

UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE FORMACION PROFESIONAL DE INDUSTRIAS

ALIMENTARIAS



TESIS

Elaboración de helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla (*Passiflora lingularis*)

Para optar el título profesional de:

Ingeniero en Industrias Alimentarias

Autor:

Bach. Anadela Rocio DURAN MUCHA

Asesor:

Dr. Antonio OTAROLA GAMARRA

La Merced – Perú- 2022

UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE FORMACION PROFESIONAL DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



TESIS

Elaboración de helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla (*Passiflora lingularis*)

Sustentada y aprobada ante los miembros del jurado:

Dr. Fortunato Candelario PONCE ROSAS
PRESIDENTE

Mg. Wuelber Joel TORRES SUAREZ
MIEMBRO

Dra. Silvia María MURILLO BACA
MIEMBRO



Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Unidad de Investigación

INFORME DE ORIGINALIDAD N° 003-2022/UIFCCAA/V

La Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión ha realizado el análisis con exclusiones en el software antiplagio Turnitin Similarity, que a continuación se detalla:

Presentado por

ANADELA ROCIO DURAN MUCHA

Escuela de Formación Profesional
Industrias Alimentarias – La Merced

Tipo de trabajo

Tesis

Intitulado

Elaboración de helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla (*Passiflora lingularis*)

Asesor

Dr. Otárola Gamarra, Antonio

Índice de similitud

28%

Calificativo

APROBADO

Se adjunta al presente el reporte de evaluación del software antiplagio.

Cerro de Pasco, 22 de julio del 2022



UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

Dr. Luis A. Huanes Tovar
Director

DEDICATORIA

Esta tesis va dedicada en primer lugar a Dios por sus bendiciones a mi persona y mi familia. Dedico con mucha emoción este logro a mis padres Ruben y Velia, por sus sabios consejos y la educación brindada, a mis hermanos (as) Tania, Anderson, Sully y Alvaro ya que ellos fueron fuente de mi inspiración para mi superación y realización personal y profesional.

AGRADECIMIENTO

Especialmente agradezco a mis padres y familiares, por su apoyo y estímulo constante para lograr escalar un peldaño más en mi vida profesional.

Agradecimiento a los docentes de la Escuela Profesional de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, por brindarme sus conocimientos durante mi formación profesional. Principalmente agradezco a mi asesor de Tesis el Dr. Antonio Otarola Gamarra por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así como también haber tenido la paciencia para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis.

Agradecimiento especial a la UNCP y sus colaboradores por permitirme utilizar sus ambientes y brindarme las facilidades durante el desarrollo de esta investigación, al Mg. Luis Artica Mallqui por brindarme el apoyo científico y moral durante todo el tiempo de la ejecución de tesis.

Agradecimiento a la Ingenieros Matencio, Danitza, Dionicia, Alex y a mis amigos de la maestría por compartir sus conocimientos y brindarme motivación para seguir superándome cada día.

A todas las personas que de una u otra manera me brindaron su apoyo y aliento para culminar esta investigación.

RESUMEN

En la investigación se elaboró helados funcionales con diferentes porcentajes de bacterias probióticas (2,0, 2,5 y 3,0 %) y pulpa de granadilla (13 y 17 %). Se realizó el análisis fisicoquímico de pulpa de granadilla del cual se evaluó el contenido de sólidos solubles, pH, acidez titulable, humedad, grasa, sólidos totales, proteína, cenizas, fibra y carbohidratos. Se determinó las características microbiológicas y tecnológicas tales como Temperatura (T°) y tiempo de inoculación, T° y tiempo de maduración, T° y tiempo de batido y porcentaje de overrun. Se evaluó la viabilidad de las bacterias probióticas de los tratamientos en estudio en el día 1 y día 30 obteniendo como resultado los siguientes: T1 (5.55 – 5.12 Log UFC/g), T2 (5.86 – 5.45 Log UFC/g), T3 (6.31 – 5.92 Log UFC/g), T4 (5.01 – 4.64 Log UFC/g), T5 (5.58 – 5.18 Log UFC/g) y T6 (5.83 – 5.43 Log UFC/g); con los resultados obtenidos se procedió a realizar la evaluación sensorial en los cuales el tratamiento T3 obtuvo la mejor aceptabilidad en la mayoría de sus atributos tales como: olor, color, sabor, textura apariencia general. Con los resultados obtenidos, se evaluó la viabilidad de las bacterias probióticas con el programa Desing Expert para optimizar procesos, el cual nos mostró mediante gráficos de superficie respuesta que el mejor tratamiento es la muestra T3 (6.150 – 5.788 log UFC/g), ya que muestra el contenido adecuado de bacterias probióticas para que el producto sea considerado un alimento probiótico. Se realizó la caracterización fisicoquímica y microbiológica del producto óptimo, demostrando la calidad e inocuidad del producto.

Palabras clave: Probiótico, prebiótico, alimento funcional, pulpa de granadilla.

ABSTRACT

In the research carried out, six functional cream ice cream treatments were developed with different percentages of addition of probiotic microorganisms (2.0, 2.5 and 3.0 % depending on the amount of milk used) and granadilla pulp (13 and 17 %). The physicochemical analysis of the granadilla pulp was carried out, which was evaluated in terms of soluble solids content, pH, titratable acidity, humidity, fat, total solids, protein, ash, fiber and carbohydrates. The characteristics of the inoculation of the beneficial microorganisms were determined by adding granadilla pulp to the base mixture and the technological characteristics such as T° and inoculation time, T° and ripening time, T° and beating time and % of overrun. The beneficial microbiological characteristics of the treatments under study on day 1 and day 30 were evaluated, resulting in the following: T1 (5.55 - 5.12), T2 (5.86 - 5.45), T3 (6.31 - 5.92), T4 (5.01 - 4.64), T5 (5.58 - 5.18) and T6 (5.83 - 5.43); with the results obtained the sensory evaluation was carried out in which the T3 treatment obtained better acceptability in most of its attributes such as: smell, color, flavor, texture general appearance. With the results obtained from the six treatments where the viability of the beneficial microorganisms was evaluated, the Desing Expert program was used to optimize processes, which showed us through response surface graphics the best treatment approaching the T3 treatment (6,150 - 5,788 log CFU/gr), since it shows the acceptable microorganism content for the product to be considered a probiotic food. The physical-chemical and microbiological (pathogens) characterization of the optimal product was performed, demonstrating the quality and safety of the product.

Keywords: probiotic, prebiotic, functional food, passion fruit pulp.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos funcionales forman una línea muy benéfica para la sociedad dentro de la alimentación, hoy en día las personas presentan diversas patologías relacionadas con el sistema digestivo debido a la alteración de la flora microbiana benéfica en la microbiota intestinal, las causas por las que sucede son diversas tales como la edad, el tipo de alimentación, ingesta de antibióticos, variables psicológicas, etc.

Los microorganismos probióticos son “microorganismos vivos que ejercen una acción benéfica sobre la salud del huésped al ser administrados en cantidades adecuadas”, también se puede considerar que “Son alimentos susceptibles de producir un efecto benéfico sobre una o varias funciones específicas en el organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales, de mejorar el estado de salud y de bienestar y/o de reducir el riesgo de una enfermedad”

Los alimentos prebióticos son ingredientes alimenticios no digeribles de los alimentos que afectan de manera positiva al huésped, estimulando de forma selectiva el crecimiento y/o la actividad metabólica de un número limitado de cepas de bacterias colónicas. Estos compuestos se caracterizan por ser moléculas de gran tamaño que no pueden ser digeridas por las enzimas digestivas del tracto gastrointestinal alto, alcanzando el intestino grueso donde son degradados por la microflora bacteriana, principalmente por las Bifidobacterias y Lactobacilos, generando de esta forma una biomasa bacteriana saludable y un pH óptimo.

Este trabajo de investigación se desarrolló en gran medida porque actualmente existe la tendencia por el consumo de productos funcionales, los helados son una vía para poder incorporar microorganismos probióticos y alimentos prebióticos, debido a que este producto es consumido por la mayoría de las personas independientemente de las edades que estos tengan y de preferencia en los periodos de calor.

INDICE

DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	
INDICE	

CAPITULO I

PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Identificación y determinación del problema	1
1.2. Delimitación de la investigación.....	2
1.3. Formulacion del problema	2
1.3.1. Problema general	2
1.3.2. Problemas específicos	2
1.4. Formulacion de objetivos	3
1.4.1. Objetivo general	3
1.4.2. Objetivos específicos.....	3
1.5. Justificacion de la investigacion	3
1.6. Limitaciones de la investigación.....	5

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio	6
2.2. Bases teóricas – científicas	10
2.3. Definición de términos básicos.....	36
2.4. Formulación de hipótesis.....	38
2.4.1. Hipótesis general	38
2.4.2. Hipótesis específicas.....	38
2.5. Identificación de variables.....	39
2.6. Definición operacional de variables e indicadores	39

CAPITULO III

METODOLOGÍA Y TECNICAS DE INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación.....	42
---------------------------------	----

3.2. Nivel de investigación	42
3.3. Métodos de investigación	42
3.4. Diseño de investigación	48
3.5. Población y muestra.....	50
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	51
3.7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	54
3.8. Selección, validación y confiabilidad de los instrumentos de investigación	54
3.9. Tratamiento estadístico	55
3.10. Orientación ética filosofica y epistémica.....	55

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Descripción del trabajo de campo.....	56
4.2. Presentación, análisis e interpretación de resultados	57
4.3. Prueba de hipótesis	73
4.4. Discusión de resultados	73

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la granadilla.....	17
Tabla 2: Composición nutricional de la granadilla (<i>Passiflora ligularis</i>)	18
Tabla 3: Principales especies microbianas utilizadas como probiótico	22
Tabla 4. Productos prebióticos comerciales y empresas elaboradoras	32
Tabla 5 : Formulaciones de los tratamientos	49
Tabla 6. Tratamientos en estudio.....	49
Tabla 7. Análisis físico químico de la pulpa de granadilla	57
Tabla 8: Características fisicoquímicas inicial de los helados.....	58
Tabla 9: Características fisicoquímicas final	59
Tabla 10: Características del proceso	59
Tabla 11: Análisis microbiológico de microorganismos probióticas (día 1 y día 30)	60
Tabla 12. Resultados de la prueba de normalidad.	60
Tabla 13. Resultados de la Prueba de Kruskal wallis con variables de agrupación de las sustituciones.....	63
Tabla 14. Rangos de Kruskal-Wallis para la evaluación de olor, sabor, color, textura y apariencia general.	63
Tabla 15: Características fisicoquímicas inicial del producto óptimo	71
Tabla 16: Características fisicoquímicas final del producto óptimo.....	71
Tabla 17: Análisis microbiológico de microorganismos probióticas (día 1 y día 30)	71
Tabla 18: Análisis químico proximal del producto óptimo	72
Tabla 19: Análisis microbiológico del producto óptimo	734

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Efectos beneficiosos de los prebióticos.....	24
Figura 2. Beneficio de los OND prebióticos.....	31
Figura 3: Etapas en el desarrollo de un prebiótico.....	35
Figura 4: Diagrama para obtención de pulpa de granadilla.	454
Figura 5: Diagrama para elaboración de helados de crema.	465
Figura 6: Diseño experimental.....	49
Figura 7: Datos de tratamientos en estudio.....	66
Figura 8. Optimización de la acidez de los helados.....	67
Figura 9. Optimización del pH de los helados.....	68
Figura 10. Optimización de los sólidos solubles de los helados.....	69
Figura 11. Viabilidad de los probióticos.....	69
Figura 12. Datos de un producto óptimo	70

CAPITULO I

PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA

El estilo de vida que llevan las personas es el principal responsable de las enfermedades que se presentan en el ser humano, hoy en día muchas personas buscan satisfacer sus gustos alimenticios o momentos de refrigerio con productos conocidos como chatarra, estos productos distorsionan una alimentación sana. Los helados son productos considerados como refrescante, son apreciados por consumidores de todas las edades, condiciones sociales y su consumo se incrementa cada año.

El helado es un producto con un alto poder calórico, tiene diferentes presentaciones tales como son los helados de sorbete, helados de crema, helados de leche, etc. Muchas veces este tipo de alimentos traen enfermedades como obesidad, diabetes u otros ya que contienen, colorantes, saborizantes artificiales y una carga elevada de azúcares que no poseen ningún aporte nutricional para las personas. Por

este motivo se desea elaborar un helado funcional de crema utilizando microorganismos probióticos y pulpa de granadilla.

Los microorganismos probióticos son necesarios para el correcto funcionamiento de nuestro sistema digestivo, sintetizando muchos componentes de estructura compleja a su forma más simple, para facilitar la absorción de los nutrientes por el organismo. El zumo de granadilla tiene monosacáridos (fructosa, glucosa) y disacáridos (sacarosa), además cumple la función de prebióticos, que brinda una fuente de nutrientes de alta calidad para el desarrollo de los microorganismos probióticos (López et al., 2006).

1.2. DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La tesis desarrollada, es del área de ciencia y tecnología de los alimentos, comprende las líneas de biotecnología, refrigeración, microbiología de alimentos y líneas complementarias.

1.3. FORMULACION DEL PROBLEMA

1.3.1. Problema general

¿Cuáles serán las características de la incorporación de bacterias probióticas y pulpa de granadilla en la elaboración de helados funcionales con crema de leche?

1.3.2. Problemas específicos

- ¿Cuáles serán las características tecnológicas de los helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla?

- ¿Cómo serán las características fisicoquímicas y microbiológicas de los helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla?
- ¿Cuáles serán las características sensoriales de los helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla?

1.4. FORMULACION DE OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

Evaluar las características de la incorporación de bacterias probióticas en elaboración de helados funcionales con crema de leche y pulpa de granadilla.

1.4.2. Objetivos específicos

- Establecer las características tecnológicas de los helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla.
- Evaluar las características fisicoquímicas y microbiológicas de los helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla.
- Determinar las características sensoriales de los helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla.

1.5. JUSTIFICACION DE LA INVESTIGACION

Según Ranadheera (2010), menciona que: anteriormente los probióticos utilizados en los alimentos se agregaban principalmente como parte del proceso de fermentación. Sin embargo, cada vez se agregan más como suplementos. Además, también hay una tendencia creciente en el uso de probióticos como “nutracéuticos”, los cuales están disponibles de varias formas, como cápsulas. Esta tendencia puede

llevar a una disminución de la eficacia funcional debido a la exclusión del potencial efecto sinérgico de los alimentos. Los alimentos que promueven el crecimiento de bacterias favorables se conocen como prebióticos, los cuales son lactulosa, galactooligosacaridos, inulina, fructooligosacaridos y otros carbohidratos. Es evidente el potencial efecto sinérgico que existe cuando se combinan adecuadamente probióticos y prebióticos, porque los prebióticos promueven el crecimiento y la actividad de los probióticos.

Los ingredientes de algunos productos alimenticios pueden contener prebióticos de manera natural que ayudan a mejorar la eficacia funcional de los probióticos. Además tenemos a los productos lácteos, carnes, cereales, bebidas y formulas infantiles que pueden ser fortificadas con prebióticos durante el proceso de fabricación para incrementar el nivel de eficacia del probiótico (Gibson, 2004).

El fruto de la granadilla se cultiva en gran extensión en los alrededores de la Selva Central, los lugares de mayor producción son Tarma, Monobamba, San Ramon, Vitoc, Oxapampa y otros lugares cercanos a La Merced, de este modo se desea aprovechar la materia prima debido a que es un fruto muy saludable que está compuesto por diferentes componentes nutricionales, los más resaltantes los tipos de azúcares fructosa, glucosa y sacarosa, además son considerados prebióticos y sirven para el desarrollo de los microorganismos probióticos que estarán presentes en los helados funcionales de crema de leche que se desea elaborar, además posee cantidad considerable de fibras (López et al., 2006).

Los helados son productos refrescantes, con un elevado dulzor de un sabor agradable, lo podemos encontrar en el mercado en diferentes presentaciones, tamaños, sabores, colores y precios accesibles, el consumo de este producto es masivo ya que todas las personas en algún momento desean saborearlo. Con la incorporación de los microorganismos probióticos y el zumo de granadilla como prebiótico harán que el helado sea considerado un producto funcional con un alto valor nutricional beneficioso para la salud.

1.6. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

Las limitaciones encontradas para el desarrollo de esta investigación fueron: La UNDAC, Filial la Merced, no cuenta con materiales, instrumentos y equipos de laboratorio para realizar análisis fisicoquímicos y microbiológicos de alimentos, en tal sentido se solicitó el servicio de los laboratorios de facultad de Industrias alimentarias de la UNCP.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE ESTUDIO

Singh & Maloo, (2018), en la investigación “Enriquecimiento de un helado probiótico con harina de plátano verde prebiótico (almidón resistente) “, analizaron las propiedades físicas, nutricionales y organolépticas del helado probiótico enriquecido con harina de plátano verde. De la evaluación realizada concluyo, que la transformación de plátano verde en harina decrece las pérdidas posteriores a la cosecha y también se utiliza efectivamente para desarrollar helados probióticos funcionales ricos en fibra y almidón resistente. En tal sentido podría ser utilizado como una excelente fuente de fibra dietética o componente prebiótico para la fabricación de helados simbiótico con elevadas propiedades nutricionales y funcionales. El tratamiento que contiene helado enriquecido con harina de plátano verde al nivel de 4 % fue seleccionado con mayor puntuación sensorial para la aceptabilidad general por los evaluadores.

