Figura 1. Estructura de la lactosa (adaptado de Szilagyi, 2019).

Es el mayor constituyente de azúcar en suero, una vez que se hace el proceso de ultrafiltración se mantiene por encima de un 70% en el permeado (Belhamidi *et al.*, 2014). Tiene un alto valor nutricional al promover la absorción de calcio, magnesio y fósforo en los intestinos y la utilización de la vitamina C. Cerca de 50 oligosacáridos han sido identificados en el suero desproteinizado, éstos se presentan como carbohidratos comprimidos en unidades de 3 a 10 monosacáridos (Tsermoula *et al.*, 2021).

2.2 Lactulosa.

La lactulosa con estructura química de 4-O- β -D-galactopiranosil-D-fructofuranosa, como se muestra en la Figura 3, es conocido como un producto isomerizado a partir de la lactosa, es sintético y no digerible que se forma al comprimir dos estructuras moleculares de fructosa y galactosa. Tiene una fórmula empírica $C_{12}H_{22}O_{11}$ y un peso molecular de 342.30 g/mol (Nooshkam *et al.*, 2018).

Muestra un alto dulzor y solubilidad en alcohol comparado con la lactosa y su alta estabilidad bajo condiciones térmicas y ácidas lo hacen un excelente prebiótico en alimentos ácidos, especialmente en jugos de fruta (Nooshkam *et al.*, 2018).

En 1957 se descubrió el efecto *bifidus* de la lactulosa, el cual muestra aplicaciones muy versátiles en la industria de alimentos y de medicina. Se usa en muchos alimentos como agente bifidogénico ó aditivo funcional con característica para

sintonizar las funciones intestinales. Se le considera como prebiótico (Nooshkam *et al.*, 2018).

La sacarosa es un disacárido usado como agente endulzante en productos de confitería. La lactulosa tiene muchas propiedades como: el sabor (dulzor de entre 0.6-0.8). color (oscurecimiento), texturizante, estabilizante, alta solubilidad, viscosidad cercana a la solución de sacarosa y 2.0 kcal/g de energía; puede incrementar el contenido de humedad en un 10% al reemplazar sacarosa y glucosa y permite la disminución de la viscosidad efectiva en geles de pectina a base de los azúcares antes mencionados (Nooshkam *et al.*, 2018).

2.2.1 Lactulosa como ingrediente tecno-funcional en alimentos.

La lactulosa tiene muchas propiedades como el mejoramiento del sabor y del color (oscurecimiento), texturizante y como estabilizante; una alta solubilidad de agua, viscosidad cercana a la de la sacarosa, pueden permitir el reemplazo de azúcar por este compuesto. Los estudios reológicos sobre geles de pectina basados en puré de manzana y varios azúcares como glucosa, fructosa, sacarosa y lactulosa han mostrado que el reemplazo del 10% de sacarosa ó glucosa con lactulosa, incrementa el contenido de humedad y desciende la viscosidad efectiva en geles de pectina (Nooksham *et al.*, 2018).

La adición de lactulosa también podría mejorar algunas propiedades tecnológicas, como el color y la capacidad emulsionante. Los productos cárnicos reestructurados, como el jamón, a menudo se consideran productos menos saludables debido a su contenido en grasas, aditivos y especias. En este sentido, la adición de prebióticos a estos alimentos puede aportar beneficios para la salud relacionados con las bacterias del ácido láctico y contribuir a aumentar el consumo de estos productos (Erkkila *et al.*, 1999)

2.2.2 Mecanismo de acción de lactulosa.

Los efectos del tratamiento de lactulosa dependen de la dosis, de su efecto en el intestino y la formación de metabolitos favorables, alterando de la microbiota

colónica, como se muestra en la Figura 4. Dependiendo de la dosis usada, la lactulosa puede actuar como prebiótico, laxante ó agente detoxificante (Figura 5). Dosis bajas de alrededor de 10 g/día en adultos, producen el efecto prebiótico y el mejoramiento en la absorción de calcio y magnesio; dosis de alrededor de 20-40 g/día fomentan un efecto laxante y dosis altas de más de 60 g/día, tienen un efecto detoxificante. El intestino delgado, carece de la enzima necesaria para separar la lactulosa, por lo tanto, logra llegar intacto al intestino grueso. Una vez en el intestino grueso, es selectivamente metabolizado por los residentes de la microbiota colónica produciendo ácidos grasos de cadena corta (AGCC), gas intestinal, así como también se incrementa la masa bacteriana.

La proporción de AGCC se determinará por la composición de la microbiota del hospedador, así como el tipo y cantidad de sustrato fermentable, pH de los intestinos, y factores que influyan en la absorción de los AGCC (Karahan *et al.*, 2021).

Acetato, propionato y butirato representan la mayor parte de AGCC encontrados en el colon, de los cuales el acetato es mayoritariamente producido por la lactulosa. Ni *Bifidobacterias* ni *Lactobacillus* producen directamente butirato por acción de fermentación de la lactulosa; se presenta un proceso de alimentación cruzada en donde la microbiota del intestino genera butirato, mientras que *Bifidobacterias* y *Lactobacillus* producen acetato y lactato, los cuales son convertidos a butirato por otros miembros de la microbiota del intestino (Karahan *et al.*, 2021).

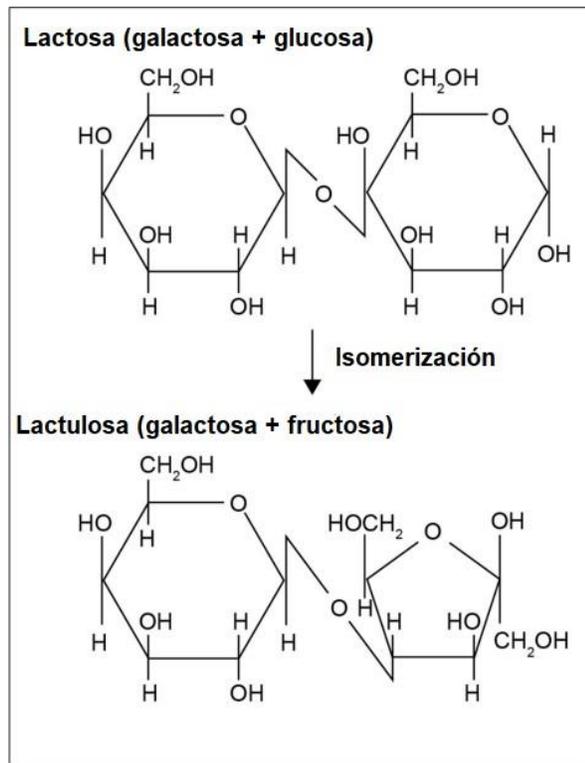


Figura 2. Estructura y formación de lactulosa a partir de isomerización de lactosa (adaptado de Karahan *et al.*, 2021).

Estos AGCC son rápidamente absorbidos por el epitelio colónico donde actúan como sustratos para la respiración y representan el mayor flujo de carbono de la dieta a través del microbioma del hospedador. El butirato es la fuente preferida de energía de los colonocitos (Karahan *et al.*, 2021).

Más allá de ser combustible para los colonocitos, los AGCC tienen diversos roles en la salud del hospedero, incluyendo: la regulación de las células del sistema inmunitario, energía de almacenamiento del metabolismo y barrera del intestino (Karahan *et al.*, 2021).

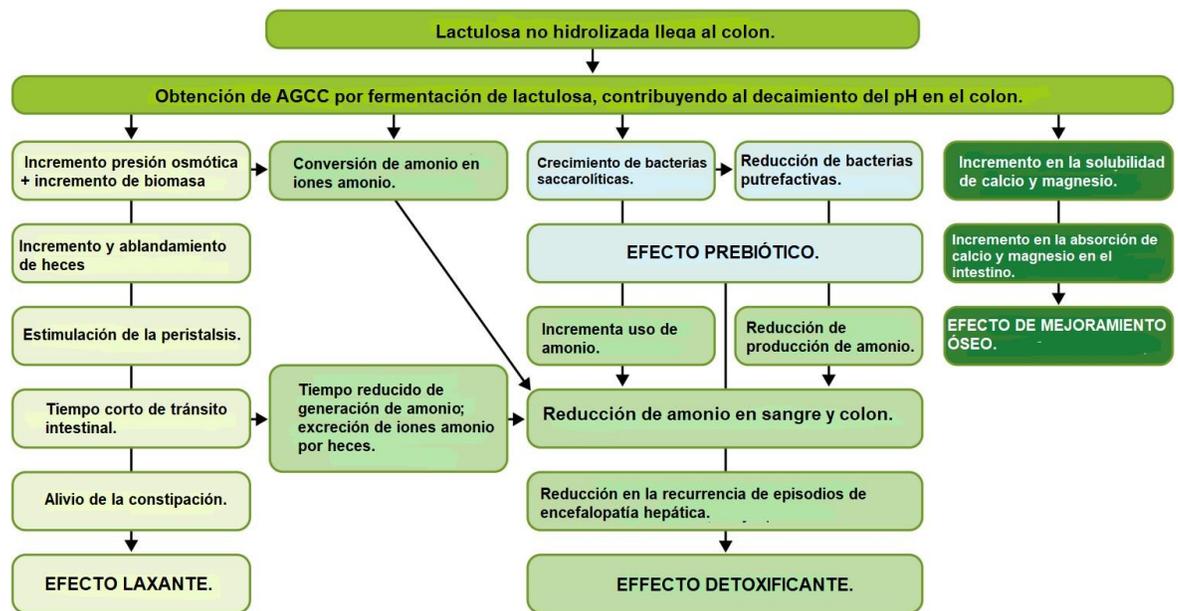


Figura 3. Mecanismo de acción de la lactulosa. Los receptores de los AGCC incluyen la proteína acoplada a receptores (GPCRs), tales como GPR43, GPR41, GPR109 Y OLF78 (Karahana *et al.*, 2021).

La interacción que se presenta entre los AGCC y los receptores acoplados de proteína G inducen mecanismos que juegan un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis en el intestino y otros órganos. El acetato ha jugado un rol muy importante en la regulación de inflamación, así como de enfermedades metabólicas y prevención de infección entérica. La inflamación es el factor de mayor riesgo en el desarrollo de cáncer en el tracto digestivo y se ha mostrado que los AGCC, actúan suprimiendo el desarrollo de cáncer colorrectal (Karahana *et al.*, 2021).

La producción de ácidos, vía fermentación de lactulosa, resulta en un decaimiento del pH colónico evitando la proliferación de patógenos y por ende manteniendo la homeostasis intestinal y previniendo infecciones. De igual forma, un ambiente ácido favorece el incremento de la solubilidad de minerales como calcio y magnesio (Karahana *et al.*, 2021).



Figura 4. Efectos dependientes de la dosis de lactulosa (adaptado de Karahan *et al.*, 2021).

2.2.3 Métodos de obtención de lactulosa.

La demanda de producción de lactulosa ha incrementado continuamente desde su descubrimiento; tiene aplicaciones en diversos campos como la industria farmacéutica y de alimentos (Ahasanul & Mohammed, 2021).

Desde el punto de vista químico, la lactulosa puede sintetizarse a través de la isomerización en un medio alcalino basado principalmente en el rearrreglo molecular de la lactosa de acuerdo con la transformación Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein (LA); bajo el arreglo LA, la aldosa (glucosa) se epimeriza a una cetosa (fructosa), y la cetosa reacciona con la galactosa para la producción lactulosa en el medio alcalino (Ahasanul & Mohammed, 2021).

El suero como materia prima, puede ser usado directamente como medio para la producción de lactulosa por isomerización *in situ* de la lactosa, lo cual podría ser ventajoso no sólo desde un aspecto nutricional sino también desde un punto de vista económico; es de gran interés la producción del prebiótico a gran escala (Nooshkam *et al.*, 2018).

Los métodos de obtención de lactulosa a través de lactosa pueden ser divididos en tres grandes grupos de métodos como: el químico, la electro-activación y métodos enzimáticos (Nooshkam *et al.*, 2018).

La lactulosa comercial, generalmente es sintetizada a partir de proceso de isomerización química, otro proceso es el uso de enzimas tales como β -galactosidasa a través de una transgalactosilación con lactosa y fructosa como sustrato (Nooshkam *et al.*, 2018).

2.2.3.1 Síntesis química para la obtención de lactulosa.

Usualmente este método se lleva a cabo a partir del rearreglo de LA en un medio alcalino. En este proceso son usados una cantidad substancial de catalizadores tales como hidróxido de sodio, óxido de magnesio, hidróxido de calcio, aluminato de sodio, hidróxido de potasio, carbonatos y aminas terciarias. Los bajos rendimientos, y la formación de bio-productos limitan estos procesos ya que la remoción de los catalizadores al final del proceso, representan un gran reto.

Más allá, se requiere una gran cantidad de catalizadores para lograr un alto rendimiento, lo cual no es económicamente viable, ya que esto lleva a procesos extensos de separación y purificación que subsecuentemente incrementarán el costo de producción. Otra problemática es la formación de subproductos no deseables para la aplicación en alimentos, fármacos e insumos médicos (Ahasanul & Mohammed, 2021).

Existen otros tipos de catalizadores heterogéneos tales como polvo de cáscara de huevo, polvo de ostra, zeolitas, los cuales pueden ser removidos por centrifugación, sin embargo; tienden a ser procesos con muy bajos rendimientos. También se

podría incrementar el rendimiento por el uso de boratos y aluminatos, pero estos reactivos no son de grado alimenticio, lo cual impide su uso con estos fines (Ahasanul & Mohammed, 2021).

2.2.3.2 Síntesis enzimática de lactulosa.

Se produce vía trans-galactosilación de lactosa usando fructosa como aceptor galactosilo y β -galactosidasa como biocatalizador. Se presentan dos clases de enzimas adecuadas como las glicosiltransferasas y glicosidasas las cuales son capaces de catalizar la síntesis de lactulosa; las glicosidasas son generalmente empleadas porque son relativamente baratas y ampliamente empleadas en la industria alimentaria; se pueden adquirir por diversas fuentes como: plantas, animales, microorganismos y pueden variar basadas en su origen. Para este proceso, la probabilidad de emplear suero ó permeado de suero como fuente de alimentación es relativamente mayor a diferencia del proceso químico. (Ahasanul & Mohammed, 2021).

Mediante este proceso enzimático se reduce la posibilidad de formación de subproductos y subsecuentemente, simplifica los pasos de separación y provee alta pureza al producto final. Sin embargo; aún se presentan retos como la carencia de selectividad en la reacción y los bajos rendimientos dependiendo de la fuente de la enzima catalítica. Se presentan rendimientos de entre 5-15%, sin mencionar que se necesita de un co-sustrato dulce como la fructosa, como aceptor de la galactosa, el cual implica un mayor costo (Ahasanul & Mohammed, 2021).

2.2.3.3 Síntesis de lactulosa por electro-activación.

Siendo el suero uno de los grandes problemas para el ambiente, se ha requerido el desarrollo de procesos más sustentables y amigables con el ambiente.

La electro-activación (EA), es una tecnología atractiva para la síntesis de lactulosa a través de la isomerización de lactosa pura o *in situ* (la isomerización de lactosa a lactulosa ocurre en el mismo suero al aplicar corriente eléctrica), en suero o su

permeado. Se considera como un proceso limpio, sano, amigable con el ambiente, así como ahorrador de energía (Ahasanul & Mohammed, 2021).

Esta técnica se basa en la electrólisis de soluciones acuosas para hacerla altamente reactivas al producir gran cantidad de iones hidroxilo o iones hidronio; lo cual permite la efectividad en varias reacciones fisicoquímicas y biológicas. La isomerización se lleva a cabo mediante condiciones autocatalíticas por la creación de una condición alcalina vía electrólisis del agua. Se reporta que mediante esta síntesis se sigue la transformación LA, en la cual se necesitan protones aceptores que se pueden obtener por los iones hidroxilos, éstos son producidos en un medio altamente alcalino por una electrólisis rigurosa del agua, en una interfase de solución catódica bajo el efecto de un campo eléctrico externo (Ahasanul & Mohammed, 2021).

El principio básico de la EA es que las reacciones de óxido-reducción, toman lugar en los lugares del ánodo y cátodo del reactor de EA, mientras una fuente externa de campo eléctrico es aplicada; los intercambios ocurridos en el reactor llevan rápidamente a un cambio en el pH de la solución, en donde el proceso de acidificación sucede en el compartimento del ánodo y el proceso de basificación ocurre en el compartimento del cátodo, como se muestra en la Figura 6. Sin embargo; la solución de EA, el pH y el potencial de óxido-reducción pueden ser controlados por membranas de intercambio iónico apropiadas (Ahasanul & Mohammed, 2021).

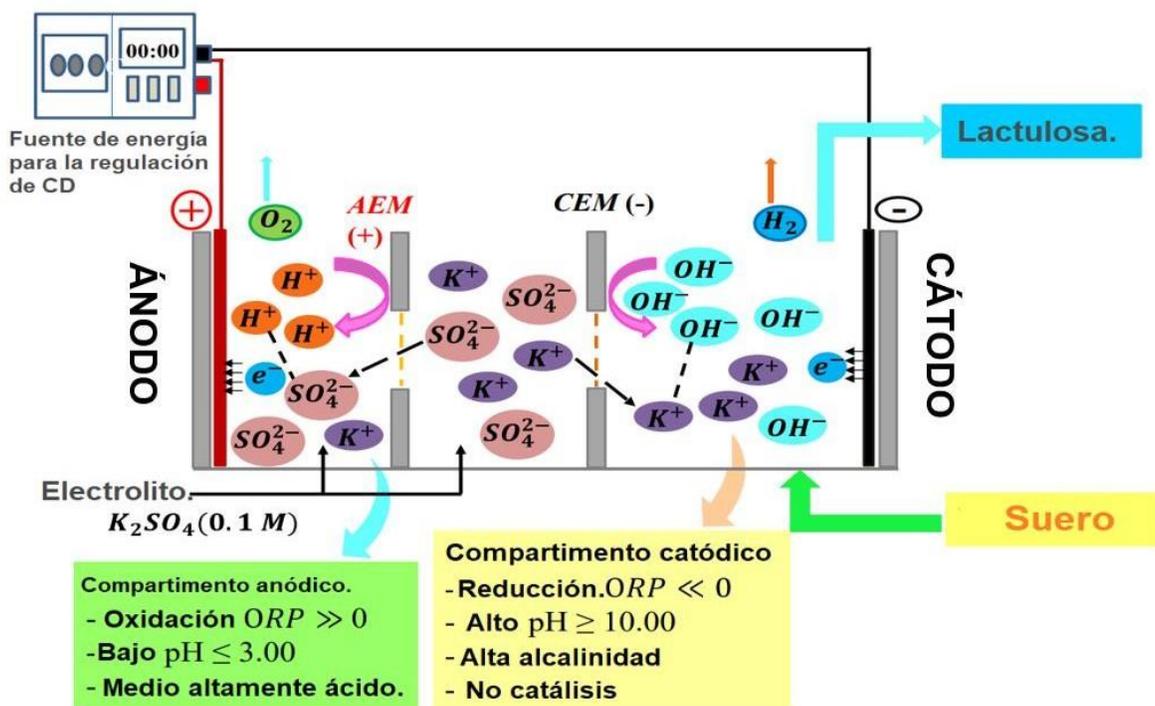
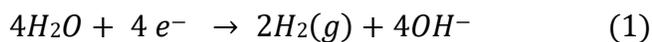


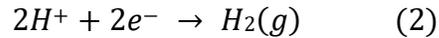
Figura 5. Representación esquemática del reactor de electroactivación con tres compartimentos para isomerizar la lactosa a lactulosa: CEM: membrana de intercambio catiónico; AEM: membrana de intercambio aniónico; CD: corriente directa; ORP potencial de ox-red (adaptado de Ahasanul & Mohammed, 2021).