Golestani & Pourahmad, (2017), en la investigación “Comparación de tres tratamientos (dos tratamientos fermentados y un tratamiento no fermentado) en la producción de helado simbiótico” menciona que la adición de leche fermentada puede suponer un aumento importante en la supervivencia de las bacterias probióticas en el helado simbiótico. La incorporación de bacterias probióticas en la mezcla de helados modifica las propiedades organolépticas de los helados simbióticos mientras que la utilización de leche fermentada no afectó negativamente a las características sensoriales del producto. En la muestra producida por la leche fermentada, las bacterias probióticas mostraron una importante supervivencia al final de la producción y también a las 16 semanas de almacenamiento (6,854 log ufc / ml). Este número de células viables se encuentra dentro del rango recomendado por la International Dairy Feratión (10^{-6} - 10^{-7} cfu / g). El número inicial de bacterias probióticas se utiliza para producir leche fermentada, por lo tanto, la producción simbiótica de helados es rentable y además podría extenderse a una escala industrial.

Açu, Kinik, & Yerlikaya, (2017), en la investigación “propiedades funcionales de un helado probiótico de leche de cabra” se preparó un helado delicioso y saludable con mayores beneficios para la salud, mediante la adición de diversos alimentos con propiedades funcionales. En consecuencia, la leche de cabra, leche en polvo, sahlep, tagatosa, Litesse polidextrosa Ultra (como prebióticos), *Lactobacillus paracasei* subesp., *Bifidobacterium longum* + *Bifidobacterium bifidum* (como cultivos probióticos), salsa de frambuesa y mora se utilizaron para la producción de helado. Durante la producción del helado, las proporciones de todos los ingredientes estaban

fijos, excepto la salsa de frutas. En el estudio, se produjeron tres tipos de helado, es decir, muestra control, muestra que contiene frambuesa comercial y salsas zarzamora y muestra que contiene salsa de frambuesas producido a partir de frambuesas congeladas. Encontraron que la fortificación con salsa de frutas tuvo un efecto significativo. sobre la grasa, proteína, la acidez titulable, pH, ceniza, sacarosa, velocidad de fusión, color, fenoles totales, antocianidina, el contenido de flavonoides y la capacidad antioxidante ($p < 0,05$). A la luz de los resultados obtenidos, se cree que nuestro estudio fue importante en términos de proporcionar alternativa deliciosa y funcional.

Chiquetti et al. (2016), en el estudio realizado “Viabilidad del *Lactobacillus acidophilus* probiótico La-5 en los helados: efecto de la hidrólisis de lactosa y overrun” Se evidencio que el helado es una matriz excelente para la entrega de *Lactobacillus acidophilus* La-5, con una población suficiente para ser clasificados como alimento probiótico, sin protección contra la toxicidad del oxígeno. La hidrólisis de la lactosa no influyó en la viabilidad de este microorganismo en los productos. Sin embargo, este proceso contribuyó a la obtención de un helado funcional que podría ser consumido por personas con intolerancia a este hidrato de carbono, teniendo en cuenta los diversos grados de deficiencia de lactasa para cada individuo.

Hernández, Guerra, Pedroso, & Pérez, (2014), evaluó el “Desarrollo de un helado de leche con cultivos probióticos” tuvieron como objetivo desarrollar un helado de leche con cultivos probióticos con buena viabilidad y aceptabilidad utilizando las cepas de *Lactobacillus plantarum* LB/103-1-5, *Lactobacillus casei*, y *Lactobacillus acidophilus*. Como materias primas se utilizaron: leche entera en polvo,

edulcorante, pasta finigel y los cultivos referidos. El helado se desarrolló por el método tradicional con una dosis de cultivo del 20 %. Las variables respuesta en el helado fueron: la viabilidad de los microorganismos, el pH, la acidez y la aceptabilidad del producto. Se obtuvo un producto con una calificación de me gusta y una viabilidad en el intervalo de log (ufc/mL) entre 10,25 a 8,53, destacándose el *L. plantarum*. Las mejores variantes de mezclas de helados fueron las elaboradas con el cultivo *Lactobacillus plantarum* y la mezcla de los cultivos *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus plantarum*.

Según Lafranqui, (2013), señala que el “Desarrollo de un helado de crema con adición de cultivos probióticos”; dada la importancia que ejercen los microorganismos probióticos respecto a sus efectos benéficos sobre la salud tanto animal como humana, esta investigación se enfocó en desarrollar un helado de crema con la adición de una mezcla de cultivos probióticos garantizando que el mismo presente buenas propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales y que sea económicamente viable. Este trabajo tuvo lugar en la UEB “Helados Coppelia” perteneciente a la Empresa de Productos Lácteos Coppelia. El diseño experimental empleado, fue mediante el método de adición de los cultivos a la mezcla base, realizándose corridas experimentales con 10, 15 y 20 % de cultivo probióticos (*Bifidobacterium bifidum* 741 y *Bifidobacterium breve* V₀) en relación 1:1. Los indicadores medidos fueron: acidez, pH, viscosidad, grasa, sólidos totales y la viabilidad de las cepas inoculadas. El helado, fue almacenado durante 45 días a temperaturas que oscilaron entre los -25 y -30 °C. Según los resultados sensoriales, se rechazó la muestra del 15 % quedando las correspondientes al 10 y 20 % de cultivos las cuales mantuvieron buenas

características organolépticas evaluándolas como "me gusta mucho" y "me gusta" respectivamente. La viabilidad de los microorganismos en la formulación con el 10 % de cultivo presentó valores de 7,72 log ufc/mL para una vida de anaquel de 30 días; mientras que la formulación con el 20 %, mantuvo una viabilidad de 7,0 log ufc/mL hasta los 45 días. De manera general, las mezclas presentaron una buena aceptabilidad, una viabilidad de los microorganismos inoculados por encima del mínimo terapéutico permisible (107 ufc/mL) para una vida de anaquel del producto de 30 y 45 días respectivamente con un valor de producción aceptable.

2.2. BASES TEÓRICAS – CIENTÍFICAS

2.2.1. Helados

Son productos alimenticios que cambian estado sólido o pastoso por medio de la congelación, elaborado con dos o más de los ingredientes. Los cuales son los siguientes: leche o productos lácteos en sus diferentes formas, grasa de leche, grasas vegetales deodorizadas, edulcorantes permitidos, huevos, agua, jugos y pulpa de fruta, frutas, chocolates, nueces y/o productos similares, aditivos permitidos y otros, (INDECOPI, 2006).

a. Tipos de helados

Según Eras, (2013), agrupa a los helados de la siguiente manera:

- **Helados de crema:** tienen de 7 a 10 % de grasa, 6 a 8 % de sólidos no grasos, 20 a 32 % de sólidos totales de leche y una inoculación de aire de alrededor del 100% del volumen de la mezcla.

- **Helados de leche:** poseen de 2,5 % de grasa de leche, 5 % de sólidos no grasos de la leche, 12 % y 27 % de sólidos totales y una adición de aire de 100 % del total de la mezcla.
- **Helados de agua: granizados y sorbetes; son alimentos congelados, procesados con agua, fruta, color y sabor entre otros. En la composición debe de tener como mínimo** de 20 % de extracto seco y un límite máximo de 1,5 % de materia grasa de leche.
- **Helados de yogurt:** pueden tener fruta. Además de 3 a 6 % de grasa, de 10 a 12 % de sólidos no grasos, de 11 a 20 % de azúcar, y un aproximado de 70 % de agua.
- **Helados dietéticos:** se caracterizan por tener un aporte mínimo de calorías; aproximadamente de 14,4 % de azúcar; 9,6 % de jarabe o miel; 73 % de agua y 3 % de fructosa. También pueden tener pulpa de fruta en distintos grados.

b. Helados de crema

Según Madrid y Cenzano, (2003), el ingrediente básico es la nata o crema de leche, por lo que su contenido en grasa de origen lácteo es más elevado que en el resto de los helados. La nata, es un producto con un nivel alto en materia grasa (18 a 55 %). Además, este tipo de helados contiene azúcar, aire (que se incorpora durante el batido), espesantes, etc. Su composición estándar es:

- **Azúcar:** es la principal fuente de energía de los seres vivos. La glucosa se utiliza en la fabricación de helados y contribuye en reducir el punto al cual se realiza la congelación de la mezcla (Madrid y Cenzano, 2003).

- **Grasas:** compuesto de carbono, hidrogeno y oxígeno, con preponderancia del hidrogeno: en su combustión producen mayor número de calorías que los hidratos de carbono (Madrid & Cenzano, 2003).
- **Sólidos no grasos lácteos (SNGL):** Timm et al., (1989), informa que los sólidos no grasos de leche al helado para que obtengan una textura más firme y un cuerpo más cremoso y esponjoso, y con mayor volumen. Si utilizan en poca cantidad se debilita la estructura del helado, si el uso es excesivo se vuelve arenoso, debido a esto es necesario realizar un balance de sólidos en la mezcla. Los SNGL están compuestos por proteínas (mayormente caseína), lactosa y sales minerales (calcio, potasio, fósforo, magnesio, hierro, etc.).
- **Agua y aire:** Timm et al., (1989), El agua es responsable del carácter refrescante del producto, es el disolvente de los ingredientes hidrosolubles (azúcares, proteínas, sales, ácidos, sustancias aromáticas) y determina la consistencia del helado de acuerdo con la propagación del agua congelada. El agua se encuentra repartida en forma de cristales de hielo en una matriz, también contiene agua líquida. El número y las proporciones de los cristales de hielo determinan esencialmente la consistencia del helado.
- **Estabilizantes o agentes espesantes:** Walstra et al., (2001), menciona a la gelatina, alginato, carragenano, pectina, goma locust, goma guar, xantano, carboximetilcelulosa y sus mezclas. claramente, estas sustancias influyen sobre la consistencia y por tanto, en muchos otros aspectos, como en la transferencia de calor durante la congelación. Cuando los glóbulos grasos no se aglomeran mucho en los helados de bajo contenido de grasa, los agentes espesantes imparten la

dureza necesaria y limitan una excesiva maduración en las burbujas de aire; además pueden producir una textura demasiado gomosa.

- **Emulsionantes:** Walstra et al., (2001), informa que no desempeñan un papel importante en la formación de la espuma. Actúan favoreciendo la agresión de los glóbulos grasos. Entre los más utilizados la yema de huevo, monoglicéridos, ésteres de poli (oxietileno), sorbetón (Tweens), y ésteres de ácido cítrico y monoglicéridos.

c. Características de los helados

Según Eras, (2013), el helado perfecto es aquel que muestra sabor agradable y característico, posee una textura uniforme y las propiedades de fusión adecuadas junto a un color apropiado, bajo contenido bacteriano y con una presentación atractivo. En el helado se pueden definir los siguientes términos:

- **Cuerpo:** incluimos aquí todos los elementos de la mezcla del helado (sólidos, líquidos, aromas, aire que incorpora, etc.). un helado debe ser consistente, pero no demasiado duro, resistente a la fusión y debe proveer una agradable sensación al llenar la boca.
- **Color:** el cliente, en primera instancia, “come con los ojos”. Lo más importante del color debe ser su intensidad; esto es algo relativo, dependiendo del gusto de los clientes, pero el color debe ser homogéneo y por supuesto, relativo al sabor.
- **Textura:** El conjunto de componentes debe de proporcionar una estructura cremosa, ligera y suave.
- **Olor:** es propio de cada fruta o mezcla, lo más importante debe ser que la fragancia que emitan los helados sea compatible a los ingredientes o materias primas usadas

para su elaboración, es importante usar ingredientes en condiciones inocuas, esto aumentara la aceptación del producto.

- **Sabor:** Cada componente de la mezcla tienen un sabor único. En una mezcla no debe predominar ningún sabor especial. Entre los sabores de los ingredientes básicos, deben formar un aroma que produzca una agradable sensación al paladar y resaltar el sabor con el que se desea saborizar.

d. Tecnología de proceso del helado

- **Pasteurización:** según Madrid, (1996), la pasteurización su característica es la destrucción de microorganismos patógenos que pueden producir intoxicaciones o transmitir enfermedades. La pasteurización de los helados es a 83 – 85 °C durante 15 a 20 segundos.
- **Homogenización:** según Madrid y Cenzano, (2003), el propósito de la homogenización es desintegrar y dividir finamente los glóbulos de grasa en la mezcla con objeto de conseguir una suspensión permanente, evitando que las grasas se separen del resto de los componentes y asciendan hacia la superficie por su menor peso. Cuando un glóbulo de grasa no ha sido homogenizado tiene un diámetro medio de 3 a 4 micras, si esta homogenizada los glóbulos pueden reducirse hasta un diámetro medio de 0,3 a 0,4 micras, un décimo de su diámetro inicial.
- **Maduración:** según Nielsen, (2000); los objetivos de la maduración son los siguientes:
 - Hidratación completa de las proteínas lácteas.
 - Hidratación total del estabilizante.

- Cristalización de la grasa.

Según CEA (2001), después de enfriada la mezcla se lleva al congelador o a pequeños tanques donde se le adiciona saborizante líquido, o puede ir a los llamados “tanques de maduración”. Estos son tanques aislados para mantener la mezcla a 4,5 ° C o a temperaturas más bajas. Si la mezcla es madurada, por lo general se deja de 4 a 24 horas. En los métodos actuales de procesamiento, un periodo de maduración de 3 a 4 horas es suficiente.

- **Batido Gonzales** (2012), menciona que el siguiente proceso en la elaboración de los helados se realiza turbinando y enfriando la crema madurada a la vez que se incorpora aire. En este proceso interviene la mantecadora (batidora o freezer), que consta de un cilindro de acero inoxidable con una camisa interior que es la encargada de proporcionar el frío en el interior de la cuba, a este cilindro se ajustan unas aspas que serán las encargadas de mover la mezcla. El cilindro de la cuba, a medida que se va congelando enfría la mezcla y las aspas evitan la adherencia de esta a las paredes del cilindro, de esta manera va envolviendo la mezcla evitando que se formen cristales de hielo demasiado grandes por la presencia del agua, a la vez que va incorporando aire y se va endureciendo la mezcla logrando la textura deseada.
- **Túnel de congelación:** Di Bartolo (2005), indica que los túneles de congelación o endurecimiento son los más eficientes y permiten la rápida congelación del helado a bajas temperaturas: -25/-28°C. los productos ingresan manualmente o a través de cintas transportadoras sobre bandejas en la entrada del túnel. Luego estas bandejas ingresan al túnel y circulan dentro del mismo hasta alcanzar la salida,

generalmente en la parte posterior. Durante este trayecto el helado es sometido a temperaturas de -35 a -40°C generadas por un equipo de frío y por circulación forzada de aire, que tiene la propiedad de repartir en forma uniforme el aire frío por toda la cámara. El tiempo de endurecimiento está en función del tiempo de permanencia del helado dentro del túnel.

e. Defectos típicos en la textura del helado

Ruiz, (2017), indica que; la textura está relacionado con número y tamaño de las partículas, debe ser suave y producir una sensación agradable en la boca.

- **Áspero:** se evidencia cuando los cristales de hielo tienen un nivel sensorial detectable. Los cristales se funden en la boca.
- **Esponjoso:** el producto es escamado y se rompe con facilidad. Este defecto es causado con un excesivo overrun, gran tamaño de moléculas de aire o niveles inadecuados de estabilizantes.
- **Gomoso:** su estructura compacta y pegajosa. Es influenciado por un overrun insuficiente, alta concentración de sólidos o demasiado estabilizante.
- **Blando:** se funde rápidamente en la boca. Las causas de este defecto son: bajo contenido de sólidos totales, alto overrun, inapropiado balance entre grasa y sólidos del suero, o inadecuado nivel de estabilizantes.

2.2.2. Granadilla

Las pasifloráceas son una familia muy llamativa desde varios puntos de vista, entre los que se cuentan el económico y el ornamental. Algunas especies, como *Passiflora edulis* (maracuyá), *P. ligularis* (granadilla) y *P. mollissima* (curuba), son de importancia económica por sus frutos comestibles (Hernández & Bernal, 2000).

La granadilla, *Passiflora ligularis*, es una especie nativa de los Andes de América del Sur, desde Perú y Bolivia hasta Venezuela, y de México. Valorada por su fruto comestible y flores ornamentales, se cultiva comúnmente en las zonas altoandinas tropicales de América Central y de América del Sur. Asimismo, ha sido introducida y cultivada en la India, el este y el sureste de Asia, Australia y Nueva Zelanda y varias islas del Pacífico, (Cuya, 2018).

a. Clasificación taxonómica

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la granadilla

Clasificación taxonómica
Reino: Vegetal
Subreino: Spermatophyta
División: Angiosperma
Clase: Dicotyledonae
Subclase: Archichlamydeae
Orden: Parietales
Suborden: Flacourtiaceae
Familia: Passifloraceae
Género: <i>Passiflora</i>
Especie: <i>Lingularis</i>

Fuente: Bernal (1990).

b. Descripción taxonómica

Pertenece a la familia de las Passifloráceas, su nombre científico es *Passiflora ligularis*. El fruto es una baya de cubierta dura de forma casi esférica de 7 a 8 cm de diámetro, de corteza amarilla intensa cuando está madura, con pequeñas pintas blancas. El exocarpio es duro, firme, pero frágil ante presión o impacto; el mesocarpio es esponjoso y blando de 5 mm de espesor, mientras que el endocarpio está compuesto por una fina membrana blanca que contiene entre 200-250 semillas, recubiertas por un arilo o pulpa jugosa, transparente, dulce y aromática, de sabor agradable (Bernal, 1990).

c. Composición nutricional

La granadilla muestra un bajo nivel de calorías, alto contenido de potasio, calcio, hierro, fósforo, carotenos, vitamina A y C y fibra.

Tabla 2: Composición nutricional de la granadilla (*Passiflora ligularis*)

Factor nutricional	Contenido por 100g de fruta comestible
Calorías	46 Kcal
Agua	86 g
Proteína	1.1 g
Grasa	0.1 g
Cenizas	0.8 g
Carbohidratos	11.6 g
Fibra	0.3 g
Calcio	7 mg

Hierro	0.8 mg
Fosforo	30 mg
Vitamina C.	20 mg

Fuente: Bernal (1990)

d. Ácidos predominantes en la pulpa de granadilla

Los ácidos orgánicos son respirados, como sustrato del metabolismo primario. Su disminución es producto de su ingreso al ciclo de los ácidos tricarbóxicos para la producción de energía. Los principales ácidos orgánicos son: cítrico, málico y oxálico. El ácido mayoritario es el ácido cítrico (Melgarejo, 2015) .

e. Actividad prebiótica

Los prebióticos son sustancias de la dieta, fundamentalmente carbohidratos no digeridos por enzimas humanas, una serie de di, oligo y polisacáridos, almidones resistentes y polioles de azúcar que nutren a grupos seleccionados de microorganismos que habitan en el intestino, favoreciendo la multiplicación de bacterias benéficas y disminuyendo la población de las patógenas (Gibson & Roberfroid, 1995).

Los prebióticos tales como FOS, β - glucanos e inulina pueden ser una alternativa saludable al ser adicionados en bebidas funcionales. Los azúcares presentes en el contenido en el zumo de granadilla son: ((fructosa, glucosa y sacarosa, según López et al., (2006)). Los FOS se obtienen por síntesis enzimática a partir de sacarosa. Diferentes ensayos de fermentación in vitro utilizando cultivos puros de microorganismos o cultivos de heces humanas, así como ensayos en humanos, han puesto de manifiesto que la inulina y los FOS favorecen el crecimiento de

bifidobacterias y lactobacilos disminuyendo el de bacteroides y clostridios (Macfarlane GT, Steed & Macfarlane S., (2008).

f. Usos del fruto

Benalcazar, Canessa, Guabloche, Silva, & Peirano, (2001), indica que la granadilla se puede consumir de diferentes formas.

- fruta fresca
- ensaladas de fruta
- Jugos tropicales.
- Cócteles.
- Helados.
- Yogurt.
- Mermeladas.
- Gelatinas.

Por su parte, la flor de la granadilla, debido a su alto contenido de néctar, se utiliza en la perfumería y el polen para el consumo humano. Se utiliza además como infusión para combatir el estrés, la hipertensión, etc. En algunas regiones el jugo de las hojas se utiliza para controlar la fiebre y la tifoidea.

2.2.3. Probióticos

Los probióticos pueden definirse como microorganismos vivos (bacterias y/o levaduras) que pueden aportar beneficios para la salud a humanos o animales, por lo general mantienen y mejoran el equilibrio microbiano del intestino (Fuller, 1989; Holzapfel, 2005; Shah, 2007).

Los probióticos pueden definirse como “complementos alimenticios microbianos vivos que benefician al huésped al mejorar el metabolismo microbiano intestinal Dunne, et al (2018). Como tal los probióticos pueden consumirse como alimentos funcionales, como un producto lácteo fermentado, o un suplemento si se suministra por separado en forma de cápsula o pastilla. La finalidad de los probióticos es mejorar la tolerancia inmune intestinal a las proteínas beneficiosas y mantener una inmunidad intestinal normal, barrera y permeabilidad a antígenos exógenos extraños (Isolauri, 2018). *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las especies más comunes de bacterias utilizadas como probióticos para la producción de leches fermentadas y otros productos lácteos (McFarland & Elmer, 2005).

a. Criterios que deben cumplir los probióticos

Suárez, (2015); Granato, Branco, Cruz, Faria, & Shah, (2010) mencionan que las características deseables que deben cumplir los probióticos son las siguientes:

- Resistir las condiciones ambientales del tracto gastro intestinal (el pH gástrico, las enzimas digestivas y la acción detergente e inhibidora de las sales biliares).
- Ser capaces de adherirse al epitelio del intestino humano.
- Generar sustancias antimicrobianas, como las bacteriocinas.
- Poseer buenas características de crecimiento y efectos beneficiosos sobre la salud humana.
- Ser seguros y no patógenos y, por ello, haber sido reconocidos como organismos GRAS (Generally Recognized as Safe) y QPS (Qualified Presumption of Safety) por la Food and Drug Administration de los EEUU y la European Food Safety Authority, respectivamente.

- No presentar resistencias transmisibles a antibióticos.
- Resultar viables durante el procesamiento y el almacenamiento.
- Sobre todo, que existan ensayos clínicos que certifiquen que las expectativas derivadas de sus buenas propiedades in vitro se cumplen tras su administración a voluntarios humanos.

b. Microorganismos utilizados comúnmente como probióticos

El papel de la flora intestinal en la salud ha despertado el interés por el uso de probióticos como modalidad terapéutica. En particular, cualquier componente de la microbiota de ocupación podría ser candidato a convertirse en probiótico, ya que todos ellos participan potencialmente en los beneficios que otorga el conjunto. La Tabla 3 recoge las principales especies empleadas como probióticos en humanos (Collins, Thornton y Sullivan, 1998; Granato & et al, 2010).

Tabla 3: Principales especies microbianas utilizadas como probiótico

Lactobacillus	
L. acidophilus	L. lactis
L. amylovorus	L. paracasei
L. casei	L. plantarum
L. crispatus	L. reuteri
L. fermentum	L. rhamnosus
L. gallinarum	L. salivarius
L. delbruekii spp. bulgaricus	L. thermophilus
L. gasseri	L. johnsonii

Bifidobacterium

B. adolescentis

B. infantis

B. animalis

B. lactis

B. bifidum

B. longum

B. breve

Streptococcus

S. lactis

S. salivaris

S. thermophilus

Otras Bacterias lácticas

Enterococcus faecium

Leuconostoc mesenteroides

Bacterias no ácido-lácticas

Bacillus cereus var. toyoi

Propionibacterium fredenreichii

Levaduras

Saccharomyces boulardii

Fuente: Collins & col., (1998); Granato & col., (2010)

En la práctica, los microorganismos más comúnmente estudiados se encuentran dentro de los géneros Bifidobacterium y Lactobacillus, ya que se trata probablemente de los únicos, dentro de los que colonizan nuestras mucosas, que son inocuos bajo casi cualquier circunstancia (Suárez, 2015).

c. Efectos de la ingesta de los probióticos

La OMS recomendó una reducción inmediata y drástica del uso de antibióticos en producción animal y en medicina humana. Asimismo, recomendó una segunda táctica o terapia de interferencia microbiana, basada en el uso de microorganismos no patógenos para eliminar a los que sí lo son. Es aquí donde los probióticos juegan un papel importante. La Figura 1 muestra los beneficios fisiológicos de los alimentos funcionales que contienen probióticos (Mayo, Delgado, Rodríguez y Gueimonde, 2008).

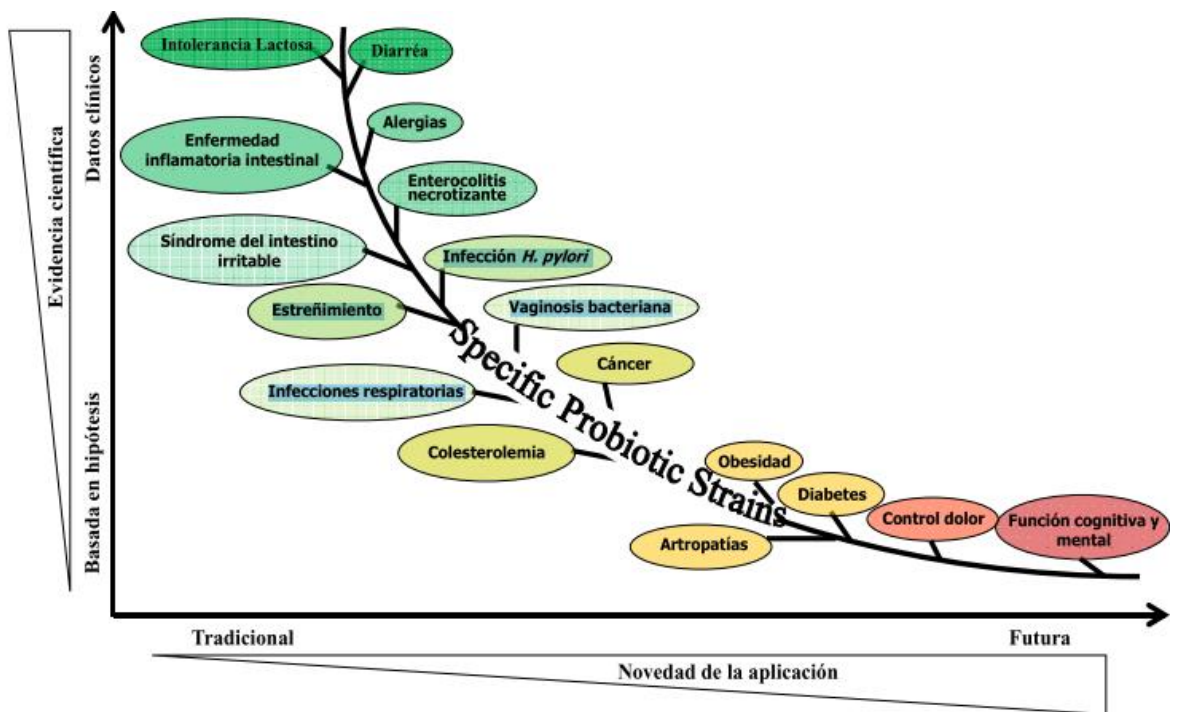


Figura 1: Efectos beneficiosos de los probióticos

Suarez, (2015) menciona que entre los beneficios asociados al consumo de organismos probióticos cabe destacar aquellos para los que hay una mayor evidencia, y que se clasifican en tres grupos:

- Reversión de sintomatologías de mala digestión. El ejemplo típico es la resolución de la intolerancia a la lactosa. Los lactobacilos la degradan e impiden así que llegue sin digerir al intestino grueso y ocasione flatulencia, distensión abdominal y diarrea, entre otros síntomas.
- Reposición de la microflora intestinal después de que la residente haya sido eliminada por cualquier causa. Los casos mejor estudiados son la reversión de las diarreas causada por tratamiento con antibióticos o por rotavirus. En este apartado también se englobaría la prevención de la vaginitis mediante la administración de lactobacilos probióticos tras un tratamiento específico con antibióticos.
- Prevención de la mastitis durante la lactancia. Recientemente, se ha demostrado que los lactobacilos administrados por vía oral pueden colonizar los conductos galactóforos e impedir así el asentamiento de bacterias indeseables.

2.2.4. Prebióticos

Hoy en día el uso de alimentos de calidad, que mejoren la salud y/o que reduzcan el riesgo de padecer enfermedades, se ha hecho popular entre los consumidores, que cada vez son más conscientes de la importancia de la alimentación en la promoción de la salud (Gómez, 2015).

El término prebiótico fue introducido por primera vez por Gibson & Roberfroid (1995) y se define como "un ingrediente alimentario no digerible que afecta beneficiosamente al huésped mediante la estimulación selectiva del crecimiento y/ o la actividad de una o de un número limitado de bacterias en el colon, mejorando así la salud del huésped". En una revisión posterior Roberfroid, et al., (2010) incidieron en la idea original, no aportando variaciones significativas. Tampoco la definición presentada por la ISAPP (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics) altera el planteamiento inicial: "un prebiótico es un ingrediente fermentado selectivamente que produce cambios específicos en la composición y/ o actividad de la microbiota Gastro intestinal, lo que confiere beneficio (s) sobre la salud del huésped".

Entre los más conocidos, para los cuales existe evidencia científica de sus propiedades en humanos, se encuentran los oligo o polisacáridos de fructosa (FOS e inulina, respectivamente), galactosa (GalOS), así como la lactulosa y los oligosacáridos de leche humana (Corzo, et al., 2015)

a. Criterios que deben cumplir los prebióticos

(Corzo & col., 2015), mencionan que para que un ingrediente o alimento pueda considerarse como prebiótico debe cumplir una serie de requisitos tales como:

- No puede ser hidrolizado ni absorbido en el TGI superior y, por tanto, debe ser resistente a la acidez gástrica y a la hidrólisis por enzimas digestivas.
- Debe favorecer el desarrollo de bacterias beneficiosas como bifidobacterias y lactobacilos, de modo que la proliferación subsiguiente de la microbiota indígena

potencie el antagonismo frente a microorganismos foráneos y contribuya a la recolonización tras, por ejemplo, un tratamiento con antibióticos.

- Debe inducir efectos fisiológicos beneficiosos para la salud del hospedador.

En términos tecnológicos, la utilización de prebióticos como ingredientes alimentarios presenta algunas ventajas con respecto a la utilización de microorganismos probióticos. No siendo ingredientes vivos, los prebióticos no van a presentar problemas de mantenimiento de viabilidad en el producto final, lo que hace posible su introducción en una gama de alimentos más amplia que en el caso de los probióticos (Manning & Gibson, 2004). De hecho, el mercado de los prebióticos ha ido creciendo de tal forma que en 2007 se contabilizaron unos 400 productos alimenticios prebióticos (Mohammadi & Mortazavian, 2011). Entre los alimentos que pueden contener prebióticos están las galletas, yogures, bebidas, barritas de cereales y productos de bollería. También se pueden encontrar formando parte de alimentos simbióticos.

b. Oligosacáridos no digeribles como prebióticos (OND)

La IUB-IUPAC (International Union of Biochemistry-International Union of Pure and Applied Chemistry) define los oligosacáridos (OS) como hidratos de carbono de entre 3 y 10 unidades, pero otros autores los consideran carbohidratos con un grado de polimerización (GP) de 2 a 20 unidades (Voragen, 1998; Manning & Gibson, 2004). Los OS se pueden clasificar desde un punto de vista fisiológico en digeribles y no digeribles (OND) (Cummings & col., 1997).

Los OND se encuentran entre los candidatos más importantes para ser utilizados como ingredientes alimentarios prebióticos. Son solubles en agua y medianamente dulces, aunque esta propiedad decrece con la longitud de la cadena (Roberfroid & Slavin, 2000). Debido a su estructura química, estos compuestos muestran resistencia a las reacciones enzimáticas que ocurren en la parte superior del TGI permitiendo que lleguen hasta el colon y se conviertan así en nutrientes para algunas especies bacterianas endógenas, las cuales son capaces de transformarlos en ácidos grasos de cadena corta AGCC, lactato, otros productos metabólicos y gases derivados de la fermentación. Aparecen como componentes naturales en muchos alimentos comunes como la fruta, legumbres, leche y miel. Sin embargo, estos alimentos no siempre se ingieren en cantidades suficientes para que los OS que se encuentran en ellos puedan ejercer efectos prebióticos. Por lo tanto, a veces, es necesaria la fortificación de alimentos, frecuentes en nuestra dieta, con este tipo de compuestos (Cardelle et al, 2009).

Entre los principales OND actualmente empleados como ingredientes alimenticios se incluyen aquellos en los que la unidad de monosacárido es fructosa, galactosa, xilosa, glucosa y/o manosa (Gibson, 1998; Otileno & Ahring, 2012). Dado que el interés en los OND ha aumentado, también lo ha hecho su oferta en el mercado. El hecho de que los polisacáridos pueden ser hidrolizados a una amplia gama de OS, hace que el número de OND disponibles para ser comercializados en un futuro cercano sea muy grande.

c. Efectos fisiológicos de los OND

La fermentación bacteriana de los OS prebióticos en el colon, puede causar, entre otros, los siguientes efectos beneficiosos para la salud:

- Alivio del estreñimiento, aumentando el número de deposiciones y, posiblemente, favoreciendo la motilidad intestinal (Das, et al, 2007).
- Inhibición de la diarrea, especialmente cuando está asociada con infecciones intestinales. Esto puede estar directamente relacionado con el posible efecto inhibitorio de las bifidobacterias sobre las bacterias gram-positivas y gram-negativas (Wang & Gibson, 1993).
- Reducción del riesgo de osteoporosis, si ciertamente mejoran la biodisponibilidad de Ca^{+2} , y si este efecto funcional es seguido por un cambio fisiológico en la densidad y masa ósea (Roberfroid y Slavin, 2000). Además del calcio, también se ha demostrado su efecto positivo sobre la absorción de otros minerales como el magnesio, hierro y zinc (Scholz-Ahrens, Schaafsma, Van den Heuvel & Schrezenmeir, 2001; Cashman, 2002).
- Reducción del riesgo de aterosclerosis (enfermedad cardiovascular asociada con dislipidemia, especialmente hipertrigliceridemia e insulina resistente), que está relacionada con un régimen de alimentación de hidratos de carbono hipercalórica (Aarsland, Chinkes & Wolfe, 1996).
- Disminución del nivel de lípidos y del colesterol en sangre, reduciendo así el riesgo de diabetes y obesidad (Mussato & Mancilha, 2007).
- Prevención de la adhesión de patógenos a la membrana epitelial del intestino. Algunos OS se unen a receptores de las bacterias patógenas y evitan así que se

adhieran al mismo azúcar en la membrana epitelial del intestino (Ouwehand, et al, 2009).

Asimismo, la absorción de AGCC, producidos durante la fermentación de los OND, influye en el metabolismo del hospedador. El acetato y el propionato intervienen en el metabolismo de carbohidratos y lípidos. El propionato reduce la gluconeogénesis hepática e inhibe la formación de urea en el hígado (Swennen et al, 2006); mientras que el acetato es un ácido que disminuye eficazmente el pH, eliminando bacterias patógenas antes de que estas produzcan metabolitos que pueden ser pre-carcinogénicos (Brandt, 2001). Por su parte, el butirato es una importante fuente de energía, así como un regulador del crecimiento y de la diferenciación de las células de la mucosa intestinal y puede tener potencial anticancerígeno y antiinflamatorio, además de desempeñar un papel en la saciedad y el estrés oxidativo (Brandt, et al, 2001). La Figura 2. Sintetiza los beneficios fisiológicos de los OND prebióticos ya expuestos anteriormente.