Generalmente las especies cargadas migran hacia el electrodo de carga reversa si una solución acuosa es expuesta a un campo eléctrico externo. Inmediatamente ocurren dos fenómenos: la oxidación y la reducción. En primer lugar, ocurre una reducción en el cátodo (electrodo cargado negativamente), los electrones se donan desde el cátodo hacia los iones cargados positivamente, tales como los cationes de hidrógeno para crear hidrógeno gas. Las reacciones que ocurren son las que se muestran en las ecuaciones (1-3):

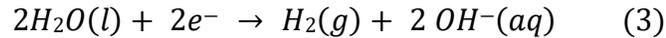
Electrólisis del agua:



Reacción de reducción:

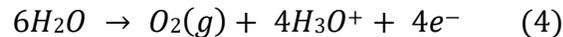


Reacción de reducción:

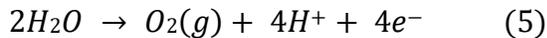


En segundo lugar, se lleva a cabo una reacción de oxidación en el ánodo (electrodo cargado positivamente) y se transfieren electrones libres hacia éste. El oxígeno con carga negativa migra al ánodo, y produce oxígeno gaseoso mediante la transmisión de electrones al ánodo para conseguir las siguientes reacciones anódicas (Ahasanul & Mohammed, 2021), que se muestran en las ecuaciones (4-6)

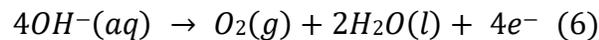
Electrólisis de agua:



Reacción de oxidación:



Reacción de oxidación:



El proceso de electro-activación, es una técnica operada bajo temperaturas de 0 a 30°C y la lactulosa obtenida tiene un rendimiento de alrededor de 35% con una pureza de 95% en un corto periodo de tiempo (20 minutos) sin usar ningún catalizador como base. La optimización de diferentes parámetros del proceso incluyendo el tiempo de reacción, la intensidad de la corriente, la concentración de electrolitos y la configuración del reactor garantizan un mejoramiento en el rendimiento de lactulosa de alrededor de 45%.

Como resultado, el paso de purificación puede ser simplificado en función de evadir la formación de bio-productos, resultando en un beneficio económico y ambiental para aplicaciones industriales (Ahasanul & Mohammed, 2021).

2.3 Alimentos funcionales.

Los alimentos funcionales (muchas ocasiones haciendo referencia a alimentos funcionales fisiológicamente, nutraceúticos, alimentos diseñados o farma-alimentos), se pueden definir como aquellos que proveen al consumidor de un beneficio a la salud por sobre el valor básico nutricional (Playne *et al.*, 2003).

El mercado de alimentos funcionales es amplio y ha ido creciendo rápidamente de manera notable en Norteamérica, Europa y Asia (Playne *et al.*, 2003).

La percepción de los consumidores acerca de la importancia real de una dieta y estilo de vida sanos en la prevención de enfermedades, mantenimiento de salud y la promoción de la longevidad han dirigido hacia el desarrollo de estudios biotecnológicos (Martins *et al.*, 2019).

Las industrias de biotecnología y la agroindustria han concentrado su desarrollo en la metodología de procesos específicos para incorporar ciertas moléculas bioactivas en productos lácteos, haciéndoles más saludables y disponibles para conferir ciertos atributos biológicos, con la finalidad de que estos alimentos formen parte en la dieta diaria, tanto de forma natural como modificados, de tal manera que de esta última forma, pueden ser usados e incorporados ó removidos como constituyentes del alimento, mediante procesos tecnológicos o biotecnológicos (Martins *et al.*, 2019).

2.3.1 Alimentos lácteos funcionales.

Los productos lácteos son por mucho el grupo de alimentos comúnmente más seleccionados y probados hacia la incorporación de ingredientes con propósitos funcionales. La leche, crema, yogurt, kefir, leche en polvo, leche condensada, ricotta, mantequilla, caseína, bebidas lácteas fermentadas, fórmulas infantiles, queso y helados, son los productos lácteos más comúnmente considerados como alimentos funcionales. Todos los productos tienen en su composición química ingredientes reconocidos, que proveen aparte de los beneficios nutricionales, un mejoramiento considerable en la salud y el bienestar (Martins *et al.*, 2019).

Numerosos nutrientes como vitaminas, minerales y proteínas abundan en los lácteos. Sin embargo; algunos ingredientes activos se encuentran con menor disponibilidad ó déficit nutricional y necesitan ser adicionados como fortificantes. Por ejemplo, los ácidos grasos, probióticos y prebióticos provenientes de polisacáridos, han sido incorporados con este propósito (Martins *et al.*, 2019).

También se presenta la situación en la cual algunos ingredientes necesitan ser removidos, reducidos o reemplazados por otras sustancias con efectos benéficos; por ejemplo, las fibras como reemplazo para las grasas en helados (Martins *et al.*, 2019).

Las innovaciones en el sector agroindustrial se enfocan mayoritariamente en el mejoramiento de los alimentos actualmente disponibles, tomando en consideración algunos criterios específicos, tales como la calidad, la inocuidad, e incluso distintas características relacionadas con la promoción de efectos conferidos por estas matrices debidas a la bio-actividad (Martins *et al.*, 2019).

Específicamente, en la industria de alimentos se han tenido objetivos innovadores, impresionantes a lo largo del proceso con respecto a la cadena de suministro, siendo los más evidentes aquellos clasificados en 5 distintos sectores: (1) nuevos ingredientes y materiales alimenticios, (2) innovación en alimentos frescos, (3) innovación en calidad alimenticia, (4) nuevas técnicas de procesamiento de alimentos, (5) nuevos métodos de empaque (Martins *et al.*, 2019).

Todos estos aspectos innovadores resultan de la demanda de los consumidores que activan la búsqueda y el desarrollo de productos, técnicas, altamente efectivos en la ciencia y tecnología de los alimentos investigados, así como la estructuración de la industria alimentaria, tal como se muestra en la Figura 7 (Martins *et al.*, 2019).

Dentro de los alcances de la ciencia y tecnología de alimentos, el mercado de productos lácteos ha ganado un nicho de renombre de demanda y reconocimiento por los consumidores, además del incremento en el interés por la investigación e innovación de los procedimientos (Martins *et al.*, 2019).

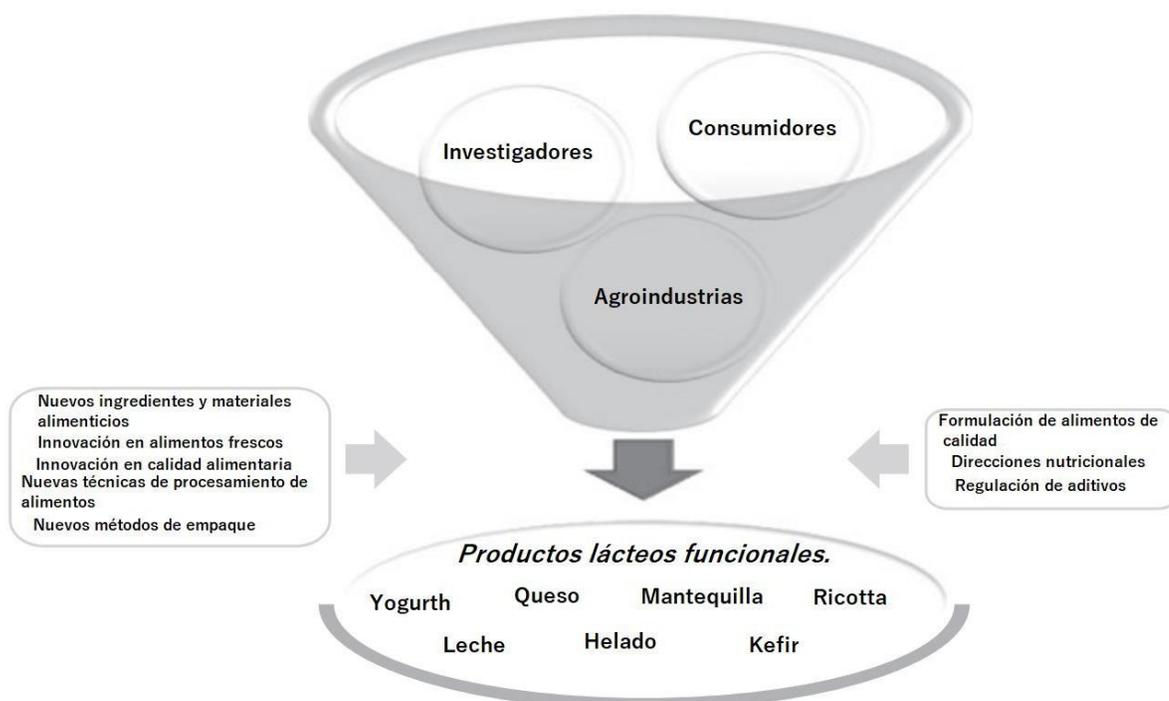


Figura 6. Principales actores y factores implicados en el desarrollo de alimentos lácteos funcionales (adaptado de Martins *et al.*, 2019).

La larga evidencia de productos lácteos con composición nutricional balanceada y enriquecida, puede conferir beneficios a la salud que estimulan el desarrollo de formulaciones novedosas con ingredientes activos. Hasta ahora, los prebióticos, las bacterias probióticas, las vitaminas y minerales, agentes de sabor, plantas, frutas y sus extractos derivados están entre los ingredientes más utilizados en el diseño de formulaciones para alimentos lácteos funcionales, como se muestra en la Tabla 3 (Martins *et al.*, 2019).

Tabla 2. Tipos de alimentos comúnmente incorporados en la formulación de alimentos lácteos funcionales

Tipos de ingredientes	Detalle de los ingredientes	Producto lácteo al que se incorpora
Prebióticos	Proteínas de leche, lactosa, sacarosa, lactulosa, fructo-oligosacáridos, arabinosa, galactosa, inulina, rafinosa, manosa, lactulosa, estaquiosa, isomaltulosa, isomalto-oligosacáridos y oligosacáridos de soya.	Queso, yogurt
Probióticos	<i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Strptococcus</i> y <i>Saccharomyces</i>	Queso, yogurt
Vitaminas y minerales	Calcio, hierro, vitamina C, D, B2, B9 y B12	Leche, queso. yogurt
Agentes de sabor	Polifenoles, flavonoides, carotenoides	Queso, yogurt
Plantas, frutas y sus extractos derivados	Manzanilla, miel, champiñones, nueces, bálsamo de limón, romero, albahaca	Queso, yogurt
Otros	ácido linoleíco, ácido eicosapentenoico,, ácido docosahexanoico, β -caroteno	Leche, yogurt

(Martins *et al.*, 2019)

2.3.2 Productos lácteos con prebióticos.

Las dietas se han convertido en el factor más importante y responsable de alteración en la microbiota intestinal, la cual ayuda a mantener la homeostasis de procesos

fisiológicos y en la prevención de enfermedades. En este sentido, los prebióticos representan una de las sustancias más usadas (Rosa *et al.*, 2021).

Los prebióticos son sustratos que son selectivamente usados por los microorganismos hospederos confiriendo beneficios (Rosa *et al.*, 2021).

A nivel mundial, el mercado global para ingredientes prebióticos fue valuado en 3.4 billones de dólares en 2018 y se espera que para 2024 se extienda a 7.2 billones.

La utilización de componentes prebióticos en los productos lácteos impacta positivamente en las características fisicoquímicas, reológicas y sensoriales; los efectos logrados, dependerán de la matriz alimenticia, el tipo de prebiótico y su concentración (Rosa *et al.*, 2021).

En la Figura 8 se presentan los componentes usados generalmente como prebióticos, los más conocidos con mayor evidencia acerca de sus efectos a la salud son los carbohidratos no digestibles, tal es el caso de los fructanos y los galactanos. Otros prebióticos han sido estudiados por su potencial prebiótico, tal es el caso de oligosacáridos, isomalto-oligosacáridos, polioles, polisacáridos no provenientes de almidón y almidón resistente (Rosa *et al.*, 2021).

La mayoría de los prebióticos se basan en carbohidratos, sin embargo; evidencia reciente apunta a otras sustancias como los compuestos fenólicos, caretenoides y ácidos grasos poliinsaturados. Estos compuestos bioactivos en alimentos funcionales tienen la habilidad de modular el ecosistema intestinal, estimulando el crecimiento de la microbiota, e inhibiendo la colonización de patógenos. (Rosa *et al.*, 2021)

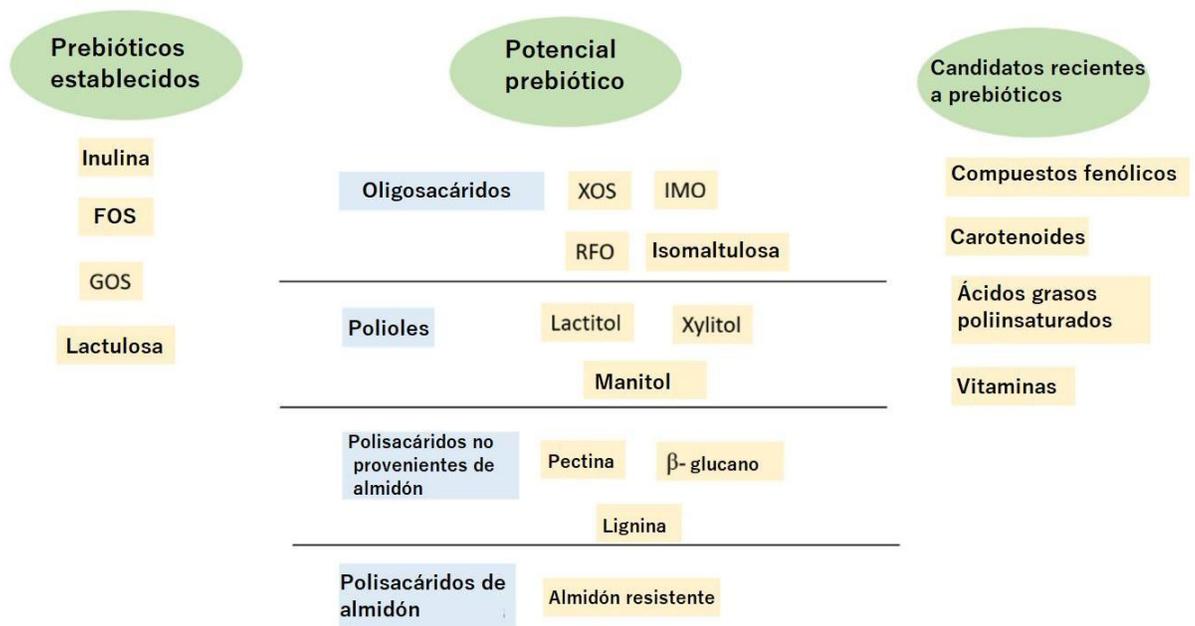


Figura 7. Componentes prebióticos de acuerdo al nivel de evidencia de efectos a la salud: FOS (fructo-oligosacáridos), GOS (galacto-oligosacáridos), XOS (xilo-oligosacáridos), IMO (isomalto-oligosacáridos), RFO (rafinosa). Tomado de Rosa *et al.*, 2021

2.3.2.1 Aspectos tecnológicos de los productos lácteos con prebióticos.

En la Figura 9 se presentan los muchos efectos de la adición de prebióticos a los productos lácteos (Rosa *et al.*, 2021).

Se pueden usar como sustitutos de grasa. En los helados, se pueden mejorar los parámetros de calidad, resultando en la formación de cristales de hielo más pequeños, intensificación de las características como el color blanco, mayor sabor dulce e incremento en los valores de aireado (overrun) (Rosa *et al.*, 2021). El aireado es el cálculo industrial del aire agregado a los postres congelados y se calcula como el porcentaje de aumento en el volumen de mezcla que ocurre como resultado de la adición de aire (Goff, 2018).

Para helados evaluados con inulina y FOS, se presentan propiedades reológicas (dureza, viscoelasticidad y consistencia), a un producto con la grasa total, también se presenta una percepción de cremosidad y brillantez. Por lo tanto, la selección de

prebióticos debe estar infundada no sólo en los beneficios a la salud esperados, sino que también debe de tomarse en cuenta las propiedades tecnológicas que puede aportar al producto; el efecto de esto dependerá del grado de polimerización del prebiótico. (Rosa *et al*; 2021)



Figura 8. Principales efectos tecnológicos por la adición de prebióticos en productos lácteos (adaptado de Rosa *et al*; 2021).

2.4 Helados.

Los helados se caracterizan por contener sólidos lácteos y ser consumidos congelados, frecuentemente también son aireados. Nuestro significado de helado varía globalmente, debido a las diferentes regulaciones y tradiciones de composición y, por lo tanto, se puede encontrar con muchas variaciones de formulación:

- Helado regular (generalmente definido por niveles mínimos de grasa, que puede ser láctea o no láctea, y también niveles mínimos de sólidos alimenticios o proteína láctea o sólidos lácteos, solos o en combinación).

- Productos de tipo premium con alto contenido de grasa, aunque generalmente también cumplen con las definiciones normales de helado.
- Versiones bajas en grasa o sin grasa o versiones sin azúcar agregada o sin azúcar, que pueden o no cumplir con las definiciones habituales de helado. (Goff & Hartel, 2013)

En México, los helados o nieves son productos pasteurizados elaborados con leche, mantequilla, azúcares, frutas o saborizantes naturales o sintéticos y otros aditivos alimentarios, por su composición, tal como se muestra en la tabla 4, se clasifican de acuerdo a la NOM-036-SSA1-1993, de la siguiente manera:

- a) Helado o nieve de crema (nc).
- b) Helado o nieve de leche (nl).
- c) Sorbete (s).
- d) Helado o nieve de crema vegetal (ncv).
- e) Helado o nieve de grasa vegetal (ngv).
- f) Sorbete de grasa vegetal (sbg).

2.4.1 Estructura del helado

La estructura de la mezcla líquida para helado se puede describir como una emulsión de glóbulos grasos, que son parcialmente cristalinos como resultado de maduración en frío, una dispersión de micelas de caseína, si está presente en la receta, y una solución de azúcares, proteínas solubles, sales, estabilizantes y otros componentes (Figura 10). Los procesos de congelación convierten esta estructura en una compuesta por cristales de hielo, burbujas de aire, glóbulos de grasa, algunos de los cuales se adsorben en las burbujas de aire y algunos de los cuales están parcialmente fusionados en agregados y potencialmente, en una red continua de partículas, y una fase continua descongelada que se concentra por congelación en comparación con la mezcla debido a la eliminación de agua como hielo (Goff, 2018).

Tabla 3. Especificaciones fisicoquímicas del helado

Componentes (porcentaje mínimo)	Nc	NI	s	ncv	ngv	sbg
Grasa de leche	7.0	2.0	1.0	---	---	---
Grasa vegetal	-----	----	---	7.0	2.5	1.0
Sólidos no grasos	7.0	9.0	1.0	7.0	9.0	1.0
Sólidos totales	26.0	25.0	15.0	26.0	25.0	15.0
Proteínas de leche	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Volumen de aire máximo	2.2	2.0	2.0	2.2	2.0	2.0

(NOM-036-SSA1-1993)

La estructura coloidal está compuesta por los glóbulos de grasa y las burbujas de aire. La homogeneización de la grasa crea la distribución original del tamaño de los glóbulos de grasa. Con un contenido de grasa intermedio, 7%–12%, los tamaños de los glóbulos de grasa normalmente, se distribuyen alrededor de una mediana de 0,5 mm, ninguno mayor de 2,0 mm. Este es el resultado de presiones de homogeneización de 18 MPa después de la formación de una pre-emulsión adecuada cuando se utilizan fuentes grasas sólidas (Goff & Hartel, 2013).

Si los niveles de grasa son demasiado bajos, <3%–4%, se produce muy poca estructuración de la grasa y es necesario reemplazar la estructura coloidal con una estructuración acuosa adicional (Goff & Hartel, 2013).

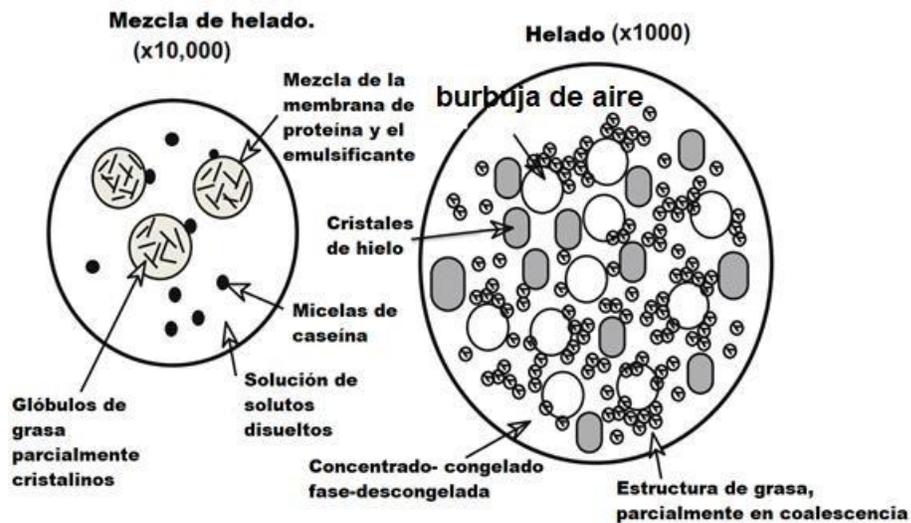


Figura 9 Estructura esquemática de helado y la mezcla de helado (adaptado de Goff, 2018).

La fase acuosa está compuesta por los cristales de hielo y la fase descongelada liofilizada, que contiene los solutos (azúcares, lactosa y sales) y las macromoléculas dispersas (proteínas y estabilizadores). A diferencia de la fase coloidal, que se crea en el tiempo de fabricación y permanece mayormente estable, a partir de entonces, el equilibrio entre el hielo y el agua descongelada dentro de la fase acuosa está en equilibrio termodinámico, definido por la concentración de soluto y la temperatura. Por lo tanto, cambia continuamente después de la fabricación con cambios en la temperatura del producto. Estos cambios en el equilibrio agua:hielo pueden conducir a aumentos rápidos en los cristales de hielo, tamaño y por lo tanto a la pérdida de vida útil. Por lo tanto, la solución de la fase acuosa debe centrarse en la formación de hielo y el tamaño de los cristales de hielo, distribución, concentración de solutos y depresión del punto de congelación, lo que conduce a una suavidad apropiada, y finalmente la minimización de los efectos perjudiciales del choque térmico sobre la calidad y la vida útil (Goff & Hartel, 2013).

2.4.2 Ingredientes del helado.

2.4.2.1 Grasa.

El componente graso incrementa la riqueza del sabor (especialmente la grasa de leche), al igual que es un buen acarreador y sinergista para la adición de compuestos que proveen sabor; puede promover características como textura suave, ayuda a dar cuerpo, así como ayuda a producir propiedades deseables de derretimiento. Sin embargo; el uso excesivo de este ingrediente incluye el aumento del costo, así como un alto valor calórico. Se busca la estabilización de este ingrediente para evitar la coalescencia, aunque una coalescencia parcial es necesaria para asentar la estructura y la textura (Goff & Hartel, 2013).

2.4.2.2 Sustitutos de grasa.

El desarrollo de alternativas de helados de alta calidad, bajos en grasa ha sido un área activa de interés y trabajo por muchos años debido al interés del consumidor. Esto, implica el uso de sustitutos de grasa, los helados que contienen alrededor de 5-6% de grasa pueden ser producidos sin sustitutos, pero aquellos productos con menos del 4%, usualmente requieren ingredientes específicos adicionales escogidos por sus propiedades. Tales compuestos están basados en carbohidratos, proteínas o lípidos y su papel fundamental es el de proveer menos calorías al producto (Goff & Hartel, 2013).

2.4.2.3 Sólidos no grasos.

Los sólidos no grasos (SNG), contribuyen significativamente al sabor y la textura del helado; todas las formulaciones deben incluir una fuente única de SNG que generalmente se encuentra concentrada para alcanzar los niveles suficientes en la mezcla. Las proteínas ayudan a dar cuerpo y una textura suave, a través de la emulsificación de las grasas, formación de espuma y estabilidad de las burbujas de aire, así como el mejoramiento de la viscosidad en la fase sin congelar. El contenido de proteína es de entre 3-4% en la mezcla (Goff & Hartel, 2013).

La lactosa agrega sólidos totales a la formulación, añade dulzor y contribuye al descenso del punto de congelamiento. Se desea un contenido de entre 6-7% en la

mezcla, ya que tiende a cristalizar y se presentan consumidores con problemas de intolerancia a la lactosa (Goff & Hartel, 2013).

Las sales minerales proveen de un ligero sabor salado, que contribuye al sabor salado del producto final. También contribuyen al descenso del punto de congelamiento. La leche descremada en polvo es una fuente excelente y tradicional de SNG, la capacidad de almacenamiento, la disponibilidad, y el bajo contenido de humedad son ventajas importantes. Los sólidos de suero son usados ampliamente en postres en frío, esto se debe a su bajo costo, en Estados Unidos se permite hasta un 25% máximo de sustitución, al igual que en México (Goff & Hartel, 2013).

2.4.2.4 Endulzantes

En la industria de helados, muchos tipos de endulzantes nutritivos son empleados, incluyen: azúcares de caña y remolacha, muchos tipos de edulcorantes de maíz, azúcar de arce, miel, azúcar invertido, fructosa, melaza, jarabe de malta, azúcar morena y lactosa. Su papel es el de incrementar la aceptabilidad del producto. El dulzor deseable es de entre 13-16% de sacarosa en un 36-38% del total de sólidos (Goff & Hartel, 2013).

2.4.2.5 Estabilizadores.

Los estabilizadores de helado son un grupo de ingredientes (generalmente polisacáridos), cuyos propósitos principales son:

- Aumentar la viscosidad de la mezcla.
- Estabilizar la mezcla para evitar que se seque (por ejemplo, carragenina).
- Producen una espuma estable con fácil corte y rigidez en el congelador del barril para embalaje.
- Retardan o reducen el crecimiento de cristales de hielo y lactosa durante el almacenamiento, especialmente durante los períodos de fluctuación de la temperatura, conocidos como choques térmicos.
- Retardan la migración de humedad del producto al envase o al aire.

- Ayudan a prevenir la contracción del volumen del producto durante el almacenamiento.
- Proporcionan uniformidad al producto y resistencia a la fusión.
- Producen suavidad en la textura durante el consumo.

Muchas de estas funciones se atribuyen a la mayor viscosidad de la fase descongelada del helado. Los estabilizadores también deben tener un sabor limpio y neutro, no adherirse al hielo, contribuir a la fusión aceptable del helado y proporcionar textura deseable al consumir (Goff & Hartel, 2013).

2.4.3 Composición y valor nutritivo de los helados.

El valor nutricional de los helados se relaciona con el contenido en leche. El valor calórico medio de los helados oscila entre las 150 kilocalorías de los de leche a las 250 kilocalorías en los helados de crema, se puede considerar un alimento de contenido energético medio, ya que es inferior al considerarlo como valor umbral de 300 kcal/100g para clasificar a los alimentos como altamente energéticos (Rivera, 2014).

Rivera (2014) también señala que la grasa es el macro-nutriente con mayor variabilidad cualitativa y cuantitativa entre los diferentes tipos de helados. Los helados que contienen leche pueden considerarse como una buena alternativa para contribuir al aporte dietético de calcio.

2.4.3.1 Helados bajos en calorías.

Una investigación en Argentina se basó en la formulación de un helado dietético sabor arándano con características prebióticas, se propuso evaluarlo sensorialmente y analizar su composición físico-química. Los resultados obtenidos lo denominaron como: “alimento dietético de valor calórico reducido”; “0% grasas”; “sin agregado de azúcar” y “alto contenido en fibra alimentaria”. Además presentó buenas características nutricionales y sensoriales y composición físico química muy buena: proteína 8,4; hidratos de carbono 10,51; fibra dietética total 12,51 (Barrionuevo *et al.*, 2011).

Otro estudio científico fue el de formular un helado dietético de leche de cabra sabor frutilla, de valor calórico y glucídico reducidos, agregando fitoesteroles y que fuera aceptable para el consumidor. Para ello, se empleó leche de cabra en polvo semidescremada, edulcorantes, aditivos, albúmina en polvo, pulpa de frutilla y ésteres de fitoesteroles. Sus resultados fueron favorables, otorgando un valor calórico por porción de 55,96 cal; se lo denominó como “alimento dietético de valor calórico, glucídico y lipídico reducido”, “bajo en sodio”, “sin sal agregada”, “con fitoesteroles” y “ayudan a reducir el colesterol y protegen el corazón. Además, sus componentes físico-químicos optaron en valores de proteínas 9,3 g%; hidratos de carbono 8,84 g%; grasas 2,3 g% (Figuerola *et al.*, 2013).

3 JUSTIFICACIÓN

Alrededor de un 50% del suero es utilizado en una pequeña parte como método de extracción de componentes, como obtención de otros compuestos a partir de los ya presentes en el suero y en un porcentaje un poco más amplio es empleado de forma deshidratada. El 50% restante no es reutilizado en el sistema alimentario, por lo que buscar alternativas se ha vuelto imperativo (Lavelli & Beccalli, 2022).

El concepto de bioeconomía ha promovido el rediseñar e idear nuevas alternativas en la cadena de suministro de alimentos, proponiendo el manejo de residuos agroindustriales como una solución potencial en un sistema circular en la cadena de alimentos (Lavelli & Beccalli, 2022).

La electro-activación se ha convertido en una tecnología que puede promover la obtención de componentes del suero a partir de los ya presentes en el mismo por la promoción de condiciones necesarias para este cambio promoviendo también la inocuidad del alimento con un menor consumo energético y sin uso de químicos (Aider *et al.*, 2012).

El suero lácteo puede utilizarse como solución en la celda de electro-activación en la que se logran cambios a partir de la intensidad de corriente proporcionada, este suero posterior a su tratamiento (suero electro-activado), puede emplearse como un posible ingrediente en algún alimento de forma deshidratada (Muhammad *et al.*, 2018).

Muchos productos han sido rediseñados pensando en los cambios de estilo de vida de los consumidores, dando como resultado una alta demanda a productos funcionales lácteos, en donde el helado se ha vuelto un producto en investigación y desarrollo importante (Aslaner & Salik, 2020).

Así, el conjunto de reutilización de residuos agroindustriales como el suero, mediante tratamientos con tecnologías sustentables como la electro-activación, para la formulación de un alimento funcional como el helado, hace de este proyecto una oportunidad para la resolución de varias necesidades.

4 Objetivos

4.1 Objetivo general

Elaborar un helado bajo en grasa y con propiedades prebióticas por la presencia de lactulosa, obtenida ésta a partir de la electro-activación *in situ* de lactosa proveniente de suero lácteo.

4.2 Objetivos específicos

4.2.1 Obtener lactulosa por la técnica de electro-activación *in situ* sobre lactosa de permeado de suero dulce

4.2.2 Elaborar una formulación de helado bajo en grasa por la incorporación de lactulosa

4.2.3 Caracterizar fisicoquímicamente el helado formulado.

4.2.4 Evaluar la vida de anaquel sensorial del helado desarrollado

5 MATERIALES Y METODOLOGÍA

5.1 Materiales

Todos los reactivos por emplear en este proyecto fueron de grado analítico.

Se emplearon dos electrodos, uno de platino y un electrodo de acero inoxidable 304 de calidad alimentaria.

Se usaron dos membranas, una de intercambio catiónico y una de intercambio aniónico. La membrana de intercambio aniónico base fuerte, consistió en una estructura polimérica de gel de poliestireno reticulado con divinil benceno, la cual consiste en un grupo funcional de amonio cuaternario y tiene una capacidad total de intercambio de 1.3 meq/g.

La membrana de intercambio catiónico ácido fuerte, consistió en una estructura polimérica de gel de poliestireno reticulado con divinilbenceno, la cual consiste en un grupo funcional de ácido sulfónico y tiene una capacidad de intercambio de 1.6 meq/g.

5.2 Metodología

5.2.1 Obtención de la muestra de permeado de suero dulce de leche de bovino.

Se obtuvo el suero dulce de leche a partir de la cuajada de queso fresco, el cual se proporcionó por el laboratorio de tecnología de productos lácteos de la Facultad de Química de la UAQ. Se congelaron las muestras a -20°C .

Posteriormente el suero lácteo se filtró con papel Whatmann 4 para quitar las caseínas remanentes; después de filtrarse, se sometió al proceso de ultrafiltración en un equipo SEPA CF II Membrane Cell, se emplearon membranas MT-12X12-DRY a 700 bar de presión.

5.2.2 Proceso de electro-activación *in situ* del suero lácteo.

Se adicionaron 50 ml de sulfato de sodio 0.25 M en el compartimento anódico de la celda, en la cual se colocó el electrodo de acero inoxidable 304, y a su vez estuvo conectado al lado positivo del generador de corriente; posteriormente se

adicionaron al compartimento central y al compartimento catódico 50 ml de permeado de suero dulce preparado al 0.25 M de sulfato de sodio y 100 ml de permeado de suero dulce respectivamente; el lado catódico con suero contuvo el electrodo de platino y se conectó al lado negativo del generador de corriente. La membrana de intercambio aniónico se colocó de lado del compartimento del ánodo, mientras que la membrana de intercambio catiónico se colocó en el compartimento del cátodo.

Se aplicó corriente directa y se mantuvo a una intensidad de 200, 300 y 400 mA durante 30 minutos (Djoub & Aider, 2018; Aider & Giménez-Vidal, 2012).

Se tomaron muestras a los tiempos 0, 10, 20 y 30 minutos, durante los cuales se monitoreó el pH y la temperatura del sistema. Las muestras se guardaron en refrigeración para su determinación de carbohidratos, mediante cromatografía de líquidos (HPLC). Se determinaron las concentraciones de lactulosa, lactosa, galactosa, fructosa y glucosa, que, de acuerdo con Djoub & Aider (2018), se presentaron como subproductos de esta reacción.

5.2.3 Determinación de perfil de carbohidratos mediante HPLC.

Para el análisis de los carbohidratos, primero se prepararon las muestras. Se tomaron 100 μ L de suero electro-activado y se aforaron en un matraz de 5 mL con agua grado HPLC. Se ajustaron a pH 7 y se filtraron con membranas de 5 kDa. Se colocaron en viales y se mantuvieron en refrigeración hasta el momento del análisis.

Se empleó un equipo HPLC de la marca Agilent junto con una columna marca Agilent Hi-Plex Ca (Duo), 6.5 * 300 mm, 8 μ m; se hizo un comparativo de los tiempos de retención de las muestras contra las soluciones estándar de lactosa, lactulosa, glucosa, galactosa y fructuosa (de la marca Sigma-Aldrich por el proveedor Merck), por la preparación de las curvas para cada azúcar a concentración de 1, 0.75, 0.50, 0.250 y 0.125% (w/v) (Djoub & Aider, 2018). Los parámetros empleados fueron inyección de 10 μ L, 80°C de temperatura de columna, 50 bar de presión, 0.2 mL/min de la fase la cual fue agua grado HPLC.

5.2.4 Determinación de resistencia y consumo de energía

Con la información obtenida durante el tratamiento aplicado, se empleó la ecuación (7)

$$\text{Resistencia } (\Omega) = \text{voltaje (V)} / \text{intensidad de corriente (A)} \quad (7)$$

Mientras que para el consumo de energía se empleó la ecuación (8) como se muestra:

$$\text{Potencia (W)} = \text{Intensidad de corriente}^2 \text{ (A)} * \text{voltaje (V)} \quad (8)$$

5.2.5 Formulación del helado.

Se prepararon 6 formulaciones de helado con tres concentraciones distintas de grasa (8, 5 y 3% de grasa) y con adición o no de lactulosa, con sus respectivas réplicas, dando un total de 18 L de helado. Se prepararon lotes de 1 L. Se calentó el suero lácteo dulce a 55°C, se adicionó la cantidad de crema batida de acuerdo con la formulación a preparar y se mezcló todo.

Se alcanzó una temperatura de 60°C y se adicionó el conjunto de ingredientes secos (leche en polvo descremada, sólidos de jarabe de maíz, estabilizante, Stevia y lactulosa ó azúcar refinada), se mezcló todo a 10,000 rpm con ultraturrax durante 4 minutos. Se pasteurizó la base de helado a 80°C durante 5 minutos.

Al terminar la pasteurización se enfrió inmediatamente con un baño de hielos y se maduró a 4°C durante 24 horas.

A las 24 horas se sacó la base de helado del refrigerador y se adicionó en concentrado de limón, se procuró la homogenización do todo el producto con ayuda de Ultraturrax a 10,000 rpm durante 3 minutos. (Hashemi *et al.*, 2014). Se colocó la base de helado en la heladera de la marca Moulimex durante 50 minutos. Al terminar de prepararse el helado se colocó en un envase de 1 L de unicel con tapa y se

congeló a -24°C, hasta su uso en el sensorial ó hasta su empleo en los respectivos análisis fisicoquímicos, microbiológicos y tecno-funcionales.

La sustitución por prebióticos de grasas y azúcares en el helado pueden crear productos más saludables (Hashemi *et al.*, 2014) al fungir como sustitutos de grasa por la formación de geles particulares (Arcia *et al.*, 2011), así como por el poder edulcorante que también presenta la lactulosa.

La tabla 4 muestra la formulación de helados elaborados para este proyecto donde se eligieron 3 concentraciones de grasa distintas (8, 5 y 3 % de grasa) con adición de lactulosa en vez de azúcar y 3 formulaciones de helado con concentraciones de grasa distintas (8, 5 y 3%), pero con la adición de azúcar en vez de lactulosa.

Tabla 4. Formulación de helados

Ingrediente/ Formulación	Control con grasa (8%)	Control con grasa (8%)	Reducido en grasa (5%)	Reducido en grasa (5%)	Bajo en grasa (3%)	Bajo en grasa (3%)
Sólidos no grasos de leche (%)	7	7	8	8	8	8
Grasa (%)	8	8	5	5	3	3
Azúcar (%)	6	No aplica	6	No aplica	7	No aplica
Stevia (%)	1	1	1	1	1	1
Lactulosa (%)	No aplica	6	No aplica	6	No aplica	7
Sólidos de jarabe de maíz (%)	4	4	5	5	6	6
Estabilizante (%)	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025

(Young, 2011; Barbosa *et al.*, 2020; Hashemi *et al.*; 2014)

5.2.6 Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico

Se pesaron las cápsulas de aluminio (se hizo el análisis por triplicado) para registrar su peso. Se colocaron en la estufa a $100^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por lo menos dos horas, hasta que se mantuvo constante el peso de cada una de ellas. Para pesar las cápsulas, se colocaron en un desecador hasta enfriar a temperatura ambiente y después se pesaron.

Se pesaron 3 g de helado con una precisión de ± 0.1 mg en la cápsula preparada, se colocó la cápsula en la estufa a $100^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 4 horas, posterior a esto, se colocaron en el desecador las cápsulas donde se enfriaron a temperatura ambiente. Se pesaron con precisión de ± 0.1 mg y se hicieron los cálculos para obtener el valor de humedad a través de la fórmula (Hart, 1991; NOM 116 SSA1 1994), ecuación (9)

$$\text{Humedad \%} = \frac{M2-M3}{M2-M1} * 100 \quad (9)$$

Donde:

M1= Peso de la cápsula vacía (g)

M2= Peso de la cápsula con muestra húmeda (g)

M3= Peso de la cápsula con muestra seca (g)

5.2.7 Determinación de proteína por el método de titulación con formaldehído

Se pesaron 20 g de helado en un matraz de 100 mL a los cuales se adicionaron 0.8 mL de solución saturada de oxalato de potasio. Se mezcló durante 1 minuto. Se tituló con una solución de 0.03N de NaOH hasta un pH de 8.5.

Se adicionaron 4 mL de formaldehído al 40% y se volvió a titular hasta un punto final de pH de 8.5. La cantidad de NaOH empleado para sustituir en la fórmula fue el NaOH (menos el blanco), empleado para titular después de la adición del formaldehído al helado.

Se corrió el blanco al igual que los pasos anteriores a excepción de los 20 g de muestra, que se sustituyeron por 20 mL de agua destilada

El porcentaje de proteína se calculó por la fórmula publicada por Arbuckle (1986), que se muestra en la ec. (10) :

$$\% \text{ Proteína} = \text{ml de NaOH} * \text{normalidad del NaOH} * 9.04 - 0.14 \quad (10)$$

5.2.8 Determinación de grasa por el método Gerber.

Se pesaron 5 g de muestra en el butirómetro y se adicionaron 10 ml de ácido sulfúrico, 1 ml de alcohol isoamílico y 8 ml de agua destilada. Se tapó y agitó hasta que se disolvió la crema. Se colocó a baño María por 3 min a una temperatura de 65 °C. Se centrifugó por 5 min y se hizo la lectura (Ellefson, 2017).

5.2.9 Determinación de pH.

Se determinó el pH directamente usando un pH-metro. Se calibró el equipo con soluciones amortiguadoras de pH 4 y 7. Entre cada medición, se lavó el electrodo con agua destilada. Se colocó en un matraz Erlenmeyer 20 ml de muestra, se introdujo el electrodo y se agitó suavemente, se tomó la lectura de la pantalla del equipo cuando se estabilizó el valor de medición. Se llevó a cabo por triplicado la determinación y se hicieron enjuagues con agua destilada entre las diferentes muestras a evaluar (Úmelo *et al.*, 2014).

5.2.10 Determinación de acidez titulable.

Se tomó una alícuota de muestra de 10 ml y se tituló con una solución alcali estándar de NaOH 0.1 N usando fenolftaleína como indicador. (Tyl, 2017)

5.2.11 Resistencia al derretimiento.

Se hizo la determinación del comportamiento del helado a derretirse de acuerdo con el método descrito por Prindiville *et al.* (2000), con modificaciones de Barbosa *et al.* (2020).