Figura 2. Beneficio de los OND prebióticos

A los OND también se le atribuyen efectos perjudiciales, principalmente relacionados con su ingesta excesiva, como son la producción de molestias intestinales. De esta manera, la ingesta de más de 20 g/día de Galactooligosacaridos podría provocar diarrea (Sako et al, 2006). También, la producción de gases como hidrógeno, anhídrido carbónico y metano pueden llegar a producir flatulencia e hinchazón.

d. Oligosacáridos no disponibles (OND) comerciales

Como se ha descrito anteriormente, los OND se encuentran en diferentes alimentos de forma natural. Sin embargo, también se pueden obtener en el laboratorio mediante distintos procedimientos químicos y/o biotecnológicos. Existen básicamente dos tipos de preparaciones comerciales de OND: los que se extraen de fuentes naturales donde los polisacáridos (almidón, inulina, xilano, etc.) son sometidos a procesos controlados de hidrólisis, y los que se sintetizan a partir de azúcares simples (como la sacarosa o la lactosa) a través de reacciones de transglicosilación (Crittenden et al, 2008). Estos procesos permiten obtener una amplia gama de OS que difieren en su GP y, a veces, en la posición de los enlaces glicosídicos. Sin embargo, durante la formación de los OS, también se generan en el medio monosacáridos y otros productos indeseables. Tales impurezas, son a menudo eliminadas mediante procesos de membranas con el fin de conseguir productos finales de mayor calidad que contengan OS más puros.

La Tabla 4, recoge los OND comerciales prebióticos más importantes, así como su fabricante (Martínez, 2012; Corzo y col., 2015). Algunos de los OND se encuentran bien establecidos como prebióticos a nivel mundial (FOS, GalOS o

lactulosa) y otros se consideran prebióticos emergentes, encontrándose incluso disponibles comercialmente a pesar de no haber suficientes evidencias científicas xilooligosacáridos (XOS), glucooligosacáridos (GlcOS), lactosacarosa, oligosacáridos de soja o isomaltooligosacáridos). Por último, también están los que se encuentran en fase inicial de estudio, en los cuales se buscan propiedades funcionales mejoradas; entre éstos cabe citar a los pectooligosacáridos (POS) (Corzo & col. 2015).

Tabla 4. Productos prebióticos comerciales y empresas elaboradoras

OND	Nombre comercial	Fabricante
Inulina	Raftiline	Orafti
Oligofruktosa	Raftilose	Orafti
Fructooligosacáridos	Actilight	Beghin Meiji
Galactooligosacáridos	Oligomate	Yakult
Isomaltooligosacáridos	Isomalto	Showa Sangyo
Oligosacáridos de soja	Soya-Oligo	The Calpis Food Industry Co.
Xilooligosacáridos	-	Suntory
Gentiooligosacáridos	Gentose	Nihon Shokuhin Kako
Lactulosa	Duphalac	Solvay Pharmaceuticals B.V.
Lactosacarosa	Nyuka-Origo.	Ensuiko Sugar Refining Co
Ciclodextrinas	Dexy Pearl	Ensuiko Sugar Refining Co.
Mananoligosacáridos	-.	Chengdu Yongan Pharmaceutical Co

Fuente: Martínez (2012); Corzo & col. (2015).

Es requisito previo indispensable para comercializar los OND que su eficacia y seguridad estén científicamente demostradas. Sin embargo, no se ha demostrado todavía que todos tengan capacidad prebiótica, debido, en parte, a que pueden ser parcial o totalmente digeridos por las enzimas del intestino delgado humano, por su incapacidad para promover la fermentación selectiva en el colon o por la falta de estudios concluyentes (Martínez, 2012). Ya que vivimos en un mundo en constante cambio, con grandes variaciones en los hábitos alimenticios y, por tanto, en el sistema de defensa de las personas, el estudio de las bacterias asociadas a los humanos para protegerlos de reacciones adversas y para seleccionar los prebióticos más eficaces, es un gran reto de la investigación futura (Wang, 2009).

e. Desarrollo y evaluación del efecto prebiótico

Según Corzo y col., (2015) menciona que, de acuerdo con el documento de consenso firmado por un grupo de investigadores, el desarrollo de un nuevo prebiótico ha de pasar por distintas fases que demuestren su capacidad como tal, indicándose las siguientes:

- Caracterización previa (origen, pureza, composición química y estructura) o resistencia a la digestión. Se han desarrollado modelos para comprobar la capacidad de los candidatos a prebióticos a la digestión y absorción en el tracto gastro intestinal (TGI) superior, simulando condiciones que mimeticen las condiciones fisiológicas humanas de acidez ($\text{pH} < 2$), alto contenido en enzimas gástricas y temperatura ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$).
- Fermentación. Se ha de estudiar la capacidad del prebiótico para modular la composición de la microflora intestinal (MI) y/ o para generar compuestos que

resulten beneficiosos para la salud, como los AGCC. Como se esquematiza en la Figura 3, se pueden emplear distintos modelos de fermentación. Los modelos in vitro comprenden desde sistemas de procesamiento simple (condición única) a sistemas de cultivo en continuo de varias etapas y con control de pH, capaces de simular diferentes regiones del intestino grueso, utilizando o bien cultivos puros, una mezcla definida de cultivos o inóculo fecal. Entre las principales limitaciones de esta técnica cabe citar el crecimiento de población microbiana no representativa y la dificultad para reproducir las condiciones dinámicas del colón, como por ejemplo la absorción de compuestos, las secreciones del tracto digestivo o las interacciones con células del entorno del huésped. Por otro lado, los ensayos in vitro presentan las ventajas de ser relativamente económicos, rápidos y de fácil realización. Además, permiten el seguimiento de la generación de gases y de la producción de AGCC (con la consecuente bajada de pH), proporcionando una primera información del impacto del sustrato evaluado en la composición de la MI.

- Los efectos detectados bajo condiciones in vitro deben ser posteriormente estudiados y confirmados con modelos in vivo. Los experimentos llevados a cabo con animales son de gran valor para investigar las consecuencias que una dieta controlada o un sustrato específico tienen sobre la MI y, por tanto, en el bienestar del hospedador. La principal desventaja en este caso es que la fisiología digestiva de los animales difiere de la de los humanos. Por ello, estudios con voluntarios humanos, pacientes o víctimas de muerte súbita, son la mejor manera de analizar un producto al que se le atribuye potencial prebiótico y comprobar

su impacto en la microflora intestinal y su relación con la salud. No obstante, también en este último caso existen limitaciones de carácter ético y desventajas, como son el coste o el tiempo necesario para cada investigación (Macfarlane & Macfarlane, 2007). Los datos experimentales obtenidos *in vitro* e *in vivo* en animales, así como los últimos datos obtenidos en seres humanos, confirman el papel de los OND de la dieta en los procesos fisiológicos de los diferentes tipos de células intestinales (producción de mucinas, división celular, función de las células inmunes, transporte iónico) y también en células de fuera del TGI (producción de hormonas, metabolismo de lípidos y carbohidratos) (Gullón, 2011).

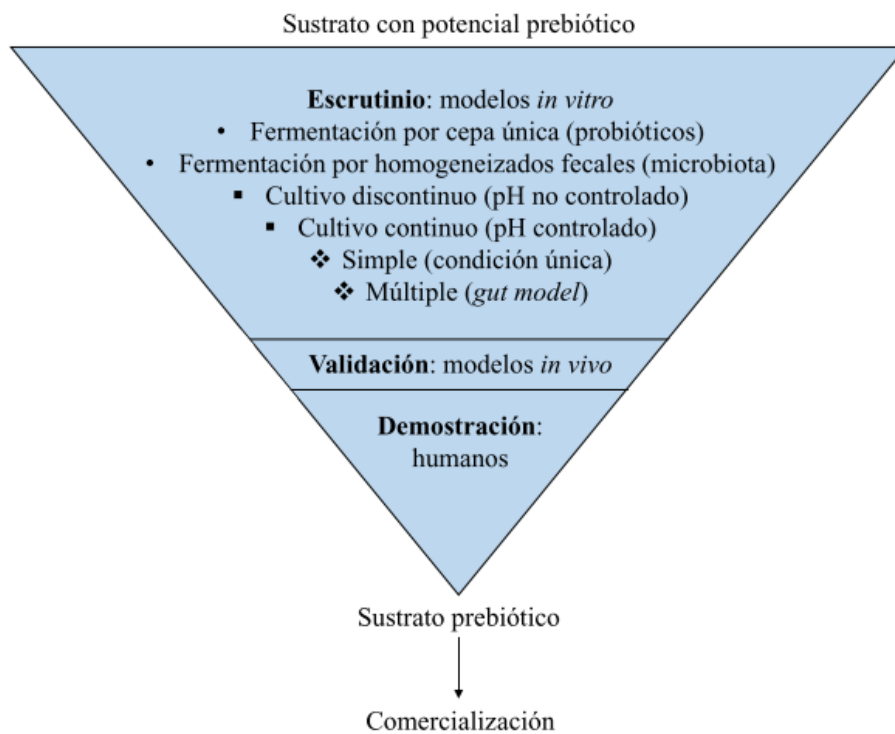


Figura 3: Etapas en el desarrollo de un prebiótico

2.2.5. Simbióticos

Gibson & Roberfroid, (1995), mencionan que los simbióticos son el resultado de la asociación de ingredientes prebióticos y microorganismos probióticos, y se definen como “mezcla de prebióticos y probióticos que afectan beneficiosamente al hospedador al mejorar la supervivencia y la implantación de microorganismos vivos en el TGI, estimular selectivamente el crecimiento y/o activar el metabolismo de una o un número limitado de bacterias que promueven la salud, mejorando así la salud del hospedador”.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- **Alimento funcional**

Los alimentos funcionales tienen un efecto benéfico y nutricional en el ser humano, en cuanto a las funciones fisiológicas del organismo pueden ser consumidos como una parte de la dieta equilibrada y acompañados de un estilo de vida saludable, además ofrecen la posibilidad de mejorar la salud o prevenir ciertas enfermedades (Lorenzo, Diofanor, & Ordoñez, 2015)

- **Microorganismos benéficos**

La aplicación de los microorganismos en la elaboración de alimentos se refiere principalmente a la fermentación, ya sea directamente e indirectamente. Cepas adecuadas, en virtud de su funcionalidad, producirán efectos beneficiosos en el sustrato del alimento y/o en el huésped humano. Se aprecia y reconoce el valor intrínseco de las cepas microbianas para diversas aplicaciones en el ecosistema de los alimentos y como recursos genéticos (FAO, 2013)

- **Fibra**

Actualmente existen diversas definiciones del término fibra. La National Academy of Sciences (NAS) y Food and Nutrition Board de los Estados Unidos, en el año 2002, definieron los términos Fibra Dietaria, Fibra Funcional y Fibra Total. Se entendió como fibra dietaria “a aquellos glúcidos no digeribles y la lignina intactos presentes en las plantas”. Por otra parte, describieron fibra funcional como “aquellos hidratos de carbono no digeribles aislados para los cuales se han acumulado evidencias de efectos fisiológicos benéficos en la salud de los seres humanos”. Y por último, a fibra total como “la suma de la fibra dietaria y la fibra funcional”. El Codex Alimentarius, en el año 2005, definió fibra dietética como “los polímeros de carbohidratos con un grado de polimerización mayor o igual a 3, que no son digeridos y/o absorbidos en el intestino delgado (Olagnero et al, 2007)

- **Prebiótico**

Algunos componentes presentes de la fibra son denominados prebióticos, definidos como ingredientes alimenticios no digeribles de los alimentos que afectan de manera positiva al huésped, estimulando de forma selectiva el crecimiento y/o la actividad metabólica de un número limitado de cepas de bacterias colónicas (Olagnero & col., 2007).

- **Leche cultivada o fermentada**

Se entiende por leche fermentada o cultivada el producto cuya fermentación se realiza con uno o varios de los siguientes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp., *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* y/u otras bacterias acidolácticas que, por su actividad, contribuyen a

la determinación de las características del producto terminado (Olagnero et al., 2007).

- **Overrum**

El overrum se define como el porcentaje de volumen de helado en relación con la mezcla líquida utilizada para fabricarlo, y está relacionado con la cantidad de aire incorporado durante el proceso de fabricación. Esta característica define la estructura del producto final, ya que la presión del aire confiere al helado una agradable textura ligera e influye en las propiedades físicas de fusión y dureza del producto final (Sofjan & Hartel, 2004).

2.4. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

2.4.1. Hipótesis general

Existen características benéficas en los helados funcionales con crema de leche por incorporación de bacterias probióticas y pulpa de granadilla durante su elaboración.

2.4.2. Hipótesis específicas

- Los helados funcionales con crema de leche por incorporación de bacterias probióticas y pulpa de granadilla poseen características tecnológicas específicas.
- Los helados funcionales con crema de leche por incorporación de bacterias probióticas y pulpa de granadilla poseen buenas características físico-químicas y microbiológicas.
- Los helados funcionales con crema de leche por incorporación de bacterias probióticas y pulpa de granadilla presenta buenas características sensoriales.

2.5. IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES

- **Variables independientes**

- Porcentaje de pulpa de granadilla

- a.1. 13 %

- a.2. 17 %

- Porcentaje de cultivo probiótico

- b.1. 2.0 %

- b.2. 2.5 %

- b.3. 3.0 %

- **Variables dependientes**

- Características fisicoquímicas

- Características microbiológicas

- Microorganismos probióticos

- Microorganismos patógenos

- Características sensoriales

2.6. DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES E INDICADORES

- **Porcentaje de pulpa de granadilla**

La pulpa de la granadilla se obtuvo del fruto de la granadilla, mediante un proceso en el cual se desarrollaron una serie de pasos para obtener un producto inocuo. En el desarrollo de la investigación se consideró a la pulpa de granadilla como una fuente de sustratos (prebiótico), los cuales se utilizaron en diferentes porcentajes para el desarrollo de los microorganismos benéficos.

• **Porcentaje de cultivo probiótico**

El cultivo probiótico empleado se obtuvo de la empresa CHR HANSEN / FD-DVS ABY-3 PROBIO-TEC, Versión: 3 PI-EU-EN 12-08-2011. La taxonomía contenía cepas de: *Bifidobacterium species*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*. Se emplearon diferentes porcentajes de cultivo probiótico de acuerdo a cada tratamiento, para determinar la viabilidad de los microorganismos empleando la pre mezcla del helados y la pulpa de granadilla como fuentes de sustrato para su desarrollo en condiciones adecuadas.

• **Características fisicoquímicas**

El análisis fisicoquímico es una variable que permite conocer el valor de cada componente fisicoquímico que se encuentre en el producto analizado. En esta variable se determinaron el contenido de pH, °Brix, acidez titulable y el análisis químico-proximal.

• **Características microbiológicas**

El análisis microbiológico nos permitió determinar el contenido de bacteria probióticas en los helados al final del proceso de elaboración y durante su almacenamiento, además se realizó el análisis de bacterias patógenas en el contenido de los helados, para garantizar su inocuidad.

• **Características sensoriales**

Son las evaluaciones que se realizaron al producto terminado, a fin de conocer sus características organolépticas; la cual se realiza con un panel de evaluadores semi entrenados, empleando una ficha para los resultados, que posteriormente es procesado estadísticamente.

- **Indicadores**

Son obtenidos por los diversos análisis realizados al producto desde la materia prima, producto en proceso y producto terminado; que permite conocer las características nutricionales y funcionales de la materia prima y producto terminado.

CAPITULO III

METODOLOGÍA Y TECNICAS DE INVESTIGACIÓN

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Para el desarrollo de esta investigación se empleó el método experimental aplicado.

3.2. NIVEL DE INVESTIGACIÓN

El nivel de investigación es descriptiva, pues reside en observar y registrar los datos cualitativos y cuantitativos

3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

3.3.1. Lugar de ejecución

Este trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de control de calidad, microbiología de los alimentos e instrumental de la facultad de ingeniería en industrias alimentaria de la Universidad Nacional del Centro del Perú. Ubicado en el distrito de Tambo, provincia de Huancayo y la región Junín.

3.3.2. Materia prima e insumos

- Leche, producido por la empresa GLORIA S.A.
- Crema de leche, producido por la empresa GLORIA S.A.
- Pulpa de granadilla, producido en el Distrito de Monobamba.
- Cultivo probiótico, producido por la empresa CHR HANSEN.
- Azúcar, producido y envasado por SUCDEN PERU S.A.
- Estabilizador (CMC)

3.3.3. Medios de cultivo

- Peptone bacteriological, OXOID
- Agar ROGOSA, p.m.: Merck
- Caldo BRILA (verde brillante-Bilis-Lactosa), p.m.: Merck
- Agar plate-Count, p.m.: Merck
- Agar patata-glucosa, p.m.: Merck

3.3.4. Reactivos

- Agua potable y destilada
- Fenolftaleína p.a.: Mallinckrodt
- Hidróxido de sodio p.a.: de Merck
- Hexano p.a.: de Merck
- Catalizador de oxidación Kjeldahl p.a. Riedel-deHaen
- Ácido sulfúrico (H₂SO₄) p.a.: de Merck
- Ácido clorhídrico (HCL) 0,1 N p.a.: de Merck
- Ácido bórico H₃BO₃ p.a.: J.T. Baker
- Indicador Rojo de metilo

- Alcohol de 96 GL.

3.3.5. Metodología

Esta tesis se desarrolló siguiendo los procesos de los diagramas de flujo que se presentan la figura 4 y 5.