Se tomaron 40 g de muestra congelada a -18°C y se colocarán rápidamente sobre una malla de alambre (cada agujero de 0.25 cm²) a una temperatura controlada

(20°C± 1°C). Se colocó un plato de aluminio sobre la balanza donde se recolectó el helado derretido. Se midió el peso del helado derretido cada 10 minutos durante 60 min. Se graficó el porcentaje de helado derretido en función del tiempo mediante la formula mostrada abajo. Se llevó a cabo la determinación por triplicado (Barbosa *et al*; 2020), según la ecuación (11)

$$\% \text{ Derretimiento} = \frac{MD}{MI} * 100 \quad (11)$$

Donde:

MI= Muestra inicial (40 g helado)

MD= Muestra derretida (g)

5.2.12 Determinación de aireado.

Se calculó el aireado (overrun) del helado a partir de muestras de las bases de helado elaboradas, congeladas a una temperatura de -24°C

Se empleó la siguiente ecuación (12):

$$\% \text{aireado} = 100 * \frac{(\text{volumen de helado} - \text{volumen de la mezcla})}{\text{volumen de la mezcla}} \quad (12)$$

Se calculó el volumen de la mezcla dividiendo el peso de la muestra de helado entre la densidad de la mezcla a 4°C. Se llevó a cabo la determinación por triplicado (Alamprese *et al.*, 2001).

5.2.13 Determinación de dureza del helado.

Se midió la dureza usando un texturómetro. Se colocó en el centro de la base metálica del equipo el helado que se analizó en un envase de polipropileno de 50 mL, el cual se removió previamente del congelador a -18°C por 24 horas. Se establecieron los parámetros de medición como distancia de penetración a 25 mm, fuerza 0.1 N, y la velocidad de pre-penetración y post -penetración= 1 mm/s. Se llevaron a cabo los análisis a una temperatura controlada (18°C ± 2°C). Se realizaron

las penetraciones con una sonda cilíndrica de acero inoxidable P/6 (El-Nagar et al; 2002).

5.2.13 Microbiología del helado.

Se determinó la cuenta de mesófilos aerobios mediante la NOM-113-SSA1-1994. Se tomaron 10 g de helado que se colocaron en 90 mL de agua peptonada, se homogenizó la muestra con el agua peptonada y se tomó 1 ml que se adicionó en un tubo de ensaye con 9 mL de agua peptonada. Se hicieron 5 diluciones de la muestra. Se colocó 1 mL de cada una de las diluciones en las placas de Petri, después se adicionó el agar cuenta estándar y se homogenizó con 6 giros a la derecha y 6 giros a la izquierda. Se dejaron secar las placas; se colocaron en la incubadora a 35°C por 48 horas y se hizo el conteo.

Se determinó la cuenta de coliformes totales mediante la NOM-092-SSA1-1994. Se tomaron 10 g de helado que se colocaron en 90 mL de agua peptonada, se homogenizó la muestra con el agua peptonada y se tomó 1 ml que se adicionó en un tubo de ensaye con 9 mL de agua peptonada. Se hicieron 5 diluciones de la muestra. Se colocó 1 mL de cada una de las diluciones en las placas de Petri, después se adicionó el agar bilis rojo violeta y se homogenizó con 6 giros a la derecha y 6 giros a la izquierda. Se dejaron secar las placas; se colocaron en la incubadora a 35°C por 48 horas y se hizo el conteo.

Se determinó la cuenta de hongos y levaduras mediante la NOM- 111-SSA1-1994.

Se tomaron 10 g de helado que se colocaron en 90 mL de agua peptonada, se homogenizó la muestra con el agua peptonada y se tomó 1 ml que se adicionó en un tubo de ensaye con 9 mL de agua peptonada. Se hicieron 5 diluciones de la muestra. Se colocó 1 mL de cada una de las diluciones en las placas de Petri, después se adicionó el agar papa dextrosa y se homogenizó con 6 giros a la derecha y 6 giros a la izquierda. Se dejaron secar las placas; se colocaron en la incubadora a 25°C por 5 días y se hizo el conteo.

5.2.14 Evaluación sensorial.

Se evaluó el grado de aceptación del producto mediante una escala hedónica de nueve puntos (1=extremadamente desagradable y 9=extremadamente agradable).

Se utilizó un panel de 50 evaluadores no entrenados, elegidos de entre estudiantes y trabajadores de la Universidad Autónoma de Querétaro con edades de entre 18 - 70 años, que no manifestaran intolerancia a la lactosa y/o alergia a los lácteos y/o alguna enfermedad que no les permita llevar a cabo el análisis sensorial. Los consumidores fueron reclutados por medio de infografía en físico y en digital (Anexo 7.1). Se proporcionó a cada evaluador un consentimiento informado (Anexo 7.2), que incluía de manera general las características del estudio, evitando dar información que pudiera comprometer su evaluación, indicando la comparación y evaluación de las siguientes características sensoriales de los helados: apariencia, aroma, sabor, textura y gusto en general, se aplicaron preguntas como se muestra en el Anexo 7.3 (Hassan & Ibtisam 2020; Lebesi & Tzia, 2011; Meilgaard *et al.*, 1991).

Se proporcionaron 10 g de helado (con temperatura de -18°C) de cada una de las formulaciones elaboradas, en un plato de plástico inocuo, de manera aleatorizada y codificadas previamente por 3 dígitos. Entre cada muestra, el evaluador tomará agua y galletas habaneras para limpiar su paladar (Soukoulis *et al.*, 2008).

Se incluyó en el análisis la posible intención del evaluador a comprar el producto (Barbosa *et al.*, 2020).

5.2.15 Evaluación de vida de anaquel sensorial

A partir de la selección de la formulación con mejor aceptabilidad sensorial, se eligió el helado bajo en grasa con lactulosa para la evaluación de vida de anaquel sensorial por diseño reversa.

Se determinó la vida de anaquel sensorial del helado bajo la temperatura de -18°C durante un periodo de 45 días, por un diseño reversa.

Se prepararon 6 kg de helado en total, éstos se mantuvieron a una temperatura de -24°C para evitar su deterioro; a los días 0, 14, 21, 28 y 45 se sacaron 1 kg de muestra y se dejaron a -18°C. Se llevaron a cabo análisis de pH, acidez titulable, y análisis sensorial (Alves *et al.*, 2021).

Para el análisis sensorial se empleó un panel de 50 evaluadores no entrenados, elegidos dentre estudiantes, docentes y administrativos de la Universidad Autónoma de Querétaro con edades de entre 18 - 70 años que no presentaran intolerancia a la lactosa y/o alergia a los lácteos y/o alguna enfermedad que no les permitiera llevar a cabo el análisis sensorial. Los consumidores fueron reclutados por medio de infografía en físico y en digital (Anexo 7.1). Se proporcionó a cada evaluador un consentimiento informado (Anexo 7.2), que incluía de manera general las características del estudio, la edad y el género; evitando dar información que pudiera comprometer su evaluación, se indicó la comparación y evaluación de las siguientes características sensoriales de los helados: apariencia, aroma, sabor, textura y gusto en general, se aplicaron preguntas tal como se muestra en el Anexo 7.3 (Hassan & Ibtisam, 2020; Lebesi, & Tzia, 2011; Meilgaard *et al.*, 1991).

Se proporcionaron 5 g de helado bajo en grasa con lactulosa (con temperatura de -18°C) de entre los días 0, 14, 21, 28 y 45; todas las fechas en una misma sesión. En un plato de plástico inocuo (se siguieron las debidas prácticas de manufactura para la elaboración del helado), de manera aleatorizada y codificadas previamente por 3 dígitos. Entre cada muestra, el evaluador tomó agua y galletas tipo habaneras para limpiar su paladar, se llevó a cabo un diseño reverso del producto. (Alves *et al.* 2021; Soukoulis *et al.*, 2008).

5.2.16 Diseño experimental y análisis estadístico

Se diseñó un experimento completamente aleatorizado unifactorial para el tratamiento de electro-activación (teniendo como factor la intensidad de corriente con los niveles 200, 300 y 400 mA y tres réplicas por cada una) y se diseñó un experimento bifactorial completamente aleatorizado para la elaboración de fórmulas de helado (teniendo como factores la cantidad de grasa añadida con tres niveles de

8, 5 y 3 % y el otro factor fue la lactulosa con dos niveles, es decir, si había adición ó no de lactulosa con tres réplicas cada una, se elaboraron en total seis formulaciones) para la elaboración de fórmulas del helado. Se analizaron los datos usando el programa R Studio con la versión 4.2.1. Se analizaron las varianzas para determinar las diferencias significativas entre tratamientos (Hashemi *et al.*, 2014).

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Caracterización del suero lácteo dulce.

El suero lácteo se obtuvo como resultado de la preparación de queso tipo ranchero; este queso es del tipo fresco y sólo obtenido mediante la coagulación por medio de cuajo enzimático, lo cual permite un pH relativamente neutro. En la Tabla 6 se muestran los datos proximales obtenidos del permeado de suero dulce.

El subproducto presenta valores diversos en sus características debido al origen y procesamiento del cual haya sido obtenido. De acuerdo con Dairy Export Council en el 2016, los datos obtenidos en el presente trabajo concuerdan con los que este Consejo reporta, excepto lactosa.

Tabla 5. Datos de la caracterización del permeado de suero lácteo dulce

Análisis proximal	Dato práctico (%)	Dato teórico (%)
Humedad	94.2±0.01	94.5
Sólidos totales	5.75±0.01	5.5
Grasa	No detectado	<0.01
Proteína	0.1618±0.23	0.05
Lactosa	2.10±0.581	4.7
pH	6.49±0.01	6.1
Acidez	0.10±0.00	0.14

Los datos propios presentados, son el promedio del triplicado de tres mediciones repetidos en un mismo lote ± la desviación estándar, mientras que los datos teóricos son obtenidos de DEC, 2016.

La lactosa bajo condiciones de temperaturas de enfriamiento tiende a disminuir en solubilidad (Livney *et al.*, 1995), por lo que la razón por la cual no concuerdan los datos de lactosa obtenidos con los de teoría, pudo haberse debido a la mala manipulación en la homogenización de la muestra, ya que, al mantenerse en refrigeración, se precipitaron los cristales de lactosa, impidiendo así la total cuantificación de estos por medio del HPLC.

6.2. Proceso de electro-activación *in situ* del permeado de suero lácteo

La electro-activación *in situ* es una tecnología emergente que fue llevada a cabo en una celda, tal como se muestra en la Figura 10; la celda cuenta con tres compartimentos: ánódico (electrodo de acero inoxidable 304), central y catódico (electrodo de platino), separada por dos membranas, una de intercambio catiónico que dividía el compartimento catódico del central y una de intercambio aniónico que separaba el compartimento anódico del central reacción (Aider *et al.*, 2012b).

Al aplicar una intensidad de corriente sobre el agua contenida en el permeado, (representa un 94.2%), se somete a cambios asociados al rompimiento del equilibrio en el agua, que bajo condiciones normales de presión y temperatura no podrían ser llevados a cabo, fomentando así el estado metaestable, en el que se generan tres tipos de especies: 1) especies no estables con sólo pocas horas de duración (radicales libres), 2) especies de larga duración (aqua-complejos e hidro-complejos) y 3) especies estables (iones hidroxilo y iones de hidrógeno) que son las que fomentan el pH en los compartimentos (Aider *et al.*, 2012).

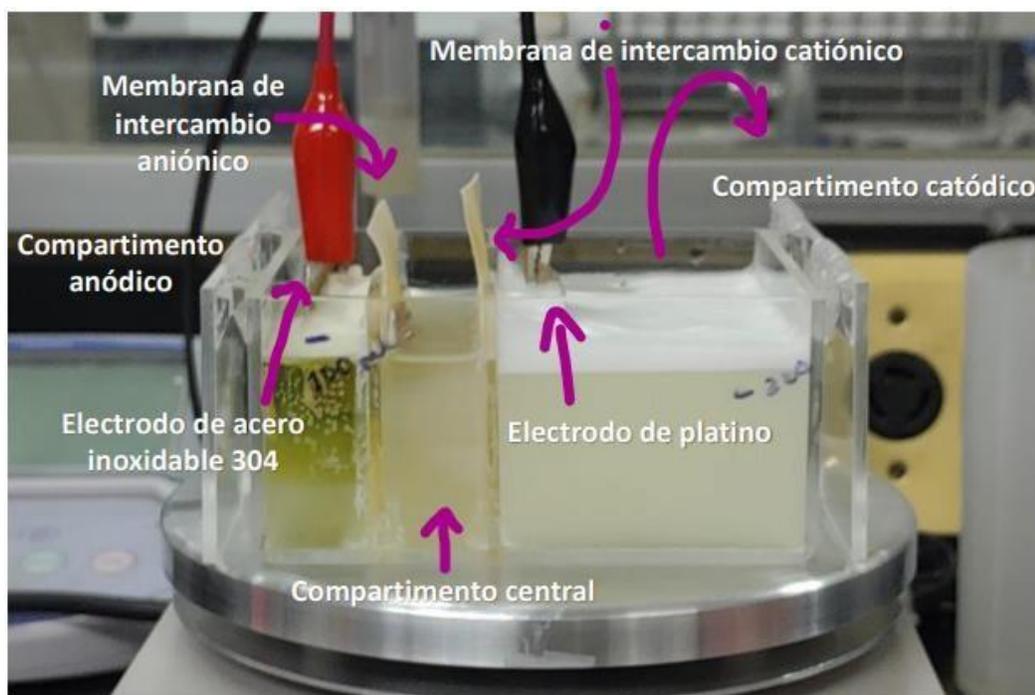
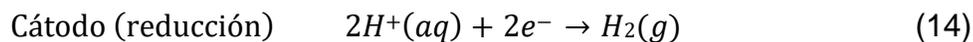
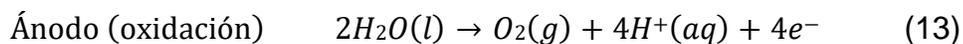


Figura 10. Celda de electro-activación *in situ* del permeado de suero dulce.

Las especies estables que fomentan el pH son promovidas por las reacciones del tipo óxido-reducción, tal como se muestra en las ecuaciones (13-14):



Dependiendo del compartimento en donde se encuentren, pueden tener carácter ácido (compartimento anódico) o tener carácter alcalino (compartimento catódico).

Para este proyecto es importante obtener un pH alcalino; la transformación de lactulosa se lleva a cabo en el compartimento catódico (Aissa & Aider, 2013). La reacción dominante por la cual se puede obtener lactulosa a partir de lactosa es la reacción Lobry de Bruyn and Alberda van Ekenstein, que puede ser llevada a cabo bajo condiciones alcalinas (Aissa & Aider, 2014).

La presencia de un electrodo metálico en contacto con una solución, que para este caso es el permeado de suero, genera una interfase debido a la diferencia de potencial, que al aplicar la intensidad de corriente forma una doble capa eléctrica (Ahmed *et al.*, 2017) que actúa sobre el agua.

Este efecto da como resultado la adsorción de la molécula del agua; los hidrógenos contenidos en la molécula se colocan sobre la superficie del platino (cargada negativamente), proporcionando la cantidad de energía necesaria para romper el enlace de hidrógeno.

Mientras tanto el ión hidroxilo que es liberado, generará en el ambiente del compartimento catódico un pH alcalino, esto, derivado de la colocación de las membranas de intercambio catiónico que evitan que los iones hidroxilo (OH^-) escapen de ese compartimento al compartimento anódico, debido a la atracción de cargas contrarias (Djoub & Aider, 2019).

Estas membranas están hechas de gel de poliestireno entrecruzado con divinilbenceno; se diferencian en sus grupos funcionales. La membrana aniónica (AMI 7000), tiene un grupo cuaternario de amonio y la función es permitir el paso de los aniones e impedir el paso de los cationes por la repulsión que se genera entre cargas negativas, mientras que la membrana catiónica contiene (CMI 7001), contiene grupos de ácido sulfónico y permite el paso de los cationes, pero no de los aniones, por la repulsión entre cargas positivas. Es por esto, que, al colocarlas de acuerdo con la Figura 10, la membrana catiónica impide la salida de los iones OH^- , acumulando un pH básico (>7), mientras que la membrana aniónica impide el paso de los iones H^+ , generando un pH ácido (<7) y así evitando la acidificación del compartimento catódico para lograr un pH alto y así la posible isomerización de lactosa (Sharani *et al.*, 2016).

Este comportamiento lo podemos ver reflejado en la Figura 11, donde podemos observar los tres tratamientos sometidos a la electro-activación; comenzando el procedimiento todos tenían un pH de 6.40, posteriormente conforme transcurre el

tiempo, se puede apreciar el aumento del pH derivado de la generación de iones hidroxilo (OH^-). De acuerdo con Aider & Djoub (2019), el permeado de suero sufre esta electrólisis en función de la intensidad de corriente aplicada, es decir, conforme aumentaba la intensidad de corriente aplicada, se observaba un aumento en el pH de forma más rápida pudiendo alcanzar un pH de 9.0 de forma más rápida.

Sin embargo, en los resultados que Aider & Djoub (2019), alcanzan con menor rapidez el pH de 9 a los 10 minutos con la sal de KCl con intensidad de corriente de 330 mA, mientras que en el presente experimento a 300 mA se logró obtener un pH de 9 a los 6 minutos de tratamiento.

Para completarse el circuito de la conductividad de la intensidad de corriente sobre todo el sistema, en el que ocurren las reacciones del tipo óxido-reducción, se necesita que la intensidad de corriente fluya a través de todos los compartimentos, lo cual se logra a través de la adición de la sal de sulfato de sodio a los compartimentos central y anódico y a la presencia de sales derivadas del permeado de suero en el compartimento catódico. El completarse el circuito en la celda permite que ocurran las reacciones en donde el principal producto en el compartimento catódico es la producción de OH^- . A mayor intensidad de corriente sin oposición de resistencia por la adición de sales, mayor electrólisis de agua y por ende mayor producción de OH^- (Djoub & Aider, 2019).

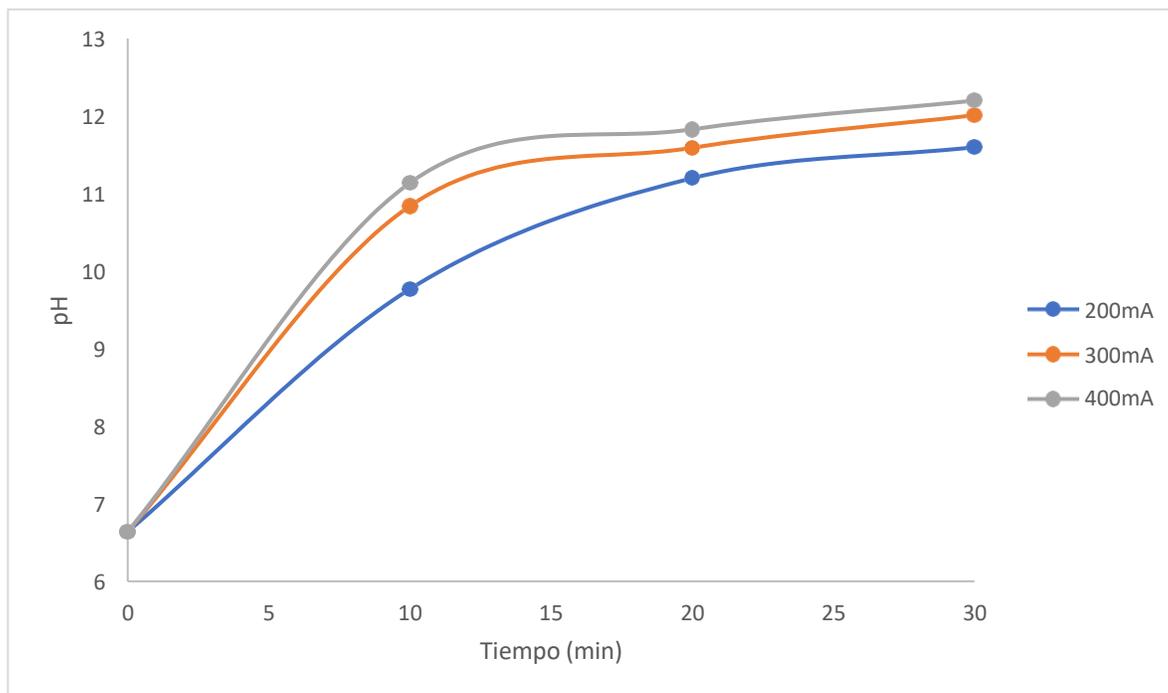


Figura 11. Comportamiento de pH en función del tiempo de los tratamientos de 200, 300 y 400 mA.

Cada línea en la gráfica representa el promedio de tres experimentos independientes

Este comportamiento puede observarse en la Figura 11, donde a mayor intensidad de corriente, se llega más rápido al pH de 9 tal como se aprecia en el tratamiento a 400 mA a diferencia del tratamiento a 200 mA a los 8 minutos.

También es posible observar dos comportamientos distintos en las curvas de los gráficos de acuerdo con el tiempo de aplicación del tratamiento; durante los primeros 2 minutos, puede apreciarse como el aumento de OH^- es exponencial, es decir constantemente va en aumento, mientras que después de esos 20 minutos, se puede apreciar cómo la producción de iones OH^- , se va ralentizando ya que el pH ahora va aumentando en cantidades más pequeñas, siendo normal este comportamiento por la saturación de iones OH^- que se encuentran en el compartimento.

Así es como el potencial redox del agua es aplicado para la obtención de un pH alcalino, necesario para nuestra transformación de lactosa a lactulosa, mediante reacciones del tipo óxido-reducción.

6.3. Determinación de carbohidratos mediante HPLC

Aplicado el tratamiento de electro-activación, logrando un pH alcalino mayor a 9, que de acuerdo con Djoub y Aider en el 2019b, es el pH necesario para lograr la isomerización de lactosa con lactulosa, junto con la doble capa eléctrica.

Esto sucede mediante la transformación Lobry de Bruyn Alberta Van Ekenstein, ocurrida en el compartimento catódico (Djoub & Aider, 2019). En esta transformación hay la producción de un enediol intermediario de una aldosa a una cetosa, hidrogenando el carbono α , contenido en la glucosa que conforma a la lactosa (Momcilo, 2010). El enlace entre el C-H, del carbono α se rompe fácilmente con el medio alcalino, formándose fructosa en vez de glucosa (Amara *et al.*, 2013). Se hicieron primeramente las curvas de calibración para determinar los tiempos de retención de lactosa, lactulosa y galactosa. Los cuales se muestran en la Figura 12.

Se aprecia que el tiempo de retención de lactosa es de 21.307, el de la lactulosa de 22.953 y el de galactosa a un tiempo de 26.791. Con estos valores se procedió a hacer el comparativo con las muestras para así observar el perfil de carbohidratos

Se procedió a hacer la determinación con las muestras en el HPLC, de acuerdo con Djoub & Aider, sólo aquellos tratamientos con pH de al menos 9, eran los que podían lograr esa conversión.

Se analizaron 4 muestras en cada uno de los tratamientos (200, 300 y 400 mA), cada una a distintos tiempos: 0, 10, 20 y 30 minutos para observar a partir de qué pH se obtendría la lactulosa.

que en el tratamiento a 200 mA sólo puede observarse esta generación de lactulosa solamente a los 30 minutos de tratamiento.

A los 30 minutos la cantidad de lactulosa generada a 200 mA son 1.68 mg/mL, a 300 mA son 2.84 mg/mL, mientras que para el tratamiento con 400 mA esta concentración es de 4.08 mg/mL, la cual, es la cantidad máxima generada con respecto a la cantidad de lactosa inicial con un rendimiento de 17.45%, mientras que en la literatura el valor de rendimiento máximo fue de 40% con respecto a la lactosa inicial (Djoub & Aider, 2019).

Muchos pueden ser los factores que influyan para la generación de la lactulosa, comenzando por el área de superficie de contacto del permeado del suero con el electrodo de 50 cm² (Djoub & Aider, 2019), mientras que para este proyecto solo fue un área aprovechable de 7 cm². De igual forma podemos apreciar que a pesar de que en los artículos se menciona que la isomerización de lactosa a lactulosa en permeado de suero es a un pH de 9, con los resultados que se observan en la Tabla 7, se aprecia que en realidad para este experimento la producción de lactulosa se observó hasta el pH de 11, de acuerdo con Kareb *et al.* (2017), esto se debe a la acción de las proteínas pues ejercen un efecto amortiguador sobre la generación de iones hidroxilo en el compartimento catódico, lo cual evita que la lactulosa sea generada más pronto.

Si bien, de acuerdo con los análisis proximales iniciales del permeado del suero en donde la proteína en éste era mínima, ya en este experimento, sigue siendo la necesaria para evitar la formación de lactulosa a un pH menor; también el citrato es otra de las sustancias que podría estar evitando la formación de los iones hidroxilo.

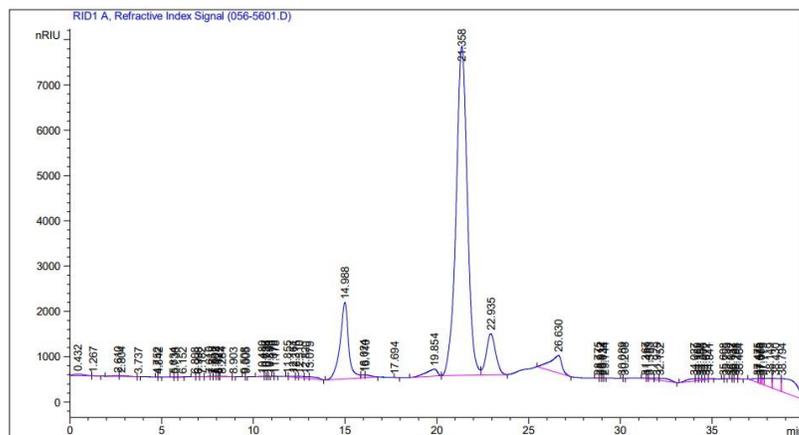
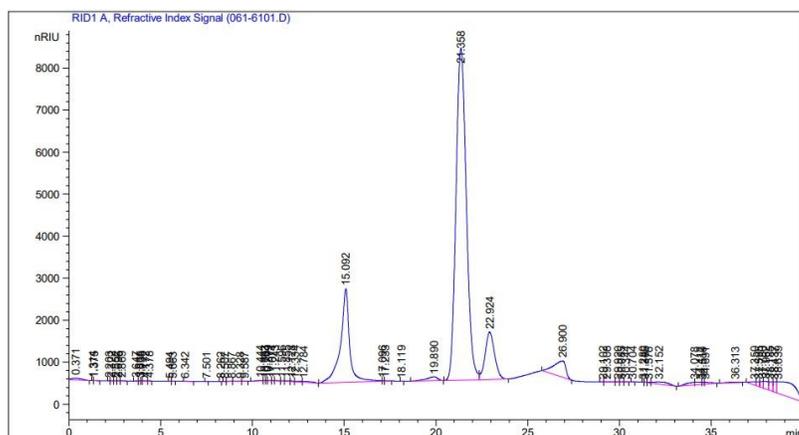
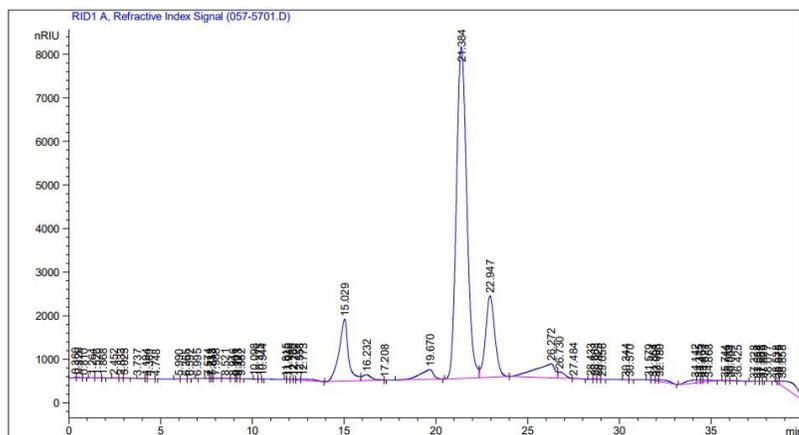


Figura 13. Cromatogramas donde se observa la lactulosa al tiempo de 30 minutos para los tratamientos: a) 400 mA, b) 300 mA, c) 200 mA.

Tabla 6. Concentración de carbohidratos en muestras de suero electro-activado

Tiempo	Tratamiento 200 mA		Tratamiento 300 mA		Tratamiento 400 mA	
	Lactosa (mg/mL)	Lactulosa (mg/mL)	Lactosa (mg/mL)	Lactulosa (mg/mL)	Lactosa (mg/mL)	Lactulosa (mg/mL)
0	19.3±0.405 ^a	N/D	20.8±0.926 ^a	N/D	21.0±1.951 ^a	N/D
10	20.8±0.505 ^a	N/D	24.2±2.823 ^a	N/D	25.6±1.562 ^b	N/D
20	30.8±0.789 ^a	N/D	33.2±1.068 ^{ab}	2.05±0.084 ^a	30.1±1.647 ^{ab}	2.50±0.444 ^a
30	35.1±1.422 ^a	1.68±0.237 ^a	34.3±0.244 ^a	2.84±0.593 ^{ab}	34.6±0.982 ^a	4.08±0.824 ^{ab}

N/D= no se detectó concentración de lactulosa en la muestra. Los resultados se informan como la media ± la desviación estándar (n=3). Diferentes letras en la misma fila indican una diferencia.

El sistema necesita de sales para poder permitir el paso de la intensidad de corriente sobre éste, sobre todo en la parte central de la celda, ya que, al llevarse a cabo el tratamiento, la solución contenida ahí, sufrirá una electrodiálisis, es decir, los iones de las sales ahí contenidas migran, los aniones al cátodo, mientras los cationes al ánodo (Amara *et al.*, 2013).

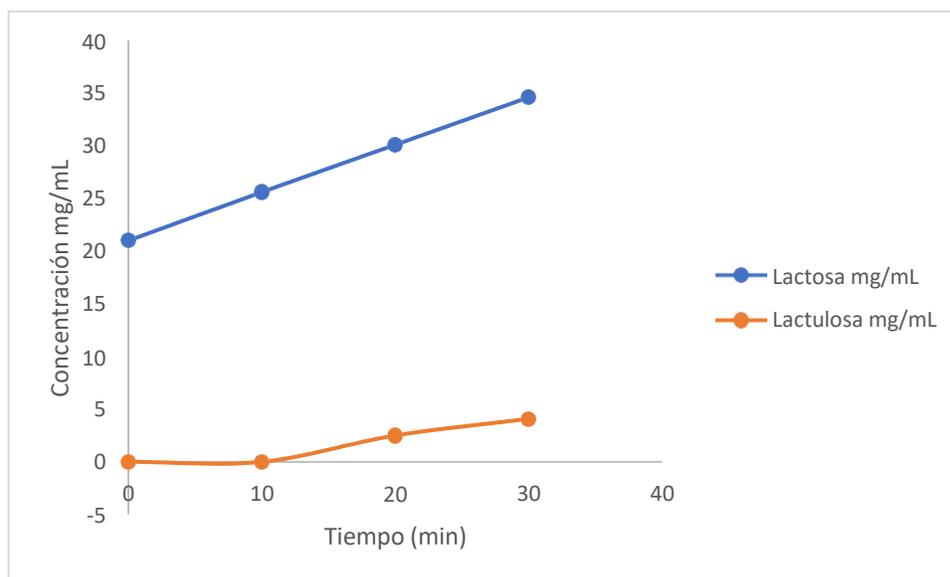


Figura 14. Comportamiento de lactosa y lactulosa durante el tratamiento a 400 mA. Los resultados se informan como la media ± la desviación estándar (n=3).

En la Figura 14 se observa el comportamiento del aumento en la concentración de lactosa y lactulosa conforme avanza el tratamiento a 400 mA, en él observamos cómo va aumentando en ambos casos la concentración.

La lactosa presente en el permeado de suero nos indica la ruptura de galactooligosacáridos en el sistema, liberando entonces moléculas de lactosas que se van haciendo notorias en los cromatogramas.

No hay evidencia de que realmente lo que suceda se deba al pH alcalino, a las especies en el sistema o a la doble capa eléctrica, pero podría inferirse como en el caso de las proteínas que sufren cambios conformacionales bajo este esquema, que la electro-activación logra tener un efecto sobre los oligosacáridos (Momen *et al.*, 2022)

La migración de estos iones a los electrodos entonces provoca, que, se oponga resistencia en el paso de la corriente; esta resistencia genera que la energía del sistema sea liberada en forma de calor y no sea aprovechada para terminar el circuito y así generar lactulosa, provocando entonces la disminución de la producción de iones hidroxilo y por ende la producción de lactulosa (Djoub *et al.*, 2019).

6.4 Determinación de resistencia y consumo de energía de la celda.

La resistencia de una celda de electro-activación, se basa en la ley de Ohm que hace la relación entre tres fenómenos físicos: corriente, voltaje y resistencia. Esta última hace referencia a la oposición al movimiento que se presenta en la carga (Tenny & Keenaghan, 2017). Para la celda de electro-activación es muy importante evitar esta resistencia, pues la forma en la que se verá macroscópicamente será en el aumento de temperatura durante la reacción, no aprovechando en su totalidad este flujo de intensidad para la electrólisis del agua (Djoub & Aider, 2019).

Ya que la producción de lactulosa para los tres tratamientos se presentó a los 30 minutos, se hizo el comparativo de la resistencia a este tiempo.

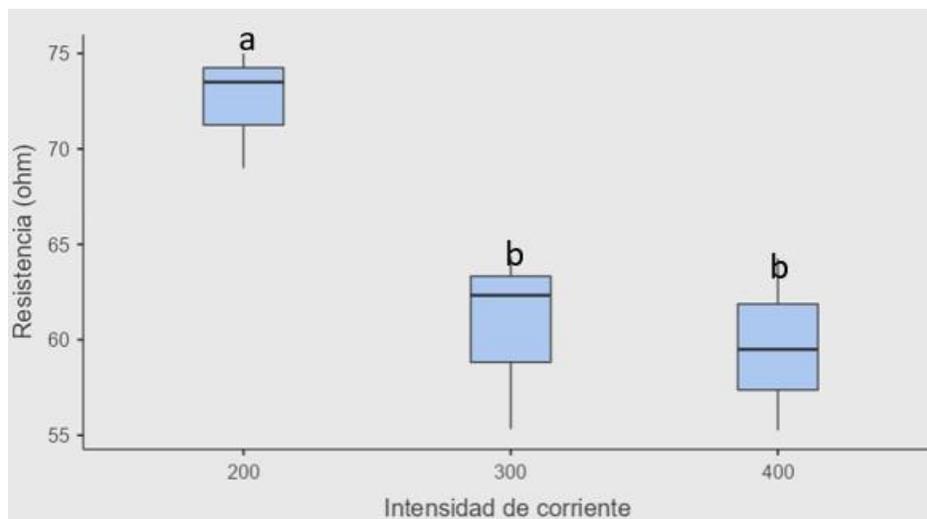


Figura 15 Diagrama de cajas para la resistencia de las celdas en los tratamientos a 200, 300 y 400 mA a los 30 minutos de tratamiento.

Los resultados se informan como la media \pm la desviación estándar (n=3).

De acuerdo con la Figura 15 se observa que hubo una mayor resistencia del tratamiento de 200 mA a diferencia de los tratamientos de 300 y 400 mA. Para promover la isomerización de lactosa a lactulosa, y en inicio la electrólisis de agua, es importante recordar que deben romperse barreras que evitan que se lleven a cabo los fenómenos anteriormente mencionados.

En primer lugar se necesita proveer al menos 1.23 V para lograr la electrólisis de agua, sin embargo, como en primera instancia se debe romper la barrera inicial para favorecer la electrólisis de agua, deben proveerse al menos 1.40 V para este paso. Después, deben considerarse factores como las membranas que se utilizan, pues éstas también son una barrera para el paso de corriente, la formación de burbujas sobre los electrodos, actúan como aislantes de forma que también es otro factor por considerar, así como también la presencia de las sales necesarias para permitir la conductividad (Zeng & Zhang, 2010). Por estas razones es importante mencionar, que, a mayor intensidad de corriente aplicada, se puede proveer la energía necesaria para romper las barreras de resistencia por toda la celda, Es así entonces,

que 300 y 400 mA son los tratamientos que menor resistencia oponen en la formación de lactulosa.

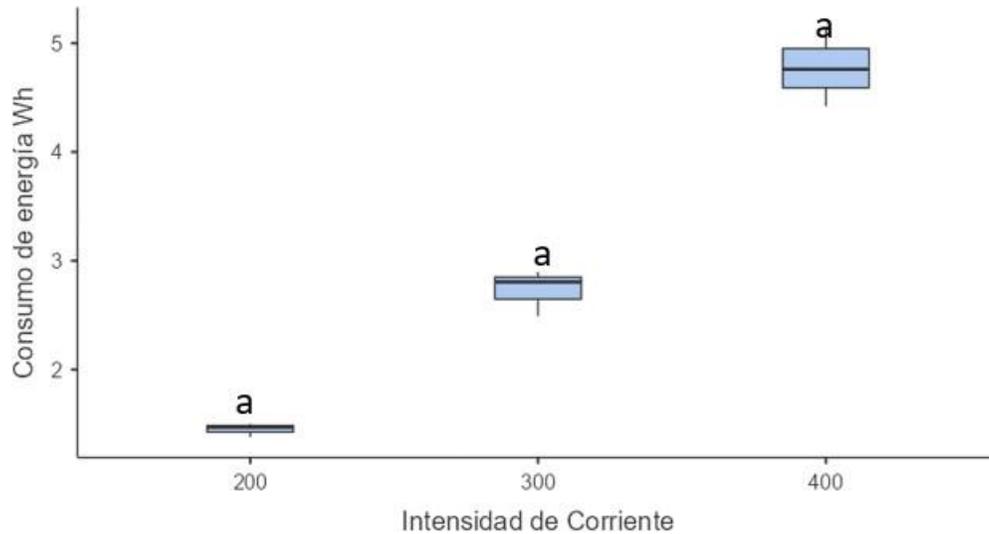


Figura 16. Consumo de energía de las celdas en los tratamientos 200, 300 y 400 mA a los 30 minutos de tratamiento.

Los resultados se informan como la media \pm la desviación estándar (n=3).

El consumo de energía se da con base en la cantidad de intensidad de corriente con respecto al voltaje, que es necesario para obtener el producto final, pudiendo atravesar todas las posibles barreras de resistencia que se presenten en el sistema. Puede apreciarse que hay diferencia significativa entre los tres tratamientos. Lo cual indica que, a mayor intensidad de corriente aplicada, mayor consumo de energía sobre la celda, tal como puede apreciarse en la Figura 16 (Djoub & Aider, 2019).

6.5. Formulación del helado.

Se desarrollaron seis formulaciones de helado teniendo como primer factor la cantidad de grasa adicionada en éstos, tal como se aprecia en la Tabla 7, en donde los valores son 8, 5 y 3% se basaron en la cantidad límite permitida por la NOM-243-SSA1-2010.

Como un segundo factor se tuvo la adición o no adición de lactulosa, lo cual no puede verse apreciado de forma directa en la Tabla 7 pues en caso de no adicionar la lactulosa se sustituía por la cantidad de sacarosa equivalente.

La forma en la cual se observó lo anterior fue con la cantidad de sólidos totales pues alrededor de 20% en todas las formulaciones son perteneciente a estos ingredientes.

El helado es un sistema complejo en el que hay emulsiones aceite:agua que para este caso fueron la adición de grasa butírica (8, 5 y 3%) y el agua contenida en el suero, empleando también el estabilizante lacta, que proporcionó la estabilidad de la emulsión junto con las proteínas del suero, pero no sólo ejerciendo un efecto sobre la emulsión sino también fueron de ayuda en el proceso del espumado.ya que se adiciona aire al sistema, cristales de hielo, y una parte sérica no congelada (Akbari y col; 2019), que hay que tomar en consideración al momento de elegir los ingredientes y las proporciones de éstos.

Al buscar sustituir la grasa en el helado por lactulosa, se tomó en consideración el mimetizar las propiedades físicas y de textura que se brindan en condiciones normales con la grasa. En el caso de los sólidos de jarabe de maíz y la lactulosa, estos actúan proporcionando espesor y propiedades estabilizantes; generalmente permiten la formación de gel, atrapando cantidades sustanciosas de agua libre en el sistema (Akbari y col; 2019). De acuerdo con Dorohovich y colaboradores en 2016, encontraron que una sustitución de hasta el 10% de lactulosa en vez de sacarosa/glucosa, favorece el incremento del agua libre y naturalmente se incrementa la cantidad de agua eliminada al calentamiento.