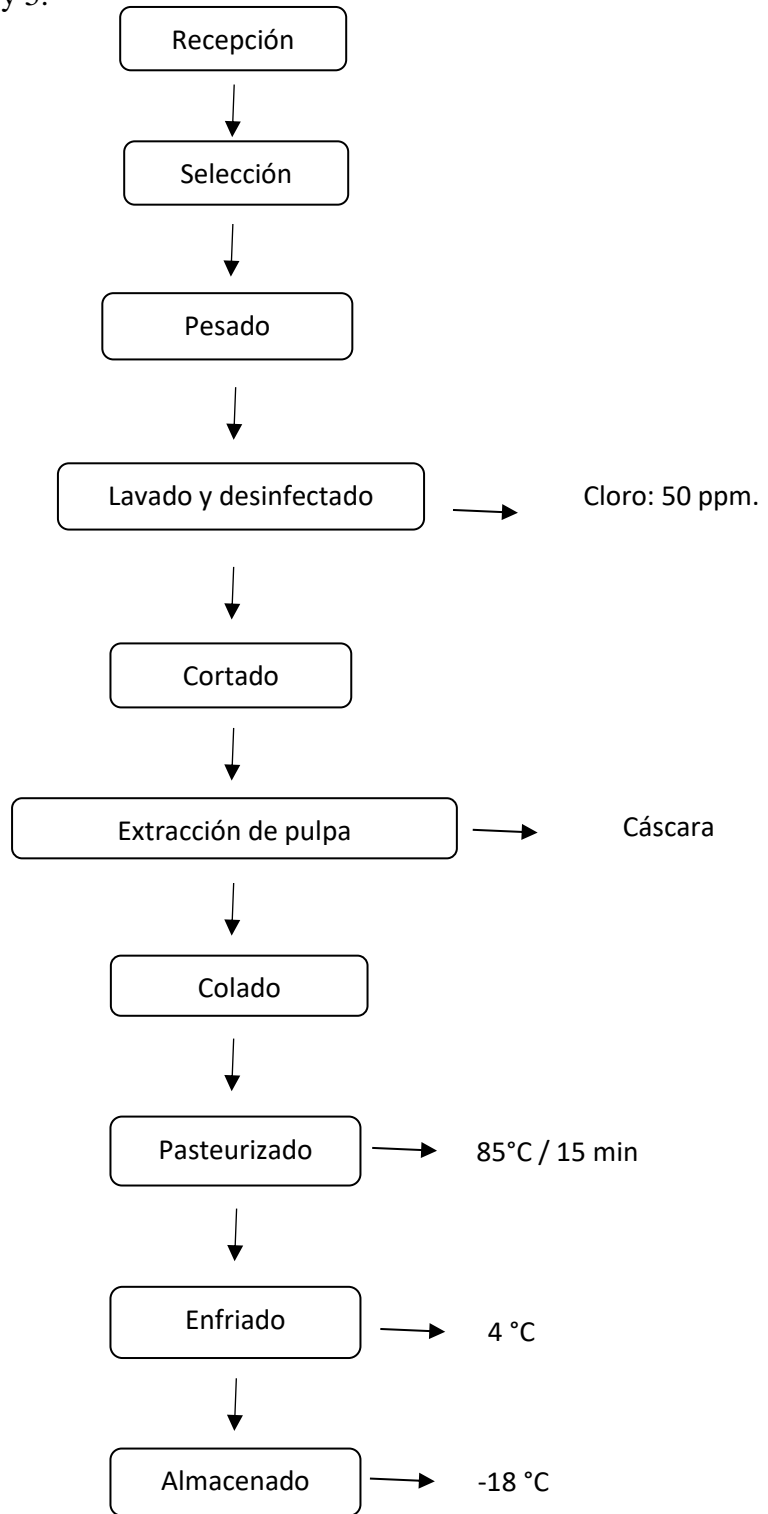
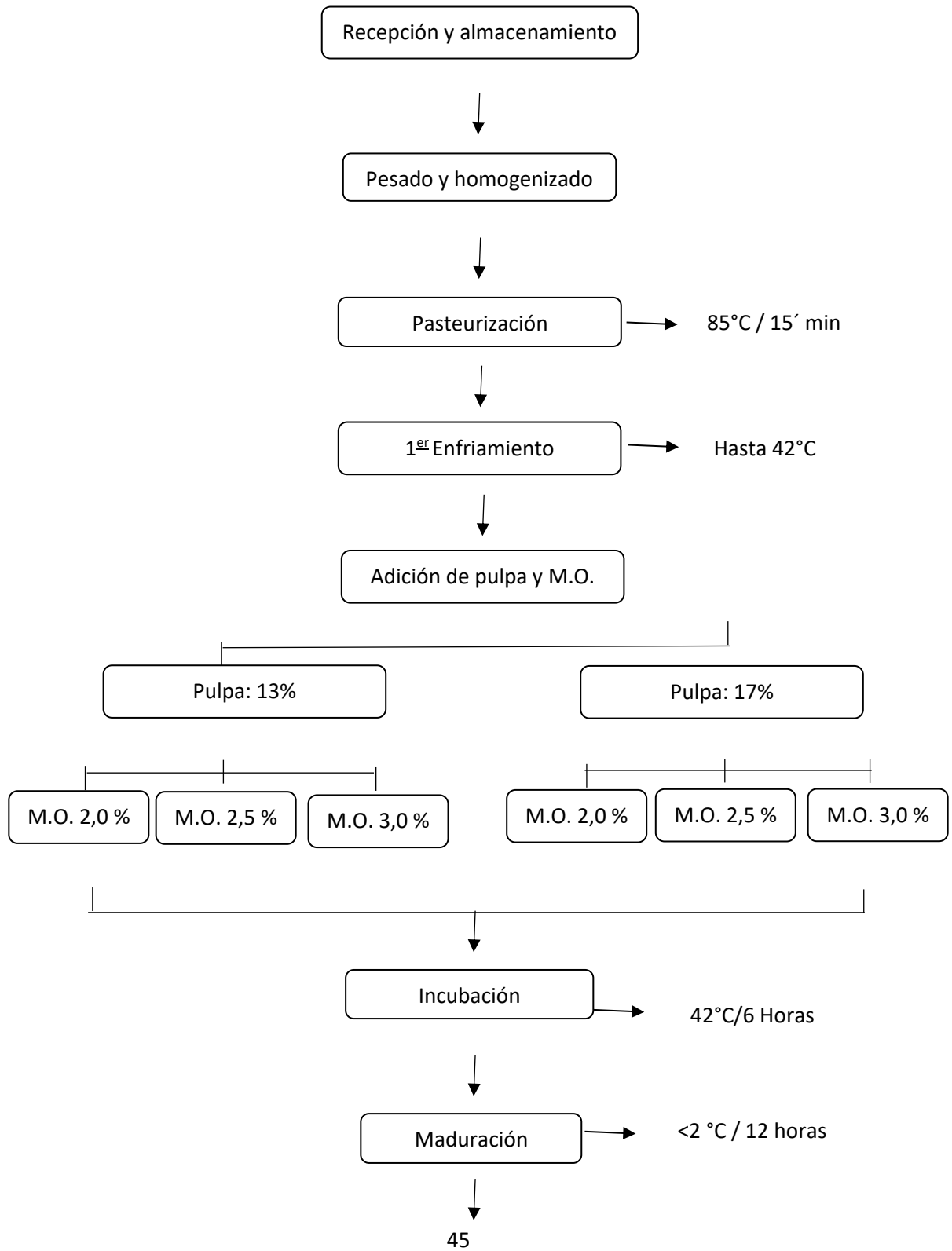


Figura 4: Diagrama para obtención de pulpa de granadilla.



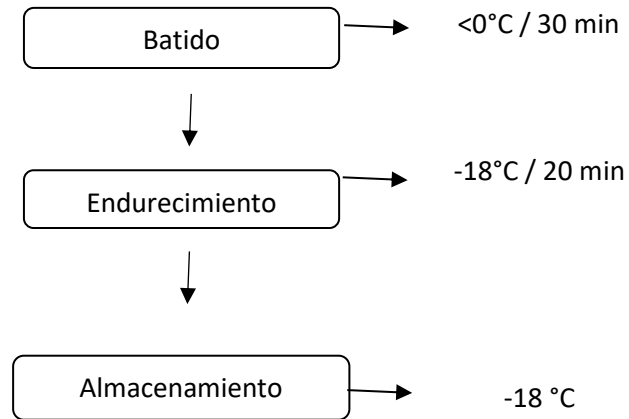


Figura 5: Diagrama para elaboración de helados de crema.

3.3.6. Descripción del proceso

a. Descripción de las etapas de obtención de pulpa de granadilla

- **Recepción:** se recepción los frutos de granadilla en jvas plásticas debidamente desinfectadas.
- **Selección:** se seleccionó los mejores frutos de granadilla de la variedad Colombiana según el grado de madures óptimo.
- **Pesado:** se realizó el pesado empleando una balanza digital.
- **Lavado y desinfectado:** se realizó el lavado con agua para eliminar contaminantes como tierras, manchas entre otros y así reducir los contaminantes físicos además se realizó la desinfección de los frutos con hipoclorito de sodio en una concentración de 50 ppm.
- **Cortado:** el cortado se realizó empleando un cuchillo por la parte central en forma horizontal.
- **Extracción de pulpa:** se extrajo la pulpa con la ayuda de una cuchara en recipientes de acero inoxidable.

- **Colado:** en esta etapa se separó las semillas de la pulpa de la fruta empleando un colador.
- **Pasteurizado:** se pasteurizó con el propósito de eliminar los microorganismos patógenos a temperatura de 85 °C durante 15 minutos.
- **Enfriado:** se realizó el enfriamiento hasta una temperatura de 4°C, luego se colocó en envases de polietileno debidamente sellados.
- **Almacenado:** se almacenó en el Ultra congelador a una temperatura de -18 °C, para su posterior uso.

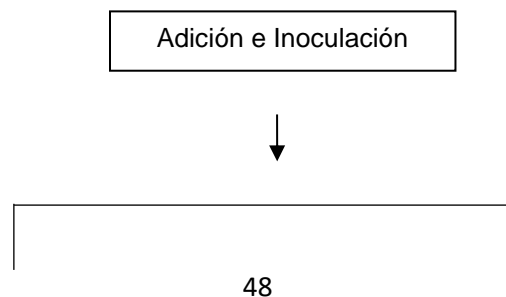
b. Descripción de las etapas de producción de los helados funcionales

- **Recepción y almacenamiento:** se recibió y almacenó previamente todas las materias primas e insumos (leche, crema de leche, azúcar, estabilizador, pulpa de granadilla y microorganismos).
- **Insumos de la base:** se alistaron la materia prima (leche y crema de leche) las cuales se emplearon para formar la mezcla base de los helados funcionales.
- **Pesado y homogenización:** se pesaron las materias primas empleando una balanza analítica en función a la mezcla de helados a preparar (4 kg de muestra por tratamiento, posteriormente se homogenizaron empleando una cuchara de acero inoxidable).
- **Pasteurización:** se realizó el proceso de pasteurización empleando un equipo de baño maría a una temperatura de 85°C durante 15 minutos para eliminar cualquier agente patológico.
- **1er Enfriamiento:** se enfrió hasta llegar a una temperatura de 42 °C.

- **Adición de pulpa e inoculación de M.O.:** se adicionó pulpa de granadilla a la mezcla base según el tratamiento (13 % y 17%) luego se inocularon los microorganismos probióticos según el tratamiento (2,0 %, 2,5 % y 3,0 %).
- **Incubación:** se incubaron a una temperatura de 42°C durante 6 horas, esta etapa se desarrolló en un equipo de baño maría con agitador magnético.
- **Maduración:** el proceso de maduración se llevó a temperaturas de 2° C durante 12 horas con la finalidad de desarrollar mejor aroma y sabor.
- **Batido:** después de la maduración se desarrolló la etapa de batido para la incorporación del aire efecto conocido como “overrun” y la adición de los insumos (azúcar y CMC), esta etapa se desarrolló a una temperatura de 0°C durante 30 min.
- **Endurecimiento:** esta etapa se llevó a cabo empleando un equipo de Soxh para helados ya que el tipo de congelación es rápido y favorece las características físicas del producto terminado debido a que se forman pequeños cristales de hielo (finos), este proceso se desarrolló a temperaturas de -18°C durante 20 minutos. El producto terminado se recepcionó en bandejas blancas y amarillas de 4 kg.
- **Almacenamiento:** se almacenarán en conservadores de frío (congeladoras a -18° C) para su posterior análisis.

3.4. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El diseño experimental de la investigación fue el siguiente:



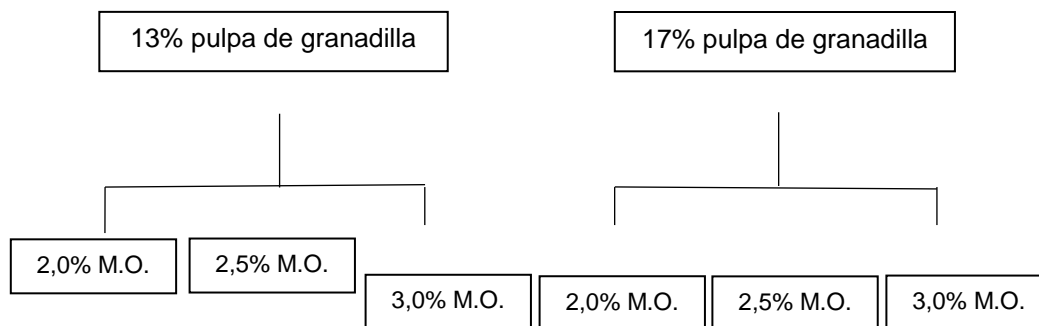


Figura 6: Diseño experimental.

Tabla 5 : Formulaciones de los tratamientos

INGREDIENTES	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Leche %	74	74	74	74	74	74	74
Crema de leche %	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5
Azúcar %	15	15	15	15	15	15	15
Estabilizador %	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Pulpa de granadilla %	13	13	13	17	17	17	0
M.O. %	2.0	2,5	3,0	2.0	2,5	3,0	0

El esquema experimental para este trabajo de investigación fue de acuerdo a los factores y tratamientos mostrados en la tabla 6

Tabla 6. Tratamientos en estudio

Cantidad de zumo de granadilla	Bacterias probióticas	Tratamientos	Características	
			de los tratamientos	Código
	b1	a1b1=T1	13% x 2,0%	543
a1	b2	a1b2=T2	13% x 2,5%	269
	b3	a1b3=T3	13% x 3,0%	652
	b1	a2b1=T4	17% x 2,0%	456
a2	b2	a2b2=T5	17% x 2,5%	283
	b3	a2b3=T6	17% x 3,0%	723
Total de tratamientos 6				

3.5. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.5.1. Población

Leche y crema de leche, producida por la Empresa Gloria S.A.; Granadilla producida en el distrito de Monobamba, provincia de Jauja.

3.5.2. Muestra

- Leche: 24 L de leche

- Crema de leche: 4.00 kg
- Granadilla: 30 Kg

3.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.6.1. Técnicas de recolección de datos

Las técnicas de recolección de datos de todo el proceso experimental fueron en fichas de anotación, para luego ser procesadas, obtenidas en los siguientes laboratorios:

- Laboratorio de control de calidad de la UNCP. Donde se realizó el desarrollo experimental del proceso y análisis fisicoquímicos.
- Laboratorio Instrumental de la UNCP. Se realizó algunos análisis fisicoquímicos y evaluación sensorial.
- Laboratorio de microbiología de alimentos de la UNCP. Se realizó los análisis microbiológicos de las muestras.

a. Análisis físico-químico

- Determinación de pH: por medio de un pH-metro, método de AOAC (1990).
- Determinación de la acidez titulable: por el Método AOAC (1990)
- Determinación de los sólidos solubles (°Brix), por refractometría, método AOAC (1990).
- Determinación de humedad: por el método gravimétrico, AOAC (1990).
- Determinación de proteína: por el método químico de Kjeldahl, AOAC (1990).
- Determinación de grasa: por el método Soxhlet, AOAC, (1990).
- Determinación de cenizas: por el método AOAC, (1990).
- Determinación de fibra: por el método AOAC, (1990).
- Determinación de carbohidratos: por el método AOAC, (1990).

b. Análisis microbiológico

- Recuento de Lactobacillus: por el método AOAC, (2000).
- Recuento de microorganismos aerobios Mesofilos viables: por el método AOAC, (2000).
- Pruebas bioquímicas de Identificación para Coliformes: por el método AOAC, (2000).
- Mohos y levaduras: por el método AOAC, (2000).
- Stafilococcus método AOAC, (2000).
- Salmonela método AOAC, (2000).

c. Análisis sensorial

La evaluación sensorial nos proporciona información de la calidad de los alimentos evaluados y las expectativas de aceptabilidad de parte del consumidor. La prueba sensorial Hedónica de clasificación afectiva tiene como objetivo determinar la aceptabilidad de consumo de un producto, el que a su vez se pregunta ¿Qué productos gustan más y cuáles son los preferidos?, para ello se emplea panelistas no entrenados, reclutados por el uso del producto (Liria, 2007).

3.6.2. Instrumentos de recolección de datos

a. Equipos

- Balanza analítica: marca OHAUS, capacidad 220 g
- Destilador de agua: marca GFL, modelo 2001/4, capacidad 2 L/h
- Cocina eléctrica.
- Batidora: marca OSTER.
- Baño maría con agitador magnético: marca MEMMERT.