6.6. Evaluación sensorial del helado.

Al cambiar la formulación proponiendo productos con menor cantidad de grasa y menor cantidad de sacarosa, se busca la aceptabilidad de los consumidores, de ahí que se haya empleado la lactulosa como un posible ingrediente sustituyente de la grasa y del edulcorante, claro que lo mostrado en la Tabla 7, sólo nos dejó en

evidencia la cantidad de cada uno de los componentes para posterior a eso hacer un comparativo comparándolo con un helado control con grasa en un 8% (NCL, control en grasa con lactulosa; NSL, control en grasa sin lactulosa) y proponiendo otros helados con 5% de grasa (RCL, reducido en grasa con lactulosa; RSL, reducido en grasa sin lactulosa), y 3% de grasa (BCL, bajo en grasa con lactulosa; BSL, bajo en grasa sin lactulosa).

La lactulosa añadida a los helados sirvió como sustituto de la grasa, intentando mantener características derivadas de ésta .

Al hacer cambios en las formulaciones, se requiere de una evaluación sensorial que nos permita dilucidar los cambios hechos en el producto con respecto a un control. Se hicieron los análisis estadísticos de las calificaciones asignadas por los 50 consumidores no entrenados, evaluando los rubros de sabor, olor, color, textura y gusto en general. Los gráficos de las evaluaciones se muestran en la Figura 17.

El eje “X” representa la adición (“S”) o la no adición (“N”) de lactulosa en la formulación, mientras que en el eje de la “Y”, se muestra la evaluación de cada uno de los tratamientos (NSL= control sin lactulosa, NCL= control con lactulosa, RCL= reducido en grasa con lactulosa, RSL=reducido en grasa sin lactulosa, BCL= bajo en grasa con lactulosa y BSL= bajo en grasa sin lactulosa), en las características sensoriales evaluadas.

Lo primero que podemos apreciar es la característica de sabor; encontramos que de las formulaciones la que obtuvo una calificación más baja fue la del helado bajo en grasa sin la adición de lactulosa con una calificación promedio de 5.60, mientras que la calificación más alta se presenta en el helado bajo en grasa con la adición de lactulosa con 7.64; se observa en el gráfico de la Figura 17A, que hay otros dos helados que no tienen diferencia en sabor con respecto al helado más aceptado, el componente de la grasa es el acarreador de y sinergista que provee los sabores, por lo que podemos inferir que al estar el helado bajo en grasa con lactulosa,

calificado a la par de los helados controles, no necesita de este acarreador sino que la lactulosa de una forma suple ese papel (Goff, 2018)

Otro aspecto importante a mencionar es que los panelistas no dieron calificaciones más altas en la evaluación de sabor a los helados, porque mencionaron un cierto resabio ocasionado por la Stevia contenida en el producto.

Los helados control en grasa con y sin adición de lactulosa tuvieron calificaciones similares a las del helado bajo en grasa con lactulosa, lo cual nos indica que la adición de lactulosa a esta última si tuvo un efecto al simular las mismas características que los helados control en grasa. Cuando los helados son reformulados en el porcentaje de grasa, es común que sufran algunos cambios importantes; el sabor se ve alterado por el cambio en la liberación de sabores de compuestos lipofílicos (Underdown *et al.*, 2011), lo cual indicaría que tal vez este tipo de helados reformulados, no serían bien aceptados por los consumidores.

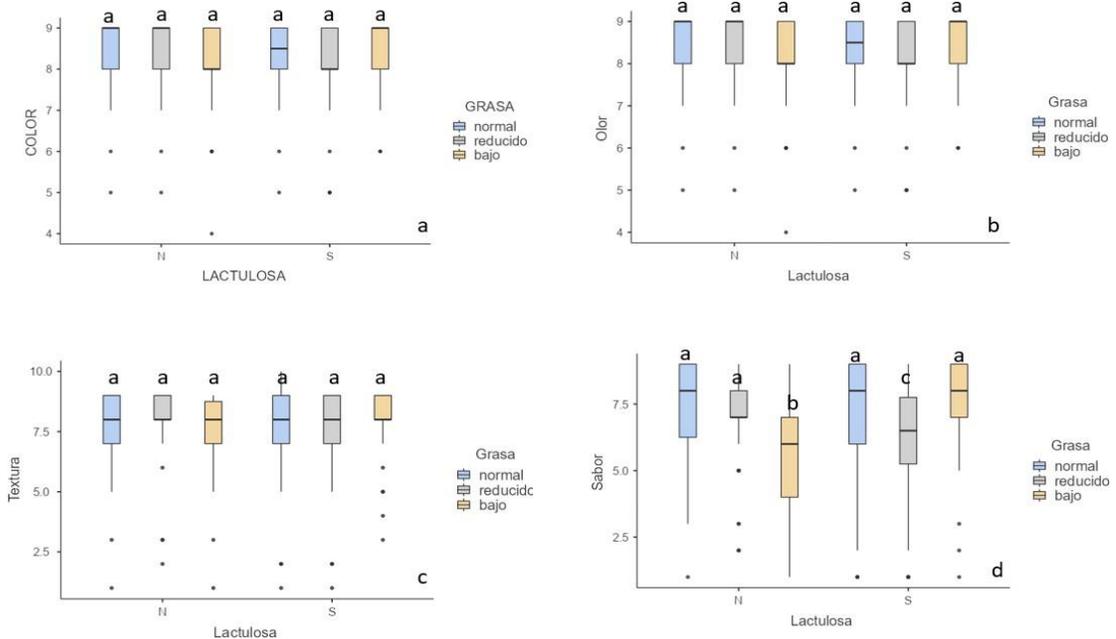


Figura 17. Características a evaluar sensorialmente: A) color, B) olor, C) textura y D) sabor. Diferentes letras en los diagramas de cajas indican una diferencia.

Y que, en éstos últimos, el efecto de la lactulosa no se vio reflejado de alguna forma distinta en los helados.

Entre formulaciones homólogas, no se aprecia la diferencia con respecto al sabor, solamente con los helados bajos en grasa, en donde se aprecia una notable diferencia entre ellos.

Para el apartado c, de la Figura 17, se aprecian los resultados de la evaluación de la textura del helado, de acuerdo con la respuesta de los consumidores; se aprecia que, entre los 6 helados, no se presentan diferencias, por lo que el efecto de la lactulosa, realmente no se ve proyectado en los mismos, la evaluación osciló entre 7.34 -7.94, bajo en grasa sin lactulosa para el primero y bajo con lactulosa para el segundo. Así entonces, se deduce que una misma cantidad de sólidos totales presentes en los helados permite brindar una textura similar en todas las formulaciones, pues no se apreció diferencia alguna entre los factores de cantidad de grasa añadida o de lactulosa ó no en cada uno de ellos.

En la Figura 18a, se presentan los resultados de color del helado de acuerdo con los evaluadores, en donde tampoco se presentan diferencias significativas entre los helados, las calificaciones oscilaron entre 8.16 y 8.56.

Por último, se presenta en la Figura 18b las evaluaciones de olor por parte de los evaluadores en donde nuevamente el olor no tuvo diferencias significativas entre las 6 formulaciones, las evaluaciones oscilaron entre 6.98 – 7.76.

Por último, en la Figura 19, tenemos la evaluación de forma general de los 6 helados, en ella, podemos ver la aceptabilidad de varios helados considerando de forma global todas las características evaluadas por separado.

Los helados aceptados con 7.94, 7.67 y 7.20 son los helados bajo en grasa con lactulosa, normal en grasa sin lactulosa y normal en grasa con lactulosa, así como el helado reducido en grasa sin lactulosa con una calificación de 7.88.

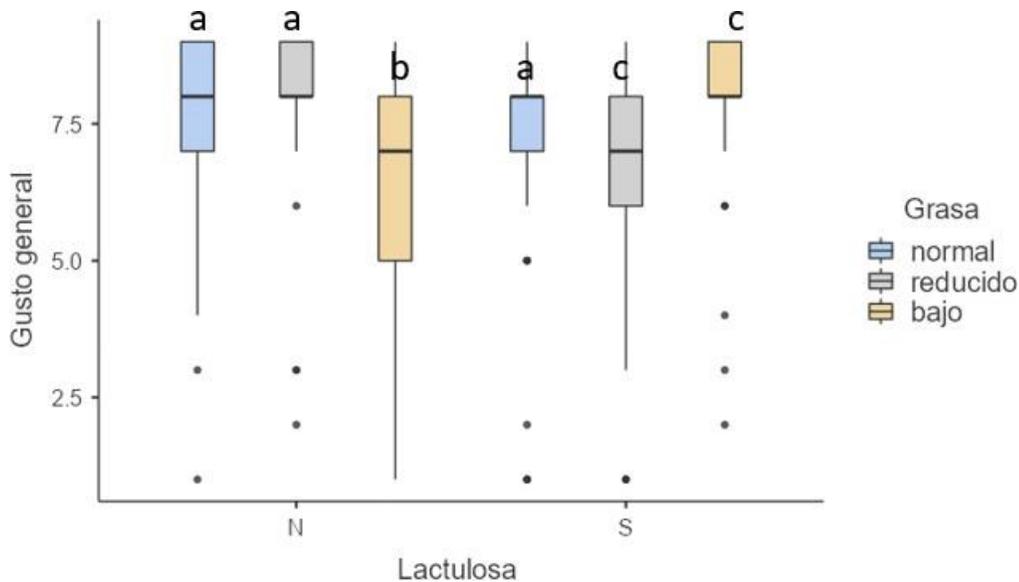


Figura 18. Evaluación sensorial del gusto del helado. Diferentes letras en los diagramas de cajas indican una diferencia.

Esta información nos indica que a pesar de que algunos helados fueron reformulados de tal forma que aportaran menos calorías debido a la falta de grasa, los componentes adicionados, lograron que tuvieran la misma aceptabilidad que los helados con una cantidad de grasa normal, aportando textura y sabor.

Por lo que con este análisis sensorial se obtuvo el resultado de aceptabilidad de un helado bajo en grasa y con lactulosa, al cual se le llevó a cabo el estudio de vida de anaquel sensorial.

En la mayoría de los casos, la reformulación de helados bajos en graso o reducidos en grasa, no cuentan con la aceptabilidad y calidad que los consumidores esperan, ya que tienen sabores desagradables y texturas no favorecedoras; sin embargo, en este caso, el suero también pudo haber influenciado en la decisión de aceptabilidad. Ya que las proteínas generan ciertos componentes volátiles que proporcionan el sabor a los helados. (Underdown *et al.*, 2011).

6.7. Análisis proximales de los helados.

Uno de los aspectos más importantes en el área de alimentos, es la determinación de las cantidades de nutrimentos que en ellos se aportan, ya que, de acuerdo con organizaciones mundiales, la cantidad de nutrimentos diarios recomendados tiene cantidad específicas a consumir por día, para tener una vida sana.

La primera determinación que se hizo fue la de humedad y la de sólidos totales; de acuerdo con la norma oficial mexicana, la NOM-243-SSA1-2010 de leche y sus derivados lácteos, se establece que la cantidad mínima de sólidos totales que debe poseer un helado de crema es de 26%; en las formulaciones desarrolladas (Tabla 8), puede apreciarse que por mínimos, las formulaciones obtuvieron un 28%; estos sólidos brindan en los helados textura, la reducción del punto de congelamiento, el incremento del overrun y fomenta el batido (Syed *et al*; 2018).

También se puede apreciar en la Tabla 7, la cantidad de proteína, entre la cual se incluye caseína de leche y proteínas de suero, éstas proporcionan al helado cuerpo y una textura suave a través de la emulsificación de la grasa, la formación de espuma y estabilidad de burbujas de aire; de acuerdo con la NOM-243, esta cantidad debería estar en 2.5%, sin embargo, nuestra cantidad fue menor, esto se puede deber a que el método empleado para la determinación de proteínas fue un método rápido, y no el solicitado por norma, así que probablemente entre estas determinaciones exista un margen de error.

Se estableció como base para el contenido de grasa un 8%, que es lo que la NOM 243, establece como límite, para las demás formulaciones se estableció de acuerdo con cálculos, 5 y 3% respectivamente. Mediante el método de Gerber, sí fue posible obtener este resultado, pudiendo entonces trabajar con formulaciones en las que se redujera considerablemente el ingrediente principal para aceptabilidad del producto.

En cuanto al pH y la acidez, estos valores tienen que ver con la cantidad de sólidos no grasos que se encuentran en la formulación, a mayor cantidad de sólidos no grasos, mayor acidez y menor pH, así observamos en la tabla, que aquellas

formulaciones en donde había una mayor cantidad de sólidos, se presentó una mayor acidez, dada por las proteínas de la leche, del suero, citratos y fosfatos (Arbuckle, 1991).

Tabla 7. Composición proximal de las formulaciones de helados elaboradas

Tratamiento	Humedad (%)	Sólidos totales (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	pH	Acidez (°D)
Control sin lactulosa (NSL)	69.19±0.29 ^a	30.81±0.29 ^a	2.16±0.14 ^a	8.00±0.00 ^a	6.17±0.08 ^a	20.00±1.00 ^a
Reducido en grasa sin lactulosa (RSL)	68.82±1.39 ^b	30.17±1.39 ^b	2.23±0.22 ^a	5.66±0.57 ^a	6.35±0.01 ^a	20.33±0.57 ^a
Bajo en grasa sin lactulosa (BSL)	71.60±0.31 ^{bd}	28.40±0.32 ^{bd}	2.01±0.17 ^a	3.00±0.00 ^b	6.14±0.18 ^a	16.33±1.52 ^b
Control con lactulosa (NCL)	69.41±0.76 ^a	30.58±0.76 ^a	2.25±0.17 ^a	7.83±0.28 ^{bc}	6.27±0.04 ^a	19.33±1.52 ^a
Reducido en grasa con lactulosa (RCL)	71.22±0.16 ^{bc}	28.77±0.16 ^{bc}	2.11±0.04 ^a	5.33±0.57 ^d	6.21±0.20 ^a	17.66±0.57 ^{ab}
Bajo en grasa con lactulosa (BCL)	71.36±0.43 ^{bc}	28.64±0.43 ^{bc}	2.03±0.05 ^a	3.33±0.57 ^{bc}	6.19±0.09 ^a	18.00±0.00 ^{ab}

Los resultados se informan como la media ± la desviación estándar (n=3). Diferentes letras en la misma fila indican una diferencia significativa.

6.8. Análisis microbiológicos del helado.

Para la elaboración de los alimentos, una de las reglas principales es cumplir con normas de higiene, calidad e inocuidad. Se procura salvaguardar la integridad de los consumidores al cumplir con normas que permitan la elaboración de productos de manera segura, tal es el caso de las buenas prácticas de manufactura. De igual forma se toma en consideración dentro de la inocuidad alimentaria, que los microorganismos que se encuentran omnipresentes en el ambiente tengan un límite de acuerdo con el alimento a analizar, nuevamente la norma oficial mexicana NOM-243-SSA1-2010, nos marca la pauta de los análisis microbiológicos a llevar a cabo, así como los límites permitidos de cada uno.

De acuerdo con la NOM, los análisis obligatorios son mesófilos aerobios, coliformes totales y mohos y levaduras; todos estos pondrán en evidencia las condiciones higiénicas de trabajo, la correcta aplicación de los procesos térmicos, así como el mantenimiento del producto bajo la temperatura de congelación correcta. En la Figura 19 se muestran las placas de los análisis microbiológicos llevados a cabo, en donde en la primera fila se muestran los análisis de microorganismos mesófilos aerobios, en la segunda fila, los coliformes totales, y por último los análisis de mohos y levaduras.

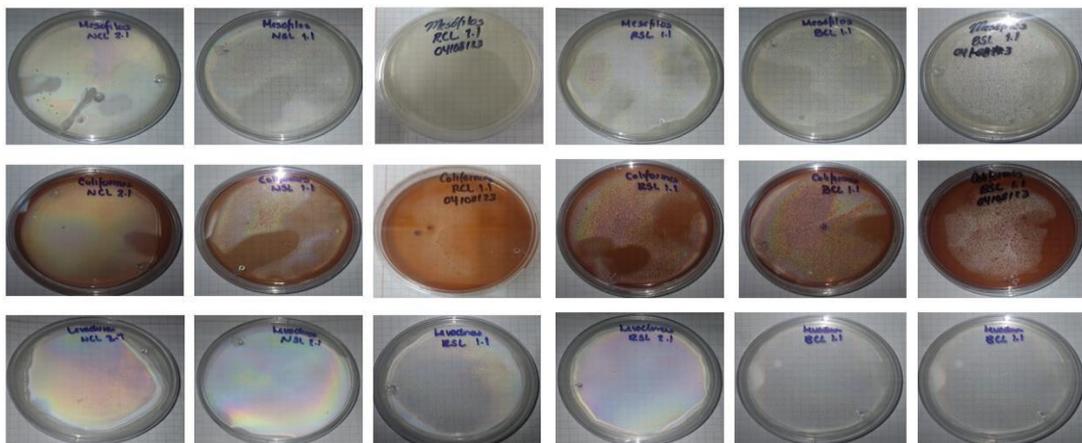


Figura 19. Análisis microbiológicos: a) NCL, b) NSL, c) RCL, d) RSL, e) BCL, f) BSL; primera fila: mesófilos aerobios, segunda fila: coliformes totales; tercera fila: mohos y levaduras.

Lo establecido por la NOM-243-SSA1-2010 es que, los mesófilos aerobios no sobrepasen de 200,000 ufc/g, de coliformes el límite lo marca como 100 fc/g y para mohos y levaduras, el límite se establece como de 500 ufc/g.

Haciendo la comparativa de lo que marca la NOM, con respecto a lo que se obtuvo en los análisis, todas las formulaciones fueron aptas para ser consumidas en los análisis sensoriales.

6.9 Análisis tecno-funcionales del helado.

Los helados son productos que cuentan con aspectos funcionales muy específicos, debido a la complejidad de la matriz. Es necesario que, para determinar la calidad del helado, se lleven a cabo estos análisis.

Tabla 8. Resultados de los análisis microbiológicos de los helados

Formulaciones/Análisis	Mesófilos aerobios (ufc/g)	Coliformes totales (ufc/g)	Mohos y levaduras (ufc/g)
Normal en grasa con lactulosa (NCL)	20	10	No crecimiento
Normal en grasa sin lactulosa (NSL)	No crecimiento	No crecimiento	No crecimiento
Reducido en grasa con lactulosa (RCL)	10	20	No crecimiento
Reducido en grasa sin lactulosa (RSL)	100	No crecimiento	No crecimiento
Bajo en grasa con lactulosa (BCL)	40	10	No crecimiento
Bajo en grasa sin lactulosa (BSL)	20	10	No crecimiento

Los resultados se informan como la media \pm la desviación estándar (n=3).

6.9.1 Análisis de aireado.

Durante la preparación del helado, el aireado es creado por la incorporación del aire en la mezcla para mejorar el volumen del producto. Los emulsificantes, la grasa y la proteína en estado descongelado causan la estabilización del aire por la formación de una capa fina de interfase con agua (Syed *et al.*, 2018).

En la Tabla 9, observamos los resultados de aireado de las formulaciones de helados recién elaborados, en ellas apreciamos que el helado con mayor aireado fue el reducido, tanto con lactulosa, como sin lactulosa con porcentajes de 31.48 y uno de 32.06 respectivamente, en segundo lugar, tenemos los helados que tienen formulaciones bajas en grasa con lactulosa y bajo en grasa sin lactulosa con 28.03 y 26.76 respectivamente y por últimos, los helados con cantidad normal de grasa; ambos se encuentran en el 21 % de aireado.

Al parecer se podría deducir que en las condiciones experimentales en donde hubo reducción de cantidad de grasa, ésta fue compensada por la adición de lactulosa, así como de los sólidos de jarabe de maíz; probablemente compensando la estabilidad de las burbujas durante y después del punto de congelación, aun cuando se reduce la cantidad de sólidos (Pintor *et al.*; 2017).