- Congeladora horizontal: marca indurama, capacidad 310 L
- Ultracongelador: marca EQUITEC.
- Refrigeradora: marca CUPRUM.
- Maquina soft de helados: marca JR, capacidad de 6 Lt.
- Estufa para esterilizar materiales: marca MEMMERT.
- Estufa para determinación de humedad: marca MEMMERT.
- Incubadora para hongos, marca MEMMERT.
- Incubadora para bacterias, marca MEMMERT.
- pH metro: marca OHAUS.
- Refractómetro: 0-32 °Brix
- Mufla
- Selladora manual: marca PFS.
- Vernier manual
- Cabina extractora de gases tóxicos: marca ESCO laboratory fume Hood.
- Equipo de Extractor Soxhlet
- Sistema de digestión y destilación de Kjeldahl: marca LABCONCO.
- Vortex: marca VELP. Scientifica.
- Autoclave: marca WISD laboratory Instruments.
- Contador de colonias: BOECO.
- Cabina Flujo laminar: marca TELSTAR.

b. Materiales

- Termómetro de -20 a 150 C
- Materiales de laboratorio de vidrio y de polietileno varios

- Micropipeta marca ISOLAB, de 100-1000 μ L
- Pinzas
- Espátula
- Pabilo
- Papel filtro Whatman N°2
- Cucharitas
- Algodón
- Ligas
- Guantes
- Gorra
- Mascarilla
- Campana desecadora
- Útiles de escritorio y otros.
- Papel aluminio para pesadas
- Papel craf

3.7. SELECCIÓN, VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DE LOS INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN

La selección de los instrumentos se realizó de acuerdo a los requerimientos de los métodos desarrollados en la tesis, siendo apropiadas para el análisis que fue realizado en cada etapa de la investigación. La validación y confiabilidad de los instrumentos empleados en la investigación, está basado en que cada instrumento cuenta con sus fichas técnicas de confiabilidad, asimismo sus mantenimientos y calibraciones que realizan cada laboratorio de su instrumental que poseen.

3.8. TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

La redacción, procesamiento y presentación de datos se realizó empleando programas como Desing Expert, el programa SPSS, el software Microsoft office 2013, con el programa de texto Word y hoja de cálculo Excel; los análisis se realizaron con los resultados estadísticos comparando con datos realizadas en otras investigaciones, normas técnicas de calidad y datos existentes garantizados.

3.9. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Para el procesamiento de los resultados fisicoquímicos se utilizó el programa Microsoft Excel, para construir las tablas y gráficos. Los datos de evaluación sensorial fueron plasmados en el programa SPSS para conocer el grado de significancia que existe entre los tratamientos. Se empleó el programa de Desing Expert para la optimización de los tratamientos de ese modo se obtuvo gráficos en 3D de los resultados de las variables dependientes y una lista de 30 tratamientos donde nos muestran los resultados óptimos. Además se empleó el programa de texto Word donde se realizó el proceso de la redacción de esta tesis.

3.10. ORIENTACIÓN ÉTICA FILOSOFICA Y EPISTÉMICA

El desarrollo de esta tesis es original, basado en la determinación de las propiedades funcionales del helado de crema de leche con microorganismo probióticos y pulpa de granadilla, cuya metodología fue establecido y desarrollado por mi persona y el asesoramiento de mi asesor, asimismo las bibliografías consultadas son reportadas en cada cita, mencionando a los autores y años de publicación, no realizando plagio alguno de otro trabajo de investigación. Esta investigación no contiene ningún estudio con participantes humanos o animales.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO

Para realizar este trabajo de tesis sobre elaboración de helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla (*Passiflora ligularis*), se caracterizó la pulpa de granadilla, para conocer sus cualidades tecnológicas. Durante el proceso tecnológico de la elaboración del helados se procedió al pesado y medida de los ingredientes, posteriormente se realizó la mezcla base, luego se llevó a pasteurización a 85° C durante 15 minutos, se realizó el enfriamiento hasta llegar a la temperatura de 42°C para realizar la adición de la pulpa de granadilla e inoculación de los microorganismos probióticos, según tratamientos establecidos. Incubación durante 6 horas en un equipo de baño maría, luego se llevó a maduración durante 12 horas a una temperatura menor a 2°C, posteriormente se adiciono los insumos restantes y se realizó el proceso de overrum empleando una batidora de mano durante 20 minutos en el cual se observó el incremento del volumen de la mezcla, se

realizó una congelación rápida empleando una maquina soft para helados, el producto final fue recepcionado en bandejas de 4 litros aproximadamente y almacenado para su posterior análisis tanto microbiológico, fisicoquímico y sensorial a cada tratamiento.

4.2. PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos durante las etapas se presentaron empleando tablas y figuras.

4.2.1. Materia prima (Pulpa de granadilla)

Para la formulación de los helados de crema, se caracterizó el fruto de la granadilla, para conocer sus características físico-químicas, tal como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Análisis físico químico de la pulpa de granadilla

Característica	Unidad	Valor
Sólidos solubles	°Brix	14.07 (\pm 0,12)
pH		4.95 (\pm 0,02)
Acidez titulable (a.citrico)	%	0.37 (\pm 0,02)
Humedad	%	86.16 (\pm 0,15)
Grasa	%	0.53 (\pm 0,03)
Sólidos totales	%	13,84 (\pm 0,15)
Proteínas	%	0.47(\pm 0,30)
Cenizas	%	1.13 (\pm 0,04)
Fibra	%	0,41 (\pm 0,03)
Carbohidratos	%	11.3

4.2.2. Durante el proceso

El proceso tecnológico de la elaboración del helado de crema se realizó siguiendo el diagrama de operaciones establecidas en la figura 5, durante esta etapa se evaluaron ciertas características que se presentan en las siguientes tablas.

a. Mezcla inicial de helados

Los datos fueron tomados antes de realizar la inoculación de los microorganismos probióticos, los resultados se muestran en la tabla 8.

Tabla 8: Características fisicoquímicas inicial de los helados

Característica	Unidad	Tratamientos						
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Sólidos solubles	°Brix	16.02	16.45	16.48	16	16.02	16.20	15.8
pH		6.85	6.85	6.85	6.53	6.53	6.51	6.75
Acidez titulable (a.c.)	%	0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.22	*0.18
Acidez titulable (a.l.)	%	0.30	0.30	0.30	0.30	0.31	0.32	0.18

*expresado en ácido láctico.

b. Mezcla al final del proceso de incubación

Los datos fueron tomados al final de las 6 horas de incubación de los microorganismos benéficos para poder observar los cambios fisicoquímicos que se habían producido, los resultados se muestran en la tabla 9.

Tabla 9: Características fisicoquímicas final

Característica	Unidad	Tratamientos						
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Sólidos solubles	°Brix	10.02	9.02	9.80	11.04	10.03	10.03	15.8
pH		4.46	4.43	4.34	4.37	4.43	4.43	6.75
Acidez titulable (a.l)	%	1.19	1.24	1.29	1.23	1.15	1.12	0.18

c. Características del proceso

Las características del proceso tecnológico se muestran en la siguiente tabla 10.

Tabla 10: Características del proceso

Característica	Unidad	Valor
T° de inoculación	°C	42
Tiempo de incubación	Horas	6
T° de maduración	°C	2
Tiempo de maduración	Horas	12
Tiempo de batido	min	30
Temperatura de batido	°C	0
Overrum	%	30 (\pm 5)
T° de almacenamiento	°C	-18

4.2.3. Producto terminado

Los análisis microbiológicos se realizaron en dos tiempos, el primero se realizó en el primer día y el segundo se realizó a los 30 días, este análisis se realizó con la finalidad de determinar la Viabilidad de bacterias probióticas (*Bifidobacterium species*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*), la temperatura de almacenamiento se mantuvo en - 18°C, los resultados se muestran en las siguiente tabla 11.

Tabla 11: Análisis microbiológico de microorganismos probióticas (día 1 y día 30)

Característica	Unidad	Tratamientos						
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Día 1 - Viabilidad de								
bacterias probióticas	Log UFC/g	5.55	5.86	6.31	5.01	5.58	5.83	0
Día 30 - Viabilidad de								
bacterias probióticas	Log UFC/g	5.12	5.45	5.92	4.64	5.18	5.42	0

• **Evaluación sensorial**

Tabla 12. Resultados de la prueba de normalidad.

Atributo	Sustitución	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
	543 (13%-2,0%)	0,612	30	0,000
	269 (13%-2,5%)	0,760	30	0,000
	652 (13%-3,0%)	0,810	30	0,000
Olor	456 (17%-2,0%)	0,683	30	0,000

	283 (17%-2,5%)	0,775	30	0,000
	723 (17%-3,0%)	0,754	30	0,000
	543 (13%-2,0%)	0,812	30	0,000
	269 (13%-2,5%)	0,830	30	0,000
	652 (13%-3,0%)	0,778	30	0,000
Sabor	456 (17%-2,0%)	0,812	30	0,000
	283 (17%-2,5%)	0,816	30	0,000
	723 (17%-3,0%)	0,824	30	0,000
	543 (13%-2,0%)	0,664	30	0,000
	269 (13%-2,5%)	0,664	30	0,000
	652 (13%-3,0%)	0,404	30	0,000
Color	456 (17%-2,0%)	0,740	30	0,000
	283 (17%-2,5%)	0,616	30	0,000
	723 (17%-3,0%)	0,347	30	0,000
	543 (13%-2,0%)	0,766	30	0,000
	269 (13%-2,5%)	0,648	30	0,000
	652 (13%-3,0%)	0,766	30	0,000
Textura	456 (17%-2,0%)	0,753	30	0,000
	283 (17%-2,5%)	0,648	30	0,000
	723 (17%-3,0%)	0,806	30	0,000
	543 (13%-2,0%)	0,404	30	0,000
	269 (13%-2,5%)	0,404	30	0,000
	652 (13%-3,0%)	0,652	30	0,000

Apariencia	456 (17%-2,0%)	0,526	30	0,000
general	283 (17%-2,5%)	0,404	30	0,000
	723 (17%-3,0%)	0,526	30	0,000

Teniendo en cuenta que la prueba sensorial se realizó con panelistas no entrenados (Liria, 2007), Se realizó la prueba de normalidad para los datos obtenidos en la prueba sensorial mediante la escala hedónica, para ello se planteó la hipótesis nula H_0 ($p \geq 0.050$) la cual se definió como una distribución normal de datos y una hipótesis alterna H_a ($p < 0,050$) de no normalidad de datos (Sanchez & Vega, 2008).

Resultando de este modo por medio del paquete estadístico SPSS® (Versión 23) y por medio de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (Sánchez y Vega, 2008) con la modificación de Lilliefors (1967). ($n < 50$) el rechazo de la hipótesis nula para todos los factores de incorporación de bacterias probióticas y zumo de granadilla (543, 269, 652, 456, 283, 723 y 723) frente a los factores dependientes (OLOR, SABOR, COLOR, TEXTURA Y APARIENCIA GENERAL) y con ello una distribución no normal de los datos. Al rechazar la hipótesis nula, lo posterior a realizar ha sido el empleo de una prueba no paramétrica de comparación de medianas, siendo la prueba de Kruskal Wallis (1952) idéntico al tradicional ANOVA, para ello se planteó la hipótesis nula de igualdad de medianas ($p \geq 0,050$) y el rechazo de la misma si se encuentra desigualdad ($p < 0,050$).

Tabla 13. Resultados de la Prueba de Kruskal wallis con variables de agrupación de las sustituciones.

Atributo:	OLOR	SABOR	COLOR	TEXTURA	APARIENCIA GENERAL
H de Kruskal-wallis	20,735	47,475	9,338	5,865	27,359
gl	5	5	5	5	5
Sig. Asintótica	0,002	0,000	0,155	0,438	0,000

De esta manera se rechazó la igualdad de medianas para los parámetros de olor (0,002), sabor (0,000) y apariencia general (0,000) y la igualdad de medianas para los parámetros de Color (p=0,155) y Textura (p=0,438) resumido en la tabla 13.

Tabla 14. Rangos de Kruskal-Wallis para la evaluación de olor, sabor, color, textura y apariencia general.

ATRIBUTO	SUSTITUCION	N	Rango promedio
Olor	543 (13%-2,0%)	30	88,92
	269 (13%-2,5%)	30	108,58
	652 (13%-3,0%)	30	140,58
	456 (17%-2,0%)	30	108,58
	283 (17%-2,5%)	30	83,92
	723 (17%-3,0%)	30	96,25
	Total	210	-

Sabor	543 (13%-2,0%)	30	110,10
	269 (13%-2,5%)	30	78,33
	652 (13%-3,0%)	30	118,03
	456 (17%-2,0%)	30	89,40
	283 (17%-2,5%)	30	77,00
	723 (17%-3,0%)	30	101,37
	Total	210	-
Color	543 (13%-2,0%)	30	103,68
	269 (13%-2,5%)	30	103,68
	652 (13%-3,0%)	30	94,33
	456 (17%-2,0%)	30	94,18
	283 (17%-2,5%)	30	107,00
	723 (17%-3,0%)	30	116,35
	Total	210	-
Textura	543 (13%-2,0%)	30	113,65
	269 (13%-2,5%)	30	103,52
	652 (13%-3,0%)	30	113,65
	456 (17%-2,0%)	30	85,78
	283 (17%-2,5%)	30	102,33
	723 (17%-3,0%)	30	106,05
	Total	210	-
Apariencia	543 (13%-2,0%)	30	101,77
general	269 (13%-2,5%)	30	99,83

652 (13%-3,0%)	30	114,50
456 (17%-2,0%)	30	92,22
283 (17%-2,5%)	30	99,83
723 (17%-3,0%)	30	92,22
Total	210	-

La tabla 14. Nos muestra los rangos obtenidos por el estadístico de comparación de medianas de Kruskal-Wallis, mediante el cual nos expresó que el mejor en parámetro de olor, sabor, textura y apariencia general fue el tratamiento 652 (13%-3,0%) con un rango promedio de 140,58, 118,03, 113,65 y 114,50, el mejor parámetro en color fue el tratamiento 723 (17%-3,0%) con un rango promedio de 116,35.

4.2.4. Determinación del producto óptimo empleando el programa Desing expert

Esta determinación se llevó a cabo después de haber obtenido resultados de los seis tratamientos en estudio, dichos datos sobre acidez titulable expresado en ácido láctico, pH, sólidos soluble y la viabilidad de los microorganismos benéficos fueron ingresados al programa Desing Expert, debido a que este programa realiza la optimización con mínimo tres tratamientos en estudio se realizó la interpolación para determinar los datos restantes, los datos se muestran la figura 7.

Std	Run	Block	Factor 1 A:Pulpa de gra %	Factor 2 B:Probioticos %	Response 1 Acidez %	Response 2 pH mol/L	Response 3 Solidos Soluble %	Response 4 Viabilidad Prob Log UFC/g
5	1	Block 1	12.17	2.50	0.92	4.43	9.02	5.86
12	2	Block 1	15.00	2.50	0.865	4.415	10.53	5.28
6	3	Block 1	17.83	2.50	0.85	4.43	10.03	5.58
11	4	Block 1	15.00	2.50	0.865	4.415	10.53	5.28
2	5	Block 1	17.00	2.00	0.91	4.35	11.04	5.01
10	6	Block 1	15.00	2.50	0.865	4.415	10.53	5.28
1	7	Block 1	13.00	2.00	0.88	4.46	10.02	5.55
13	8	Block 1	15.00	2.50	0.865	4.415	10.53	5.28
9	9	Block 1	15.00	2.50	0.865	4.415	10.53	5.28
3	10	Block 1	13.00	3.00	0.96	4.34	9.8	6.31
8	11	Block 1	15.00	3.21	0.895	4.385	9.915	6.07
4	12	Block 1	17.00	3.00	0.83	4.43	10.03	5.83
7	13	Block 1	15.00	1.79	0.865	4.415	10.53	5.28

Figura 7: Datos de tratamientos en estudio.

• **Acidez**

En los resultados mostrados según el programa Desing Expert, se observó que la mayor cantidad de acidez expresado en ácido láctico se presenta cuando hay menor porcentaje de pulpa y mayor porcentaje de microorganismos benéficos, se observa que existe menor acidez cuando se incrementa la cantidad de pulpa de granadilla y cantidad de microorganismos es en mayor porcentaje, lo cual nos indica que los microorganismos se desarrollan mejor en concentraciones de pulpa de granadilla menor tal como se muestra en la figura 8.

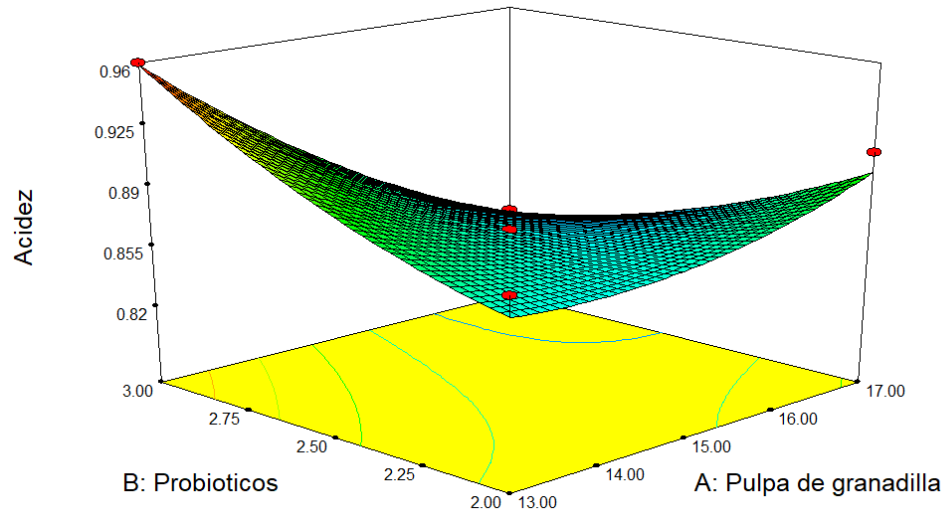


Figura 8. Optimización de la acidez de los helados

•pH

En los resultados mostrados según el programa Desing Expert se observó que el pH menor se presenta cuando hay menor porcentaje de pulpa de granadilla y mayor porcentaje de microorganismos benéficos además se observó que el pH mayor se presenta cuando hay mayor cantidad de pulpa y menor cantidad de microorganismos benéficos, lo cual nos indica que a menor porcentaje de pulpa y mayor cantidad de microorganismos se obtienen resultados favorables de pH e indica que hubo mayor viabilidad en el desarrollo, tal como se muestra en la figura N° 9.

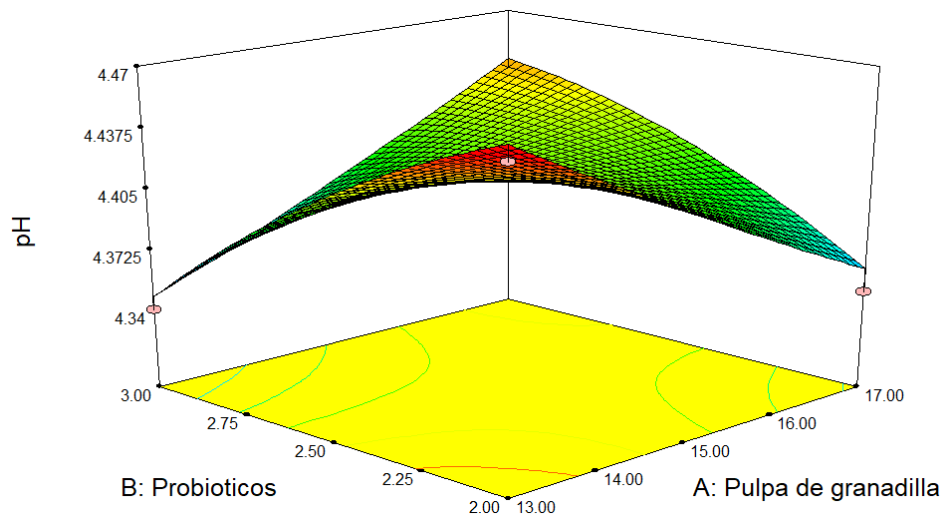


Figura 9. Optimización del pH de los helados

• **Sólidos solubles**

En los resultados mostrados según el programa Desing Expert se observó que hay mayor reducción de sólidos solubles cuando el porcentaje de pulpa es menor y el porcentaje de microorganismos benéficos es intermedio, se muestra mayor cantidad de sólidos cuando el porcentaje de pulpa es mayor y cuando la cantidad de microorganismos es en menor porcentaje, tal como se muestra en la figura 10.

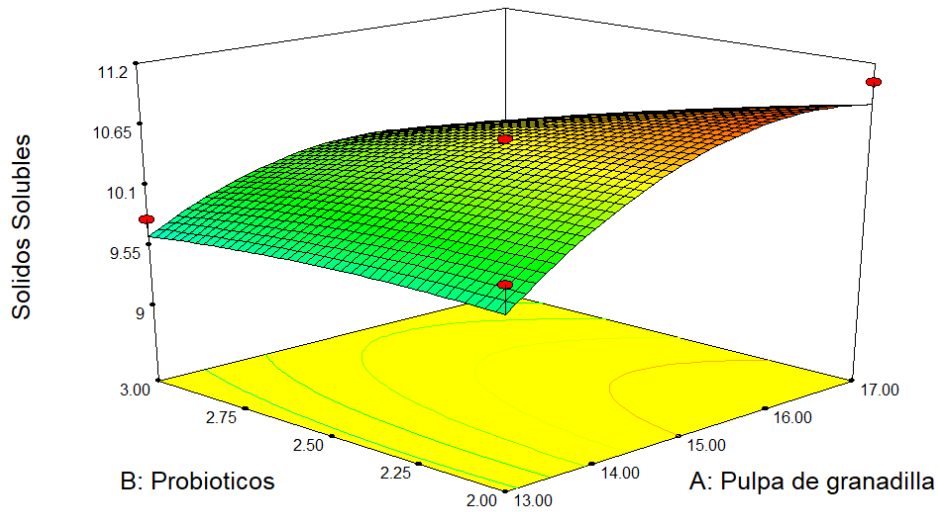


Figura 10. Optimización de los sólidos solubles de los helados

• **Viabilidad de probióticos**

En los resultados mostrados según el programa Desing Expert se observó que hay mayor viabilidad de desarrollo de los microorganismos benéficos cuando hay menor porcentaje de pulpa y mayor porcentaje de microorganismos benéficos además se observa que a mayor porcentaje de pulpa y menor porcentaje de microorganismos benéficos hay menor viabilidad para el desarrollo de los microorganismos, tal como se muestra en la figura 11.

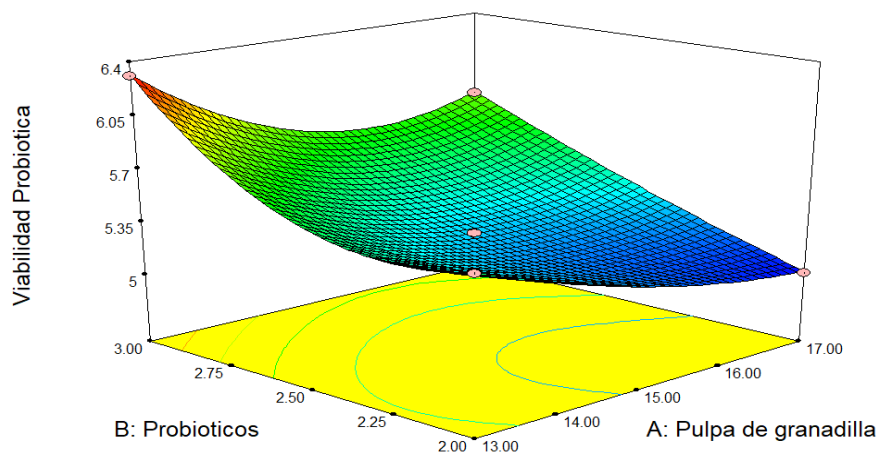


Figura 11. Viabilidad de los probióticos

4.2.5. Producto óptimo

Para determinar el producto óptimo el programa Desing Expert nos muestra un panel de 30 resultados diferentes los cuales fueron observados detalladamente, se tomó como nuevas variables independientes los porcentajes mostrados (X1: % de pulpa de granadilla y X2: % de microorganismos probióticos) en el figura N° 12 Debido a que en esta proporción existe mayor viabilidad de los microorganismos benéficos, además nos muestra los resultados probables de las variables dependientes.

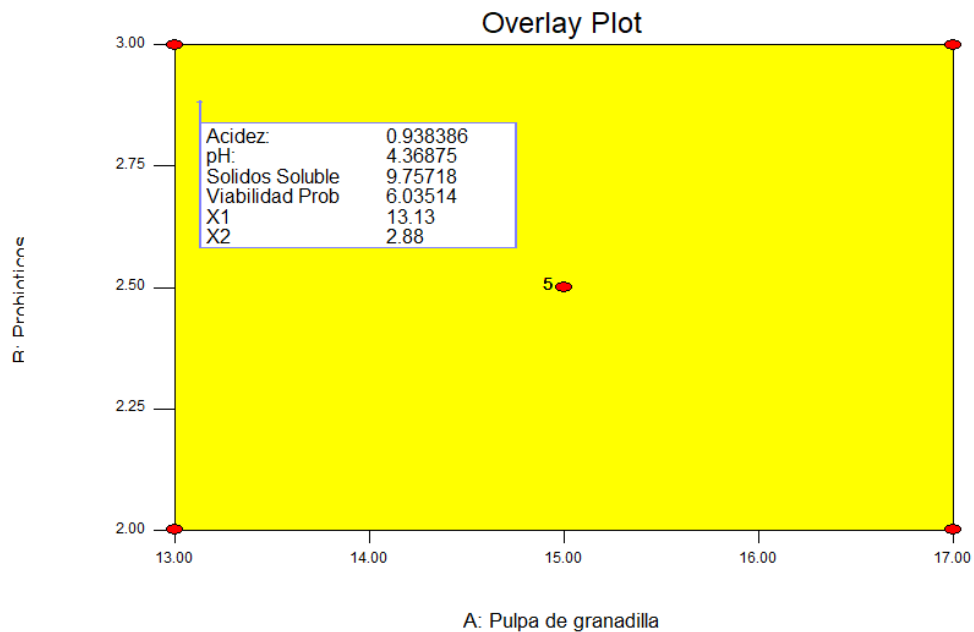


Figura 12. Datos de un producto óptimo

Se realizó un nuevo tratamiento con las nuevas variables independientes mostradas en la figura 12. Los resultados obtenidos se presentan en las siguientes tablas, además estos resultados coinciden con el tratamiento aceptado en la mayoría de los atributos en la evaluación sensorial.

a. Mezcla inicial del helado

Tabla 15: Características fisicoquímicas inicial del producto óptimo

Características	Unidad	Tratamiento óptimo
Solidos solubles	°Brix	16.52
pH		6.75
Acidez titulable (a.c)	%	0.22
Acidez titulable (a.l)	%	0.31

b. Mezcla al final del proceso de incubación

Tabla 16: Características fisicoquímicas final del producto óptimo

Características	Unidad	Tratamiento óptimo
Solidos solubles	°Brix	9.8
pH		4.44 ($\pm 0,07$)
Acidez titulable (a.l.)	%	1.27($\pm 0,03$)

c. Análisis al producto óptimo

Los análisis microbiológicos para microorganismo probióticos se realizaron en dos tiempos, el primero se realizó en el primer día y el segundo se realizó a los 30 días, el análisis químico-proximal se desarrolló en el producto óptimo, además se desarrollaron el análisis de los microorganismos patógenos para garantizar la inocuidad del producto, las tablas se presentan a continuación.

Tabla 17: Análisis microbiológico de microorganismos probióticas (día 1 y día 30)

Característica	Unidad	Tratamiento óptimo
Día 1 - Viabilidad de		
bacterias probióticas	Log UFC/g	6.150
Día 30 - Viabilidad de		
bacterias probióticas	Log UFC/g	5.788

Tabla 18: Análisis químico proximal del producto óptimo

Característica	Unidad	Valor
Sólidos solubles	°Brix	16
pH		4.45 ($\pm 0,02$)
Acidez titulable	% A.L.	1.27 ($\pm 0,03$)
Humedad	%	68.67 ($\pm 0,03$)
Grasa	%	10.21 ($\pm 0,26$)
Sólidos totales	%	31.33 ($\pm 0,05$)
Proteínas	%	10.95 ($\pm 0,14$)
Cenizas	%	2.82 ($\pm 0,02$)
Fibra	%	0.43 ($\pm 0,03$)
Carbohidratos	%	6.92

Tabla 19: Análisis microbiológico del producto óptimo

Característica	Unidad	Valor obtenido	según DIGESA
Aerobios mesofilos	Ufc/g	10 ³	10 ⁵
Coliformes	Ufc/g	10	10 ²
Staphylococcus aureus	Ufc/g	10	10 ²
Salmonella		-	-
Listeria monocytogenes	Ufc/g	-	-
Mohos y levaduras	Ufc/g	< 10	

4.3. PRUEBA DE HIPOTESIS

- Definir las hipótesis nula y hipótesis alterna

HO: $P \geq 0.05$ (todos los tratamientos son iguales)

Ha: $p < 0.05$ (al menos uno de los tratamientos es diferente)

- Definir el nivel de significancia

$\alpha = 5\%$

- $P = 0.00$

- Conclusión

Se rechaza la hipótesis nula (Ho) ya que los tratamientos son diferentes.

4.4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.4.1. Materia prima (Pulpa de granadilla)

Los datos reportados en la tabla 7. muestran la caracterización físico-química de la pulpa de la granadilla estos datos obtenidos expresan una afinidad con los

resultados reportados por Cabrera, (2006), en los cuales nos da a conocer resultados en frutos maduros de dos variedades Colombiana y Local tales como: acidez de la pulpa es 0.47 y 0.41%, pH es 5.14 y 5.77%, humedad es 86.57 y 85.27%, ceniza es 1.26 y 0.91%, sólidos totales es 13.24 y 14.73, sólidos solubles es 14.87 y 14.78, proteína es 0,49% en ambos frutos y fibra es 0.40 y 0.44.

Así mismo Espinosa et al., (2014), en la investigación realizada concluyen que los grados Brix del fruto de la granadilla aumentan a medida que madura, llegando aproximadamente a 15,3 °Brix, además menciona que el ácido cítrico es el predominante en las diferentes estados con 0,46%, el cual disminuye a medida que el fruto madura, en la tabla 7 nuestros resultado obtenidos presentan mínimas diferencias en su mayoría concuerdan con las referencia mencionadas.

4.4.2. Durante el proceso

a. Mezcla inicial del helados

Los datos sobre sólidos solubles, pH y Acidez titulable reportados en la tabla 8. nos permiten llevar el control de cambio que ocurren durante el proceso, los datos de acidez titulable del tratamiento T1 hasta T6 de la mezcla inicial de helados están reportados en % de ácido láctico debido a que este es el ácido que mayor predomina en la mezcla láctea según Melgarejo, (2015). En el tratamiento T7 que representa la muestra patron la acidez de la mezcla inicial de helados esta reportado en ácido láctico ya que es el que predominante en la leche según Negri, (2005). Con respecto a los sólidos solubles y pH estos fueron obtenidos según metodos establecidos según A.O.A.C., (2007) y se encuentran dentro de los parametros de control de la leche.

b. Mezcla al final del proceso de incubación

Los datos reportados en la tabla 9. muestran los resultados finales después de 6 horas de incubación de los microorganismos probióticos los sólidos solubles tuvieron un descenso de 16.48 °Brix hasta valores de 9.02 entre 11.04 °Brix, según (Jáuregui et al., 2015) menciona que Los microorganismos aerobios ocasionan una serie de cambios químicos en la leche en donde los tres componentes más afectados son lactosa, proteínas y grasa. Los carbohidratos son el primer nutriente que metabolizan los microorganismos para obtener su energía, seguido de proteínas y finalmente lípidos. Los carbohidratos se oxidan con el fin de proporcionar energía, la glucosa es el monosacárido más frecuente en la naturaleza como azúcar libre, para obtener glucosa en la leche el disacárido lactosa es hidrolizado en dos monosacáridos glucosa y galactosa en presencia de la enzima β - galactosidasa, según la referencia citada se pudo definir que los microorganismos se alimentan de los azúcares de la leche hidrolizada es por ello que el contenido de sólidos solubles disminuye.

Durante la investigación se observó que el pH descendió hasta valores entre 4.34 y 4.46 tal como se presenta en la tabla 9, según Cruz, Antunes, Sousa, Faria, & Saad, (2009) menciona en su investigación obtuvo un pH entre 4.8 y 4.7 al final del proceso de inoculación, según la referencia los resultados coinciden y la diferencia es mínima.

Además se observó que la acidez expresada en ácido láctico llega hasta valores de 1.12 y 1.29, Según Negri, (2005) el pH y la acidez titulable son inversamente proporcionales ya que a menor pH hay mayor producción de acidez.

El pH de los alimentos portadores de probióticos tiene una relación directa con la supervivencia de las bacterias probióticas, a mayor desarrollo de microorganismos el pH es bajo y la acidez titulable es alta como manifiesta (Afzaal et al., 2018). Según las referencias y nuestros resultados obtenidos podemos rescatar que el pH desarrollado es un buen indicador del desarrollo de los microorganismos probióticos.

c. Características del proceso

Según Cruz et al., (2009) menciona que los helados puede ser una fuente importante de transporte de probióticos y prebióticos en la dieta humana. Hoy en día existen muchas tecnologías para el desarrollo de los helados que contengan bacterias probióticas, según la cita se procedió a realizar la investigación ya que nos garantiza que los helados son una fuente viable para el desarrollo de probióticos, el helado se fabricó según el método adoptado por (Karthikeyan, Elango, Kumaresan, Gopalakrishnamurty, & Pandiyan, 2013) tras ligeras modificaciones.

En otro estudio Champagne, Gomes & Daga, (2018), informaron que la incorporación de probióticos en los alimentos contribuye principalmente a la funcionalidad de la salud y demuestra múltiples beneficios en los alimentos. Esta funcionalidad (con respeto a los humanos y a los alimentos) de los probióticos puede ser mejorada a través de diferentes tecnologías de inoculación, incrementando así la producción de probióticos en altos niveles, según la

referencia mencionada se tomó en cuenta las características de proceso mencionadas en la tabla 10.

4.4.3. Producto terminado

En los resultados presentados en la tabla 11 se muestra que se obtuvo una viabilidad entre 5.01 hasta 6.31 log ufc/g al día 0 en los tratamiento luego disminuyó entre 4.64 hasta 5.45 log ufc/g después de 30 días almacenado a una temperatura de -18°C tal como se muestra en la tabla 11.