Tabla 9. Valores de porcentaje de aireado del helado

Helado	Porcentaje de aireado (%)
Bajo en grasa con lactulosa (BCL)	28.03 ± 0.34 ^a
Bajo en grasa sin lactulosa (BSL)	26.76 ± 0.71 ^a
Reducido en grasa con lactulosa (RCL)	31.48 ± 0.46 ^b
Reducido en grasa sin lactulosa (RSL)	32.06 ± 0.18 ^{bc}
Control grasa con lactulosa (NCL)	21.46 ± 0.95 ^d
Control grasa sin lactulosa (NSL)	20.95 ± 0.27 ^{de}

Los resultados se informan como la media ± la desviación estándar (n=3). Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias significativas. Durante 50 minutos de aireado

6.9.2 Análisis de resistencia al derretimiento

El derretimiento permite evaluar la retención de la consistencia en el helado; se estima que en promedio un consumidor mexicano tarda en comer una porción de helado en alrededor de 30 minutos, en la Figura 20, se muestra el avance en el derretimiento de las 6 formulaciones a través del tiempo; observamos que a los 30 minutos, el helado con mayor derretimiento fue el de la formulación de grasa en porcentaje normal (control) sin la adición de lactulosa, con casi un 18% de derretimiento, mientras que el de menor porcentaje fue el de su homólogo pero con adición de lactulosa con un 2% , también aquellos helados que tuvieron menor tasa de derretimiento fueron los de reducido en grasa con lactulosa y sin lactulosa así como el bajo en grasa con lactulosa. Las propiedades de derretimiento son influenciadas por tres componentes estructurales, el hielo, el aire y la grasa; ya que la grasa se redujo, se adiciona la lactulosa con el fin de compensar solutos que mejorarán la tasa de derretimiento. Esto se relaciona con el porcentaje de aireado, ya que el efecto que tienen las burbujas sobre la transferencia de calor al alimento permite que sirvan como aislante, evitando el paso del calor y por ende el derretimiento del producto. La grasa es de suma importancia en la estabilización de la burbuja de aire adicionada al helado ya que, forma una especie de capa sobre la burbuja lo cual impide su coalescencia, así que, si bien la lactulosa no puede llevar a cabo este efecto, coadyuva a la grasa presente a estabilizar a las burbujas de aire presente (Miller & Hartel, 1996).

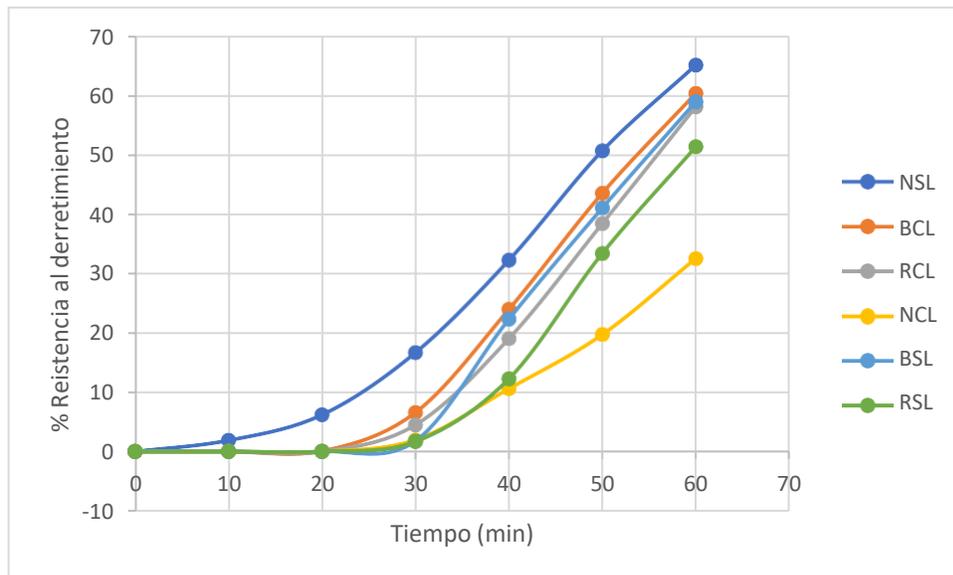


Figura 20. Porcentaje de resistencia al derretimiento de los helados durante 60 minutos.

Los resultados se informan como la media \pm la desviación estándar (n=3).

6.9.3 Análisis de dureza del helado.

La dureza del helado se mide como la resistencia del helado a deformarse cuando una fuerza externa es aplicada. Puede estar influenciada por muchos factores tales como: el aireado, el tamaño de los cristales de hielo, el volumen de la fase de hielo y la desestabilización de la grasa (Muse & Hartel, 2004). Los azúcares también pueden disminuir la dureza de los helados, coadyuvan en la determinación del tamaño final de los cristales de hielo, modificando el contenido de agua disponible en el sistema.

Para los helados elaborados, se ocupó una gran cantidad de carbohidratos que pudieron tener sobre la fase continua el efecto mencionado anteriormente tal como se muestra en la Figura 21,; se tienen sólidos de jarabe de maíz 40 DE, lactulosa, azúcar en mayor cantidad para los helados bajos en grasa (23%), a diferencia de los helados reducidos (22%) y el helado control (20%). Estas cantidades sobre los helados disminuyeron su punto de congelación, promoviendo así la formación de

cristales de hielo a temperaturas más bajas. Así con esta información obtenemos que los helados con menor cantidad de sólidos tuvieron mayor dureza como los helados control (normal), seguidos por los helados reducidos en grasa y por último los menos duros fueron los helados bajos en grasa.

Por otra parte, otro de los efectos que podemos observar entre las mismas formulaciones es que todas aquellas en donde sí hay lactulosa, disminuyen la dureza a diferencia de aquellas formulaciones en donde no hay presencia de lactulosa.

La depresión del punto de congelación se debe al número de moléculas de endulzantes (lactulosa + sólidos de jarabe de maíz + sacarosa), que depende del peso de los endulzantes que se encuentran en el helado (Mullan, 2018).

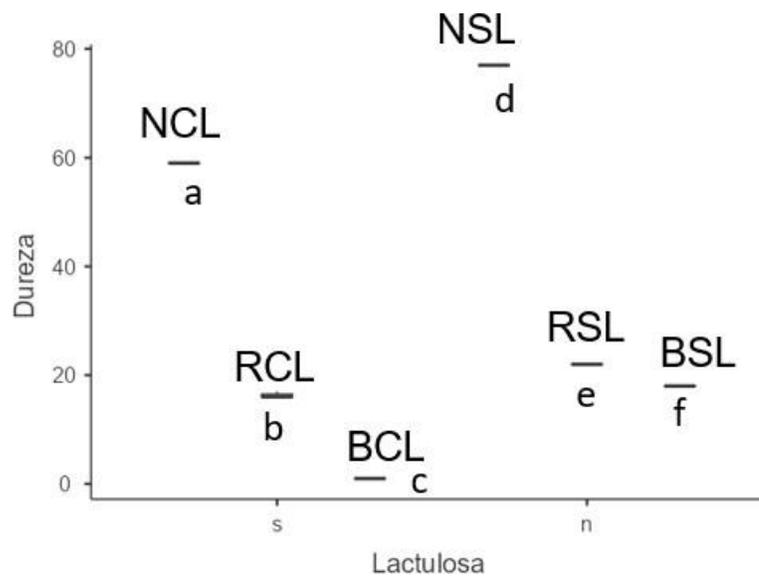


Figura 21. Dureza de helados formulados. Donde: NCL= control en grasa con lactulosa, RCL= reducido en grasa con lactulosa, BCL= bajo en grasa con lactulosa, NSL= control en grasa sin lactulosa, RSL= reducido en grasa sin lactulosa y BSL= bajo en grasa sin lactulosa. Los resultados se informan como la media \pm la desviación estándar (n=3).

6.10 Análisis de vida de anaquel sensorial

Para cualquier producto alimenticio del mercado, es importante el determinar su vida útil, si bien, hay países que no requieren de esta estimación, es importante considerar que esta información no solo nos permite saber cuánto tiempo puedo tener este alimento en mi cocina, también nos permite adentrarnos un poco más en entender, que existen cambios que ocurren constantemente, pero en esta fecha, tales cambios son perceptibles y probablemente no sean satisfactorios para el consumidor (Goff, 2018). Para esta prueba se eligió el helado bajo en grasa con lactulosa (BCL), que no tuvo diferencia significativa con respecto a los helados control en cuanto a ninguno de los criterios sensoriales evaluados.

Los helados, son productos que normalmente por someterse a un almacenamiento en congelado, puede llegar a durar mucho tiempo, sin embargo; es necesario decir que aún así pudiese llegar a presentar cambios, tal es el cambio en acidez y pH (Goff, 2018).

Es muy común que los alimentos que se someten a cadena de frío no sean del todo transportados o manejados bajo esta premisa; hay ocasiones que el producto puede llegar a sufrir alteraciones de temperatura que permitan el crecimiento de microorganismos. La congelación si bien puede servir como medio para inactivar microorganismos, también es necesario mencionar que simplemente puede mantenerlos en estado de latencia hasta que por fin puedan crecer bajo las condiciones de pérdida de la cadena de frío.

Es por esto que una medida para saber si hay crecimiento de bacterias ácido lácticas en el helado almacenado durante mucho tiempo es la acidez y pH. Así en la Figura 22, se muestran las gráficas en donde podemos ver cómo aumenta la acidez de 18 a 20°D, mientras el pH disminuye de 6.2 a 5.97

Estos cambios los podemos adjudicar a la pérdida de la cadena de frío en el almacenamiento, ya que constantemente durante el periodo de 45 días hubo

apagones en la Universidad que fomentaron daños en los equipos o mal funcionamiento.

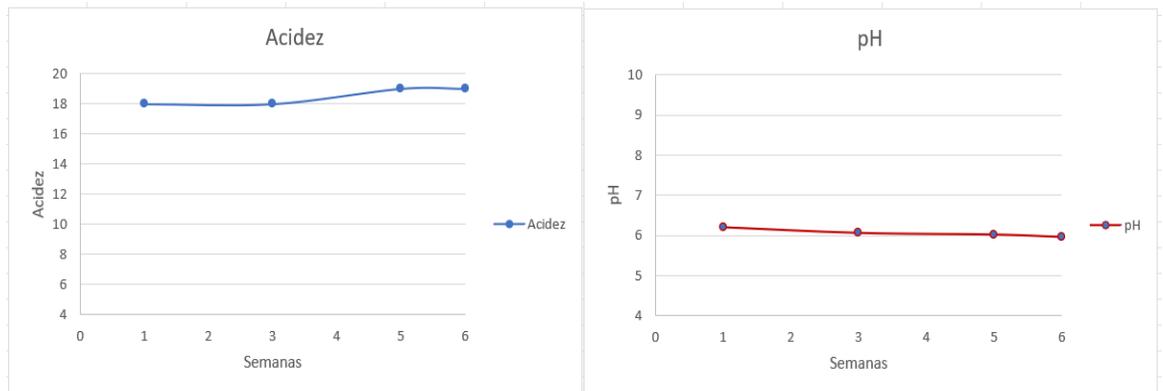


Figura 22. Gráficas de pH y acidez durante 6 semanas del helado en congelación a -18°C de la formulación baja en grasa con lactulosa (BCL).

Los resultados de cada punto en la gráfica se presentan como el promedio de tres réplicas

Los cambios vistos en este helado concuerdan con la literatura en donde de igual forma obtienen comportamientos similares.

También para esta parte se hizo una única prueba sensorial en donde se evaluaron las muestras de las semanas en las que se mantuvo en congelación el helado, que fueron 6.

En ellas nuevamente el panelista evaluó criterios como el olor, color, sabor, textura y gusto en general a través de las seis semanas de duración de la vida de anaquel dando los siguientes resultados.

En la Figura 23 se pueden apreciar 4 distintos rubros, los cuales se evaluaron en escala hedónica del 1 al 9, siendo el 9= me gusta mucho. La gran mayoría de evaluaciones en el rubro de olor por parte de los panelistas osciló de entre 6 y por encima de 7.5, sin embargo, para la cuarta semana se observaron calificaciones por

debajo de 5, lo cual indicaba que los panelistas comenzaban a denotar cambios en el helado.

Para el apartado de color, todas las semanas fueron evaluadas con calificaciones de entre 6 y por encima del 7.5, lo cual nos indica que al menos durante las seis semanas de almacenamiento, no hubo cambios perceptibles en el color del helado.

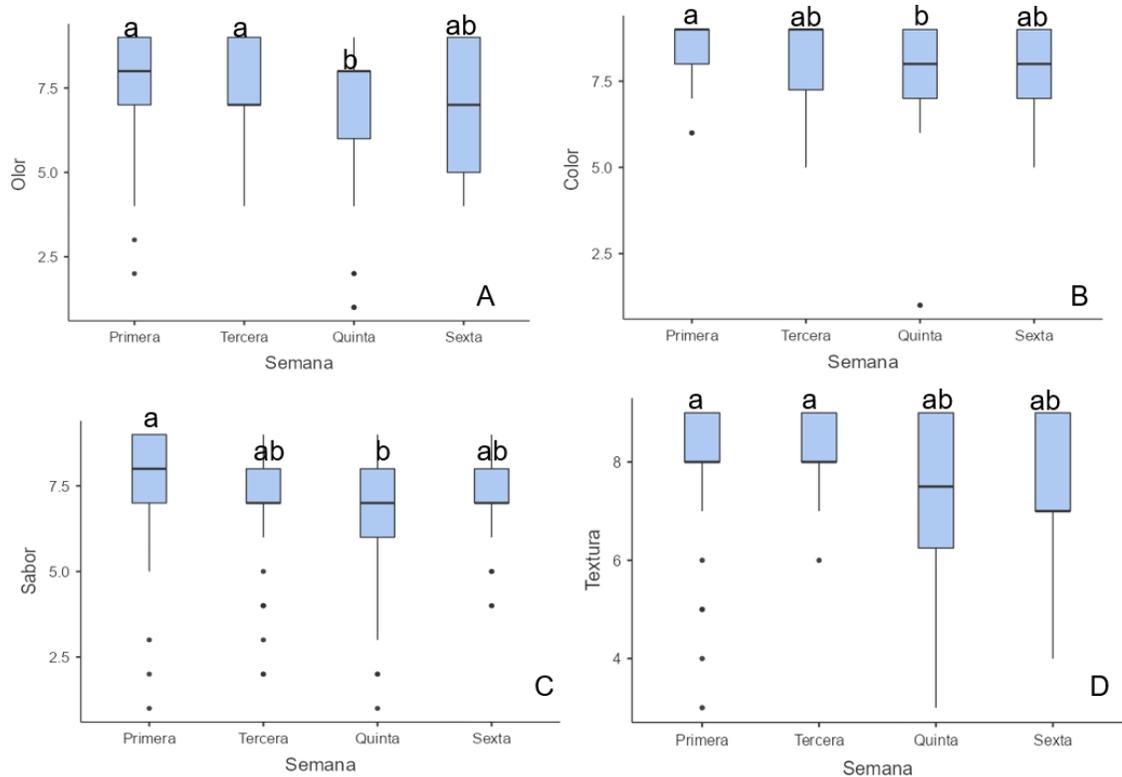


Figura 23. Gráficos de la evaluación sensorial de vida de anaquel: A) olor, B) color, C) sabor y D) textura de la formulación baja en grasa con lactulosa (BCL).

Los resultados se presentan como el promedio (n=50) de 50 réplicas. Diferentes letras representan diferencias significativas.

Para el apartado de sabor se puede observar que las calificaciones se signaron entre 6 y por encima de 7.5, lo cual nos indica que el helado era de aceptabilidad moderada para el paladar del panelista, esto se debió al resabio que provocó el stevia sobre el producto.

En el rubro de textura en general del helado, podemos apreciar que nuevamente hubo disparidad de aceptabilidad en la quinta semana del helado hoy lo cual nos indica que para este entonces los panelistas apreciaron un cambio significativo en la textura, pudiéndose deber a la formación de cristales de hielo generados con mayor rapidez al haber cambios abruptos en la cadena de frío del producto.

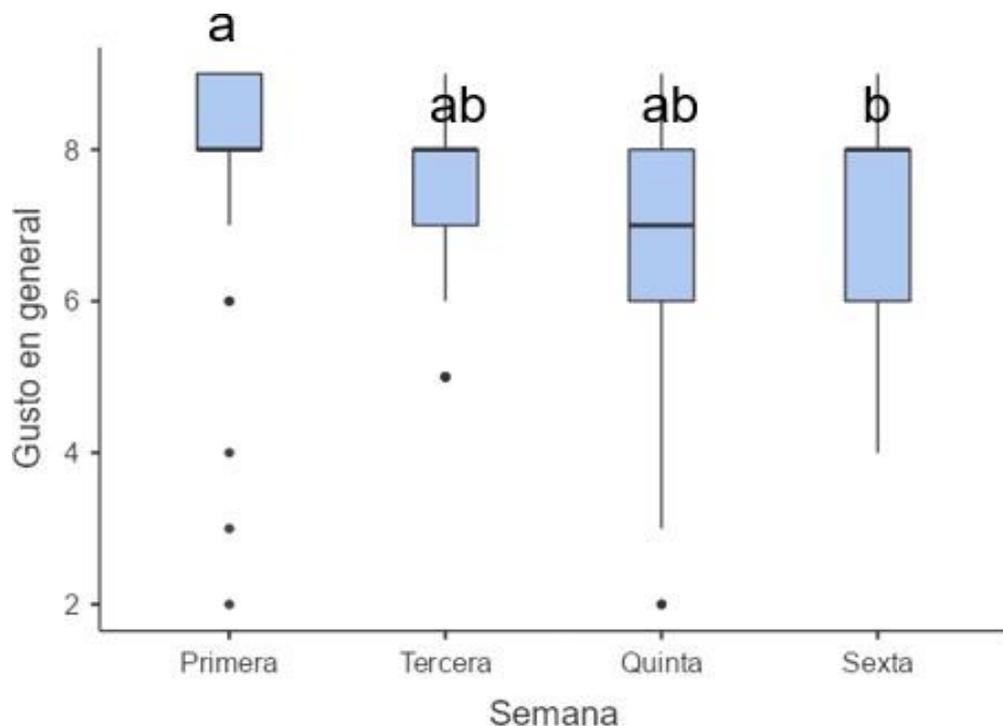


Figura 24. Diagrama de cajas de la vida de anaquel sensorial del helado bajo en grasa con lactulosa (BCL), evaluando de forma general el helado.

Los resultados se presentan como el promedio (n=50) de 50 réplicas. Diferentes letras representan diferencias significativas.

Sin embargo, para el apartado de gusto en general del helado Figura 24, puede apreciarse que, con el paso de las semanas, los panelistas comienzan a observar y sentir las diferencias con respecto al helado de menor vida de anaquel. Dentro de los comentarios hechos por los panelistas, mencionaron que la presencia de los

cristales de hielo era más evidente en algunas de las muestras que en otras. De acuerdo con Goff, 2018; el crecimiento de los cristales de hielo es inevitable en los helados, es decir, este efecto se dará definitivamente en el helado conforme vaya pasando el tiempo; sin embargo, este efecto puede hacerse notorio cuando hay cambio de temperatura involucrados en el.

7 CONCLUSIONES

El incremento de la intensidad de corriente propicia condiciones alcalinas de reacción en el sistema de electrólisis utilizando el permeado de suero lácteo, lo cual favorece la isomerización de lactosa a lactulosa, sin embargo, no promueve un elevado rendimiento de la obtención de este último.

Un electrodo con mayor área de superficie de contacto con la solución, permitirá una mayor obtención del rendimiento de lactulosa.

El uso de sulfato de sodio mejora la conductividad en la celda de electro-activación evitando la resistencia del sistema e incrementando la producción de lactulosa.

La sustitución parcial de la grasa por la lactulosa en el helado, promueve un helado con aceptabilidad sensorial pero se debe tomar en cuenta que no termina de cumplir las funciones de la grasa en un 100%.

La lactulosa adicionada en el helado permitió potencializar algunas características tecno-funcionales en el helado tales como la resistencia al derretimiento, el aireado y la textura, sin embargo; estos hechos no solo deben atribuirse a la lactulosa per se, sino que la lactulosa en interacción con demás macromoléculas permitieron estas características.

La lactulosa en el helado permite brindar características sensoriales agradables al paladar que pueden ser empleadas para la elaboración de más productos.

El rendimiento de lactulosa obtenido a partir de los parámetros de 400 mA por un periodo de 30 minutos fue de un 17%, lo cual es un rendimiento bajo en comparativa con la literatura consultada. Esto nos indica que se tienen que seguir buscando modificaciones en la celda que permitan incrementar esta concentración, comenzando por el tipo de electrodo y su área de uso.

8 REFERENCIAS

Adebola O, Corcoran O; Morgan W. Synbiotics: the impact of potential prebiotics inulin, lactulose and lactobionic acid on the survival and growth of lactobacilli probiotics. *J. Funct. Foods.* **2014**; 10: 75-84.

Aissa A, Mohammed A. Lactose isomerization into lactulose in an electro-activation reactor and high-performance liquid chromatography (HPLC) monitoring of the process. *J. Food Eng.* **2013**; 119.1: 115-124.

Aissa A, Mohammed A. Lactulose: production and use in functional food, medical and pharmaceutical applications. Practical and critical review. *International Journal of Food Science and Technology.* **2014**; 49: 12545-1253.

Ahasanul K, Mohammed A. Production of prebiotic lactulose through isomerization of lactose as a part of integrated approach through whey and whey permeate complete valorisation: A review. *Int. Dairy J.* **2021**; 126:1-14

Ahmed M, Imae T. Graphene-based nanolayers toward energy storage device. *Nanolayer Research.* **2017**: 353-389.

Aider M, Giménez-Vidal M. Lactulose synthesis by electro-isomerization of lactose: Effect of lactose concentration and electric current density. *Innov. Food Sci. Emerg Technol.* **2012**;16: 163-170

Aider M, Gnatko E, Benali M, Plutakhin G, Kastyuchik A. Electro-activated aqueous solutions: theory and application in the food industry and biotechnology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* **2012b**; 15: 38-49.

Akbari M, Hadi M, Davoudi Z. Application and functions of fat replacers in low- fat ice cream: A review. *Trends in Food Sci. and Technology.* **2019**; 86: 34-40

Alamprese C, Foschino R, Rossi M, Pompei C, Savani L. Survival of *Lactobacillus johnsonii* La 1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations. *Int. Dairy J.* **2002**; 12: 201-208

Alves A, Santos J, Faria W, Nascimento E, Lanzarin M, Siquiera P, Barros W. Development, characterization, and shelf-life of lactose-free artisan ice cream produced with different bases. *Soc. Dev.* **2021**; 10: e3210912712-e3210912712.

Arcia P, Costell E, Tárrega A. Inulin blend as prebiotic and fat replacer in dairy desserts: optimization by response surface methodology. *J. Dairy Sci.* **2011**; 94: 2192-2200.

Arslaner A, Salık M. Functional Ice Cream Technology. *Akademik Gıda.* **2020**; 18: 180-189

Barbosa R, Waleska C, Cavalcanti T, Santos T, Fonseca L, Miguez da Rocha M, Conte C. Feasibility of utilising ricota cheese whey in chocolate ice cream. *Braz. J. Dev.* **2020**; 6:90865-90883

Barrionuevo M, Carrasco J, Cravero B, Ramón A. Formulación de un helado dietético sabor arándano con características prebióticas. *Revista Dieta.* **2011**; 29: 23-24

Belhamidi S, Larif M, Achatei A, Habziz S, Zouhri N, Rafiq M, Elmidaoui A. Recovery and purification of whey with the concentration, reincorporation and reuse Protein and Lactose. *J Mats Environ Sci.* **2015**; 6: 861-868.

Crawford E. High consumer awareness and interest in gut health in Mexico creates opportunities for prebiotics. [*monografía en internet*]. Crawley: William Reed, 2018[consultado 2022 marzo 18]. Disponible en: https://www.foodnavigator-latam.com/Article/2018/10/10/High-consumer-awareness-and-interest-in-gut-health-in-Mexico-creates-opportunities-for-prebiotics?utm_source=copyright&utm_medium=OnSite&utm_campaign=copyright

Curulli A. Electrochemical Biosensors in Food Safety: Challenges and Perspectives. *Molecules*. **2021**; 26: 2940.

Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, Seifan M, Mohkam M, Masoumi, S, Berenjian A, Ghasemi Y. Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods*. **2019**; 8.3: 1-27

Deosarkar S, Kalyankar S, Pawshe R, Khedkar C. Ice composition and health effects.

Djoub A, Aider M. Effect of drying temperatura on the antioxidant capacity of a cathodic electro-activated whey permeate. *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2019b**; 7: 5111-5121

Djouab A, Aider M. Whey permeate integral valorisation via in situ conversion of lactose into lactulose in an electro-activation reactor modulated by anion and cation exchange membranas. *Int. Dairy J.* **2018**; 89: 6-20

Druliolle H, Kokoh K, Hahn F, Lamy C, Beden B. On some mechanistic aspects of the electrochemical oxidation of lactose at platinum and gold electrodes in alkaline médium. *J. Electroanal. Chem.* **1997**; 426: 103-115.

Durham R, Hourigan J. Waste management and co-product recovery in dairy processing. En: Waldron K, Ed. *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*. Cambridge: Woodhead Publishing, **2007**: 332-387

Dorohovich A, Dorohovich V, Kambulova J. The study of the reological properties of pectin gels with mono and disaccharides. *Eureka: Life sciences*. **2016**; 4:14-19

Hart F. 1991. *Análisis moderno de los alimentos*; Acribia. Zaragoza, España.

El-Nagar G, Clowes G, Tudorica C, Kuri V, Brennan C. Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. *Int. J. Dairy Technol.* **2002**; 55:89-93

Ellefson W. Fat análisis. En: Nielsen S, Ed. *Food analysis*. Mason: Springer, **2017**:299-314.

Erkkilaa A. Sarkkinen E, Lehto S, Pyörälä K, Uusitupa M. Dietary associates of serum total, LDL, and HDL cholesterol and triglycerides in patients with coronary heart disease. *Prev. Med.* **1999**; 28: 558-565.

García-Villafuerte R. Consumo de helado en México creció un 8% en 2019; la industria trabaja para adaptarse a las tendencias. [*monografía en internet*]. Madrid: Editorial Ecoprensa, 2020 [*consultado 2022 marzo 18*]. Disponible en: <https://www.economistaamerica.com/consumo-eAm-mx/noticias/10367254/02/20/Como-es-el-consumo-de-helado-en-Mexico.html>

Figuroa I, Poclava E, Cravero B, Millán M. Utilización de fitoesteroles en la formulación de un helado de leche de cabra. *Revista Dieta.* **2013**; 31:13-18.

Forbes Advertorial. Helados Holanda, orgullo dulcemente mexicano. [*monografía en internet*]. México: Editorial Forbes Advertorial, 2020. [*consultado 2022 junio 13*]. Disponible en: <https://www.forbes.com.mx/forbes-100-marcas-mexicanas-helados-holanda-orgullo-dulcemente-mexicano/>

Goff D. The structure and properties of ice cream and frozen desserts. En: Melton L, Shahidi F, Varelis P, Ed. *Encyclopedia of food chemistry*. Cambridge: Elsevier, **2018**:1-8

Gupta C, Prakash D. Therapeutic potential of milk whey. *Beverages*, 2017; 31:1-14

Haralampu SG, Saguy I, Karel M. Estimation of Arrhenius model parameters using three least squares methods. *J. Food Process Preserv.* **1985**; 9:129-143.

Miller T, Hartel R. Ice recrystallization in ice cream: interactions between sweeteners and stabilizers. *J. Dairy Sci.* **1996**: 80: 1-10

Hashemi M, Reza-Gheisari H, Shekarforoush S. Preparation and evaluation of low-calorie functional ice cream containing inulin, lactulose and *Bifidobacterium lactis*. *Int. J. Dairy Technol.* **2014**;67:1-7

Hassan J, Ibtisam M. Effect of vanilla, baobab (*Adanosonia digitata*) and papaya (*Carica papaya*) fruits on the microbiological and sensory properties of camel milk ice cream. *Ann; Food Sci. Technol.* **2020**; 21: 326 - 337.

Hough, Guillermo. Sensory shelf life estimation of food products. Boca Ratón. Crc Press, **2010**: 83-111

Hyeyoung L, Cuthbertson D, Otter D Barile D. Rapid screening of bovine milk oligosaccharides in a whey permeate product and domestic animal by accurate mass database and tandem mass spectral library. *J. Agric Food Chem.* **2016**; 64: 6364 – 6374.

Karahan T, Tuohy M, Janssen-van-Solingen. Low dose lactulose as prebiotic for improved gut health and enhanced mineral absorption. *Front. Nutr.* **2021**; 8:1-15

Kareb O, Champagne C, Aider M. Contribution to the production of lactulose-rich whey by in situ electro-isomerization of lactose and effect on whey proteins after electro-activation as confirmed by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight-mass spectrometry and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Dairy Sci.* **2016**; 99.4: 2552-2570.

Lavelli V, Beccalli P. Cheese whey recycling in the perspective of the circular economy: Modeling processes and the supply chain to design the involvement of the small and medium enterprises. *Trends in Food Science and Technology.* **2022**; 126: 86-98.

Lebesi D, Tzia C. Staling of cereal bran enriched cakes and the effect of an endoxylanase enzyme on the physicochemical and sensorial characteristics. *J Food Sci.* **2011**; 76: S380-S387

Machado A, Gorrochotegui L, Cárdenas A. Lactic acid separation from fermented whey using electrodialysis. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia.* **2007**; 30: 56-63.

Martins N, Oliveira B, Ferreira I. Development of functional dairy foods. En: Mérillon J, Ed. Bioactive molecules in food. Suiza: Springer, **2019**:1-19

Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. Sensory evaluation techniques. 2da. edición. Boca Raton: CRC Press, **1991**: 1-376.

Núñez Abraham. Características del packaging para marcas de helados en México. [*monografía en internet*]. México: Blue cactus, 2023 [*consultado 2023 agosto 29*]. Disponible en: <https://www.blucactus.com.mx/packaging-para-marcas-de-helados-en-mexico/>

Momen S, Alavi F, Aider M. Impacto of alkaline electro-activation treatment on physicochemical and functional properties of sweet whey. Food Chem. **2022**; 30.

Muhammad J, Martin M, Aider M. Impact of the drying mode and ageing time on sugar profiles and antioxidant capacity of electroactivated sweet whey. Int. Dairy J. **2018**; 80: 17-25

Mullan M. Controlling the hardness of ice cream, gelato and similar frozen desserts. Food Sci. and Tech. **2018**: 1-7.

Muse M, Hartel R. Ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. J. Dairy Sci. **2004**; 87: 1 – 10.

Nooshkam M, Babazadeh A, Jooyandeh H. Lactulose: preoperties, techno-functional food applications, and food grade delivery system. Trends Food Sci. Technol. **2018**; 80:23-34

O'Donague L, Murphy E. Nondairy food applications of whey and milk permeates: Direct and indirect uses. Comprehensive reviews in food science and food safety. **2023**; 22: 2652-2677

Osorio- Gozález C, Sandoval-Salas F, Hernández-Rosas F, Hidalgo-Contreras J, Gómez -Merina F, Ávalos-delaCruz D. Agroproductividad. **2018**; 11: 101-106

Park J, Koh J, Kim J. Predicting shelf-life of ice cream by accelerated conditions. Korean journal for food science of animal resources, **2018**; 38:1216.

Playne M, Bennett L, Smithers G. Functional dairy foods and ingredients. Aust. J. Dairy Technol. **2003**; 85:242-264

Prindiville E, Marshall R, Heymann H. Effect of milk fat, cocoa butter, and whey protein fat replacers on the sensory properties of lowfat and nonfat chocolate ice cream. J. Dairy Sci. **2000**; 83: 2216-2223.

Purchas R. Tenderness measurement. En: Dikeman M, Devine C, Ed. Encyclopedia of meat sciences. Oxford: Academic Press, **2014**: 452-459

Roberfroid B. What is beneficial for health? The concept of functional food. Food and Chemical Toxicology. **1999**; 37: 1039-1041.

Rosa M, Carmo R, Balthazar C, Guimaraes J, Esmerino E, Freitas M, Cruz A. Dairy products with prebiotics: An overview of the health benefits, technological and sensory properties. Int. Dairy J. **2021**; 117: 105009

Ruszkowski J, Witkowski J Lactulose: patient-and dose-dependent prebiotic properties in humans. Anaerobe. **2019**; 59:100-106.

Singh RP. Scientific principles of shelf life evaluation. In Shelf life evaluation of foods. Springer, Boston; Man CMD, **1994**; 3-26.

SSA. NOM-051-SSA1-2010. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria. [*monografía en internet*]. Ciudad de México: Diario Oficial de la Federación, 2010 [consultado en 2022 junio 10]. Disponible en: https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4010/seeco11_C/seeco11_C.htm#:~:text=comercial%20y%20sanitaria-,NORMA%20Oficial%20Mexicana%20NOM%2D051%2DSCFI%2FSSA1%2D2010,que%20dice%3A%20Estados%20Unidos%20Mexicanos.

SSA. NOM-086-SSA1-1994. Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales. [*monografía en internet*]. Ciudad de México: Diario Oficial de la Federación, 1994 [consultado en 2022 junio 10]. Disponible en: https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4890075&fecha=26/06/1996#gsc.tab=0

SSA. NOM-092—SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. [*monografía en internet*]. Ciudad de México: Diario Oficial de la Federación, 1995 [consultado en 2022 marzo 18]. Disponible en: <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69532.pdf>

SSA. NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. [*monografía en internet*]. Ciudad de México: Diario Oficial de la Federación, 1995 [consultado en 2022 mayo 12]. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995

SSA. NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Métodos para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. [*monografía en internet*]. Ciudad de México: Diario Oficial de la Federación, 1995 [consultado en 2022 marzo 18]. Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4880115&fecha=25/08/1995

Rivera V. 2014. Elaboración de helado de leche con la utilización de tres diferentes niveles de almidón de *canna edulis yunga* (achira yunga), como agente gelificante. [*monografía en internet*]. EC. [consultado en 2022 junio 10]. Disponible en <http://dspace.esPOCH.edu.ec>

Samakradhamrongthai R, Jannu T, Supawan T, Khawsud A, Arumpa P, Renaldi G. Inulin application on the optimization of reduced-fat ice cream using response surface methodology. *Food Hydrocoll.* **2021**;119: 1-8.

Sha'rani S, Abouzari Lotf E, Ahmad A, Ibrahim A, Nasef M, Ali R. Stability and performance evaluation of ion-exchange membranes for vanadium redox flow battery. *Jurnal Teknologi*. **2016**; 78: 7-12

Soukoulis C, Chandrinou I, Tzia C. Study of the functionality of selected hydrocolloids and their blends with kappa-carrageenan on storage quality of vanilla ice cream. *Food Sci. Technol*. **2008**; 41: 1618-1827

Syed A, Anwar S, Shukat R, Zahoor T. Effects of different ingredients on texture of ice cream. *Journal of Nutritional Health and Food Engineering*. **2018**; 8: 422-435.

Szilagyi A. Digestion, absorption, metabolism, and physiological effects of lactose. En: Paques M, Lindner C, Ed. *Lactose: evolutionary role, health effects, and applications*. London: Elsevier, **2019**:49-111

Tavares T, Malcata X. Whey proteins as source of bioactive peptides against hypertension. En: Hernández-Ledesma B, Chia-Chien Hsie. *Bioactive food peptides in health and disease*. London: IntechOpen, **2013**: 75-114

Tenny K, Keenaghan M. Ohms Law. *Stat Pearls*. **2023**

Tsermoula P, Khakimov B, Holm-Nielsen J, Balling-Engelsen S. Whey- The waste stream that became more valuable than the food product. *Trends Food Sci. Technol*. **2021**; 118:230-241

Tyrl C. Acidez titulable y Ph. En: Nielsen S, Ed. *Food analysis*. Mason: Springer, **2017**:389-405.

Úmelo M, Uzoukwu A, Odimegwu E, Agunwah I, Njoku N, Alagbaoso S. proximate, Physicochemical and sensory evaluation of ice cream from blends of cow milk and tigernut (*Cyperus esculentus*) milk. *Int. J. Sci. Res. innov. technol*. **2014**;4: 63-76

Underdown J, Quail P, Smith K. Saturated fat reduction in ice cream. *Reducing Saturated Fats in Foods*, **2011**; 350–369. d

Young S. Whey products in ice cream and frozen dairy desserts. Applications Monograph [https://www.thinkusadairy.org/Documents/Custom%20Site/C3 Using%20Dairy/C3.7-Resources%20and%20Insights/03 Application%20and%20Technical%20Materials/ICECREAM_ENG.pdf] (**2007**).

Zandona E, Blazic M, Jambrak A. Whey utilisation:sustainable uses and environmental approach. Food Technol. Biotechnol.**2021**;59:147-161

Zeng K, Zhang D. Recent progress in alkaline water electrolysis for hydrogen production and applications. Progress in Energy ans Combustion Science. **2010**; 36: 307 – 326.

9 ANEXOS.

9.1 Infografía para reclutamiento de consumidores de helado.



Universidad Autónoma de Querétaro

El Posgrado de la Facultad de Química te invita a participar en un análisis sensorial de helado

Requisitos:

- Edad de 18 a 50 años
- No presentar intolerancia a la lactosa
- No presentar alergias a lácteos
- Gusto por el helado.

Interesados presentarse el día xx/xx/xxxx

Laboratorio de análisis sensorial
Parque Biotecnológico
Facultad de Química

Información de contacto:
Lourdes Pérez Tamayo
Cel 4421605596

Estudio aprobado por el Comité de Bioética y el Consejo de Investigación y Posgrado de la Facultad de Química.

9.2 Carta de consentimiento informado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



Santiago de Querétaro, Qro, a ____ de ____ del 20 ____

Carta de consentimiento informado.

Nombre del Investigador Principal: Dra Silvia Lorena Amaya Llano

Esta investigación se llevará a cabo en la Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Laboratorio de Análisis sensorial.

Título de la Investigación: “Elaboración de un helado bajo en calorías y con propiedades prebióticas por la presencia de lactulosa, obtenida a partir de la electroactivación *in situ* de lactosa proveniente de suero lácteo”

Objetivo: Evaluar distintas formulaciones de un helado para tener conocimiento sobre los aspectos sensoriales del mismo y así determinar el de mayor preferencia entre los panelistas participantes.

Los criterios de selección para los panelistas de este estudio engloban personas con edades de entre 18 a 50 años, **que no presenten intolerancia a la lactosa, alergias a alimentos lácteos, ni enfermedades asociadas al consumo de helado; se debe tener gusto en general por el helado.**

La participación consistirá en la evaluación de distintas formulaciones de helado para obtener información sobre los aspectos sensoriales como sabor, color, olor, textura y gusto en general por el producto, todo en una misma sesión de alrededor de 20 minutos. Se proveerán 6 distintas formulaciones de las cuales se harán

evaluación a cada una con los parámetros anteriormente señalados y se elegirá a la de mejor puntuación.

El posible riesgo asociado al consumo de este producto es un efecto laxante, el cual estará más expuesto a presentar aquella persona que presente sensibilidad a la lactosa y/o lactulosa

Su participación es voluntaria, anónima y confidencial; no tiene que participar forzosamente. No habrá impacto negativo alguno si decide no participar en la investigación, y no demeritará de ninguna manera la calidad de la atención que reciba en el Laboratorio de análisis sensorial.

Aclaraciones:

- a) Esta investigación ha sido revisada y aprobada por el Consejo de Investigación y Posgrado y el Comité de Bioética de la Facultad de Química, que son independientes al grupo de investigadores, para proteger sus intereses.
- b) Su decisión de participar en la presente Investigación es completamente voluntaria.
- c) En el transcurso del estudio, usted podrá solicitar información actualizada sobre la misma, al investigador responsable.
- d) La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada participante, será mantenida con estricta confidencialidad, conforme la normatividad vigente.
- e) Se le garantiza que usted recibirá respuesta a cualquier pregunta, duda o aclaración acerca de los procedimientos, riesgos, beneficios u otros asuntos relacionados con el presente estudio.
- f) Se hace de su conocimiento que existe la disponibilidad de tratamiento médico en la clínica de atención médica FarmaUAQ, solamente en el caso de sufrir daños directamente causados por la Investigación.

A través de este documento hago constar que de manera voluntaria yo:

_____, acepto participar del análisis sensorial de un helado. Estoy consciente de los posibles riesgos y asumo total responsabilidad por mis actos; también estoy consciente del uso que se dará a mis datos y resultados con respecto a la investigación y doy mi aprobación para su posterior uso en la misma.

Firma del participante _____

Firma del investigador _____

Fecha de participación _____

9.3 Hoja de evaluación sensorial.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Cuestionario de evaluación sensorial



Sexo: M__F__Otro__ Edad: ____ Fecha: _____

Instrucciones.

Frente a ti tienes un conjunto de 8 muestras de helado. Evalúa en el orden de izquierda a derecha las muestras y califica cada uno de los atributos que se te soliciten para cada una de ellas. Se asignarán puntuaciones del 1 al 9, siendo el 1= no me gusta nada y 9= me gusta mucho. Entre cada muestra comerás un pedazo de galleta y enjuagarás tu paladar con agua.

Atributos	Código	Código	Código	Código	Código	Código
		2	3	4	5	6
Sabor						
Color						
Olor						
Textura						
Gusto en general						

¿Qué helado te gustó más? _____

¿Por qué? _____

¿Estarías dispuesto a comprarlo? Sí____ No____

9.4 Formato de revocación de consentimiento.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



Santiago de Querétaro Qro a _____ de _____ del _____.

Revocación de consentimiento informado.

Mediante el presente documento yo
_____ declaro la revocación del
consentimiento informado, firmado el día _____ en el que
consentí mi participación en el análisis sensorial de un helado.

Firma del participante _____ Fecha de revocación _____

Firma del investigador _____