Según Afzaal et al., (2018) durante el desarrollo de la investigación menciona que el recuento de células viables de bacterias probióticas en el estado libre en el helado fue de 9,97 log ufc/ml al día 0, que disminuyó a 6,12 log ufc/ml después de 120 días a -18 °C. Mientras que las bacterias probióticas encapsuladas en alginato y carragenina mejoró la viabilidad de los probióticos fue de 9,91 log ufc/ml y 9,81 log ufc/ml, respectivamente al día 0, lo que disminuyó a 8,74 log ufc/ml y 8,39 log ufc/ml, respectivamente después de 120 días. Con respecto a Afzaal et al., (2018), nos menciona que hay mayor viabilidad cuando las bacterias probióticas están encapsuladas, en el proceso de la elaboración del helados de acuerdo a cada tratamiento en estudio, se empleó CMC como estabilizante el cual también ejerce la propiedad de actuar como un encapsulante, este mejoró la viabilidad de los microorganismos con un rendimiento de un 92 % aproximadamente después de 30 días, se consideró que este es el tiempo adecuado ya que es un producto de rápido consumo y por lo tanto su comercialización se debe hacer en periodos cortos. Resultados similares fueron encontrados por Shah, (2000) que la encapsulación mejora la supervivencia de los

probióticos en los productos lácteos congelados. Estos resultados también están de acuerdo con los hallazgos de Homayouni, Azizi, Ehsani, Yarmand, & Razavi, (2008). Para obtener beneficios para la salud de los probióticos, estos deben estar presentes en cantidades suficientes en los alimentos. Según la Federación Internacional de Lechería, para extraer los beneficios reales para la salud asociados con probióticos, el nivel recomendado de probióticos en los alimentos portadores oscila entre 10^6 y 10^7 ufc/ml según Champagne, Ross, Saarela, Hansen, & Charalampopoulos, (2011). También Golestani & Pourahmad, (2017), menciona que el número de células viables de acuerdo a lo recomendado por la International Dairy Feratión es de (10^6 - 10^7 ufc/g).

Además Talwalkar & Kailasapathy, (2004) menciona las poblaciones de 10^6 - 10^7 ufc/g en el producto final se establecen como cantidades terapéuticas de cultivos probióticos en alimentos procesados, Según la referencia el T3 es el que se encuentra dentro de los límites para ser considerado un alimento funcional ya que contiene 6.31 Log ufc/g equivalente a 10^6 . Debido a que los otros tratamientos se encuentran por debajo de los límites permitidos de microorganismos probióticos para ser considerado un alimento funcional N. P. Shah, (2000) menciona que la viabilidad de los probióticos en todo tipo de productos alimenticios se ve afectada por muchos aspectos intrínsecos y extrínsecos como el oxígeno, la pos acidificación en productos fermentados, el pH, la temperatura de almacenamiento, la producción de peróxido de hidrogeno y las condiciones de procesamiento.

Durante la evaluación de la sobrevivencia de los microorganismo probióticos se muestra que hubo una ligera disminución de ellos esto puede suceder debido a la lesión por

congelación tal como menciona Vasiljevic & Shah, (2008) quienes establecen que este disminuye la viabilidad y estabilidad de las bacterias probióticas.

Según Vasiljevic & Shah, (2008) infiere que la lesión por congelación influyo para la disminución de la cantidad de microorganismos en los tratamientos en estudio.

La adición de la pulpa de granadilla como prebiótico al inicio de la inoculación de los microorganismo probióticos tuvo una influencia no muy aceptable ya que el desarrollo de los microorganismos probióticos con mayor concentración de pulpa de granadilla presentaron menor viabilidad de estos, debido a que no tuvieron un previo tratamiento para tener mayor asimilación por los microorganismo probióticos, ya que según Corzo et al., (2015) los alimentos considerados prebióticos pasan una serie de procesos y luego una validación que garantice que es prebiótico. Además Favaro-Trindade, De Carvalho Balieiro, Dias, Sanino, & Boschini, (2007) mencionan que en los helados que contienen cultivos probióticos deben evitarse las frutas o sus derivados de marcado carácter ácido, ya que este atributo podría influir en su aceptación sensorial y también disminuir la viabilidad de los cultivos, ya que su adición disminuye los valores de pH.

• **Evaluación sensorial**

Las características sensoriales (tabla 14) de los productos afectan críticamente la aceptación del nuevo producto desarrollado y se ha convertido en un gran reto para la industria alimentaria, en la investigación realizada por Afzaal et al.,(2018) concluyo que la incorporación de probióticos libres y encapsulados había afectado significativamente las propiedades sensoriales del helado. En la investigación realizada se observó que las características fisicoquímicas como el pH y la acides

titulable tal cómo se muestran afectan en la aceptabilidad del producto ya que las personas están acostumbradas a consumir helados con pH casi neutros.

4.4.4. Determinación del producto óptimo empleando el programa Desing expert

Después de haber realizado los tratamientos en estudio y obtenidos resultados previos, se utilizó el programa Desing expert para optimizar y determinar el mejor tratamiento los resultados se muestran en la figura 12. Según Escobar, Pardo, Buitrago Hurtado, & López Fernández, (2004) para establecer esta función se necesitan establecer las variables en estudio (independientes y dependientes), en referencia a la cita se establecieron las variables en estudio y se procedió a realizar la optimización.

4.4.5. Producto óptimo

a. Análisis químico proximal del producto óptimo

Los resultados presentados en la tabla 18 muestran la composición química proximal del producto óptimo, según Eras, (2013), menciona que hay diversos tipos de helados los más referidos al trabajo son los helados de crema y de yogurt estos helados están compuestos de 7 a 10 % de grasa, 6 a 8 % de sólidos no grasos, 20 a 32 % de sólidos totales de leche, de 11 a 20 % de azúcar y una incorporación de aire de alrededor de 70 a 100% del volumen de la mezcla, según la referencia y los resultados obtenido en la investigación son diferentes debido a la formulación y al tipo de helados que se elaboró.

b. Análisis microbiológico del producto óptimo

Los resultados presentados en la tabla 19 muestran los valores de los microorganismos patógenos que se encuentran el helados dicho resultados se

encuentran por debajo de los límites máximos establecido por (DIGESA, 2003), los resultados obtenidos garantizan la inocuidad del alimento.

CONCLUSIONES

- Se evaluaron las características de la incorporación de bacterias probióticas y pulpa de granadilla para los seis tratamientos en estudio cuyas características son las siguientes: T1 (13 % de pulpa y 2,0 % de M.O.), T2 (13 % de pulpa y 2,5 % de M.O.), T3 (13 % de pulpa y 3,0 % de M.O.), T4(17 % de pulpa y 2,0 % de M.O.), T5 (17 % de pulpa y 2,5 % de M.O.) y T6 (17 % de pulpa y 3,0 % de M.O.); en la mezcla base se incorporó los porcentajes de pulpa y microorganismo según tratamiento. Todos los tratamientos fueron incubados a una temperatura de 42 °C durante 6 horas y luego se llevó a maduración por 12 horas a 2 °C, quedando los tratamientos para la operación de batido.
- Las características tecnológicas de la incorporación de bacterias probióticas durante la elaboración de helados funcionales con crema de leche y pulpa de granadilla fueron: tiempo de batido (30 min), temperatura de batido (0 °C) y overrum (30 ± 5), y optimizando el proceso mediante el programa Desing Expert se determinó como mejor tratamiento el T3 (13 % de pulpa y 3,0 % de M.O.).
- Las características físico-químicas y microbiológicas del producto optimo tomando en cuenta los parámetros del tratamiento T3, fueron: sólidos solubles (16 %), pH (4.45 (± 0,02) %), acidez titulable (1.27 (± 0,03) %), humedad (68.67 (± 0,03) %), grasa (10.21 (± 0,26) %), sólidos totales (31.33 (± 0,05) %), proteínas (10.95 (± 0,14) %), cenizas (2.82 (± 0,02) %), fibra (0.43 (± 0,03) %), carbohidratos (6.92 %); microorganismos probióticas 6,150 Log ufc/g (día 1) y 5,788 Log ufc/g (día 30); y la carga microbiana se encontró debajo de los límites permisibles establecidos por DIGESA. Resultados

que muestran que el helado de crema con microorganismos probióticos y pulpa de granadilla puede ser considerado como alimento funcional.

- Las características sensoriales del tratamiento T3 (13 % de pulpa y 3,0 % de M.O.) muestra mayor aceptabilidad, en la mayoría de los atributos tales como olor, sabor, color, textura y apariencia general con un rango promedio de 140,58, 118,03, 94,33, 113,65 y 114,50, respectivamente logrando una aceptación de bueno.

RECOMENDACIONES

- Realizar un proceso de obtención, purificación, caracterización y evaluación de la potencia prebiótico de la pulpa de la granadilla para realizar estudios posteriores.
- Realizar estudios in vivo para determinar la eficiencia de la viabilidad dentro del aparato digestivo.
- Desarrollar estudios sobre capacidad funcional de los productos que generen bienestar real a la salud en la cantidad necesaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aarsland, A., Chinkes, D. & Wolfe, R.R. (1996). Contribution of the novo synthesis of fatty acids to total VLDL-triglyceride secretion during prolonged hyperglycemia/hyperinsulinemia in normal man. *J. Clin. Invest.* 98, 2008-2017. Texas, USA. Recuperado de: <https://www.jci.org/articles/view/119005/pdf>
- Açu, M., Kinik, Ö., & Yerlikaya, O. (2017). Functional properties of probiotic ice cream produced from goat's milk. *Carpathian journal of food science and technology*, 9(4), 86–100. Esmirna, Turquia. recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/322636182_Functional_properties_of_probiotic_ice_cream_produced_from_goat's_milk
- Afzaal, M., Saeed, F., Arshad, M. U., Nadeem, M. T., Saeed, M., & Tufail, T. (2018). The effect of encapsulation on the stability of probiotic bacteria in ice cream and simulated gastrointestinal conditions. *Probiotics and antimicrobial proteins*. Faisalabad, Pakistan. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9485-9>
- AOAC. (1990). *Official methods of analysis*. Association of Official Agricultural Chemists. 15th ed. Washington. USA.
- AOAC. (2000). *Official methods of analysis*. Association of Official Agricultural Chemists. 16 th ed. Washington. USA.

Benalcazar, A., Canessa, G., Guabloche, M., Silva, H., & Peirano, G. (2001). Granadilla extracto y fresco. Seminario de Agro Negocios. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/295240642/Agronegocios-Con-Granadilla>

Bernal, J.A. (1990). El Cultivo de La Granadilla (*Passiflora Ligularis*). En Memorias I Simposio Internacional de Passifloras, pp. 153-163. Palmira, Colombia.

Brandt, L.A. (2001). Prebiotics enhance gut health. Prepared Foods. 170, 7-10. recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/284072706_Prebiotics_enhance_gut_health

Cabrera, C. A. (2006). Caracterizacion de las propiedades fisicas y quimicas del fruto de granadilla. (Tesis de grado). Universidad Técnica Del Norte. Ibarra, Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/464>

CEA (CENTRO DE ESTUDIOS AGROPECUARIOS). (2001). Productos lácteos. México, Iberoamérica

Carbajal, L., Sandra, T., Lizeth, M., Rodriguez, A., Julie, A., Karla, B., Parra, M. (2014). Relationship between the folk uses of the granadilla Plant (*Passiflora Ligularis* Juss) And Its Phytochemical Composition. 12(2), 185–196. Medellin, Colombia. recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612014000200021

Cardelle Cobas A, Fernández M, Salazar N, Martínez-Villaluenga C, Villamiel M, Ruas-Madiedo P, de los Reyes-Gavilán C. (2009). Bifidogenic effect and stimulation of short chain fatty acid production in human faecal slurry cultures by oligosaccharides derived from lactose and lactulose. *J Dairy Res*; 76: 317-325.

Cashman, K.D. (2002). Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. *Brit. J. Nutr.* 87, 169-177. Cork, Irlanda. Recueprado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12088515>

Champagne, C. P., Gomes da Cruz, A., & Daga, M. (2018). Strategies to improve the functionality of probiotics in supplements and foods. *Current Opinion in Food Science*, 22, 160–166. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.04.008>

Champagne, C. P., Ross, R. P., Saarela, M., Hansen, K. F., & Charalampopoulos, D. (2011). Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. *International Journal of Food Microbiology*, 149(3), 185–193. Reccuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.005>

Chiquetti, R. L., Castro, E. M., Valério, G. D., Bernini, L. J., Suguimoto, H. H., Santana, E. H. W., Souza, C. H. B. (2016). Viability of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* La-5 in ice cream: Effect of lactose hydrolysis and overrun. *International Food Research Journal*, 23(6), 2631–2637. Londrina, Brasil. Recuperado de:

[http://www.ifrj.upm.edu.my/23%20\(06\)%202016/\(45\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/23%20(06)%202016/(45).pdf)

Collins, J.K., Thornton, G. y Sullivan, G.D. (1998). Selection of probiotic strains for human applications. *Int. Dairy J.* 8, 487-490. recuperado de: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=GB1997054897>

Corzo, N., Alonso, J.L., Azpiroz, F., Calvo, M.A., Cirici, M., Leis, R., Lombó, F., Mateos-Aparicio, I., Plou, F.J., Ruas-Madiedo, P., Rúperez, P., Redondo-Cuenca, A., Sanz, M.L. & Clemente, A., (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutr. Hosp.* 31, 99-118.

Crittenden, R.G. y Playne, M.J., (1996). Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends Food Sci. Tech.* 7, 353-360.

Cummings J.H., Roberfroid M.B. and members of the Paris Carbohydrate Group: Anderson, H., Barth, C., Ferro-luzzi, A., Ghos, Y., Gibney, M., Hermosen, K., James, W.P.T., Korver, O., Lairon, D., Pascal, G. & Voragen A., (1997). A new look at dietary carbohydrate: chemistry, physiology and health. *Eur. J. Clin. Nutr.* 51, 417-423.

Cruz, A. G., Antunes, A. E. C., Sousa, A. L. O. P., Faria, J. A. F., & Saad, S. M. I. (2009). Ice-cream as a probiotic food carrier. *Food Research International*, 42(9), 1233–1239. recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.020>

Cuya, E. (2018). Propagacion de granadilla (*passiflora lingularis*), empleando dos fromas de injerto, dos tipos de pluma y dos camaras humedas individuales. (tesis de grado). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3557/cuya-curo-pedro-enrique2.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

Dass, N.B., John, A.K., Bassil, A.K., Crumbley, C.W., Shehee, W.R., Maurio, F.P., Moore, G.B.T., Taylor, C.M. y Sanger, G.J., (2007). The relationship between the effects of short chain fatty acids on intestinal motility in vitro and GPR43 receptor activation. *Neurogastroent. Motil.*19, 66-74.

Di Bartolo, E. (2005). Guía para la elaboración de helados. Recuperado de: <https://es.scribd.com/document/36267274/GUIA-HELADOS>

DIGESA. (2003). Criterios microbiologicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Normas Legales. Lima, Peru.

Dunne, C., Mahony, L. O., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., Halloran, S. O., Collins, J. K. (2018). In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin : correlation with in vivo findings 1 – 4. *73*(February), 386–392. USA. Recuperado de: <https://pdfs.semanticscholar.org/60c0/4335d7e16d7ca829d5688794f908a55e12cb.pdf>

Eras, J. (2013). Deterinacion de parametros tecnicos para la elaboracion de helados con

frutas nativas del canton Loja. (Tesis de grado). Universidad Nacional de Loja. Loja, Ecuador. recuperado de: <https://docplayer.es/11885850-Determinacion-de-parametros-tecnicos-para-la-elaboracion-de-helados-con-frutas-nativas-del-canton-loja.html>

Escobar, Y., Pardo, E., Buitrago Hurtado, G., & López Fernández, L. (2004). Análisis exploratorio para la optimización de un medio de cultivo para la fermentación de *Bacillus thuringiensis*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 6(2), 43–53. Recuperado de: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/525>

Espinosa, D., Rodriguez, N., Miranda, D., Fischer, G., Hernandez, M., & Melgarejo, L. (2014). Evaluación premilinar sobre la caracterización fisico-química y bio- química de frutos de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss .) En diferentes estados de madurez. 1–5. Bogota, Colombia.

FAO. (2013). Cuestiones clave relativas a los microorganismos y los invertebrados. recuperado de: <http://www.fao.org/3/mf808s/mf808s.pdf>

Favaro-Trindade, C. S., De Carvalho Balieiro, J. C., Dias, P. F., Sanino, F. A., & Boschini, C. (2007). Effects of culture, pH and fat concentration on melting rate and sensory characteristics of probiotic fermented yellow mombin (*Spondias mombin* L) ice creams. *Food Science and Technology International*, 13(4), 285–291. Recuperado de: <https://doi.org/10.1177/1082013207082387>

Fuller. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66(5), 365–378. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb05105.x>

Gibson, G.R. y Roberfroid, M.B., (1995). Dietary Modulation of the Human Colonie Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *J. Nutr.* 125, 1401-1412.

Gibson, G.R., (1998). Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. *Brit. J. Nutr.* 80, S209-S212.

Gibson, G., (2004). “Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics”. *Nutrition Research Reviews*, 17, 259–275.

Gill, H., & Prasad, J. (2008). Probiotics, immunomodulation, and health benefits. *Advances in experimental medicine and biology*, 606, 423–454. Recuperado de: https://doi.org/10.1007/978-0-387-74087-4_17

Golestani, M., & Pourahmad, R. (2017). Comparison of three treatments (two fermented treatments and one nonfermented treatment) in production of synbiotic ice cream. *Journal of food processing and preservation*, 41(2), 0–5. Varamin, Iran. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/jfpp.12839>

González, J. (2012). *Elaboraciones y presentaciones de helados*. 1 ed. España, IC Editorial.

Gómez Álvarez, B. (2015). Obtención, purificación, caracterización y evaluación de nuevos prebióticos a partir de subproductos agroindustriales. (tesis de grado). Universidad de Vigo. España. recuperado de: [file:///C:/Users/usuario/Downloads/Obtenci%C3%B3n,%20purificaci%C3%B3n,%20caracterizaci%C3%B3n%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/usuario/Downloads/Obtenci%C3%B3n,%20purificaci%C3%B3n,%20caracterizaci%C3%B3n%20(1).pdf)

Granato, D., Branco, G. F., Cruz, A. G., Faria, J. de A. F., & Shah, N. P. (2010). Probiotic dairy products as functional foods. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(5), 455–470. recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00120.x>

Gullón, B. (2011). Nuevos procesos para el aprovechamiento integral de residuos de la industria sidrera. (tesis de grado). Universidad de Vigo. Ourense, España.

Hamer, H.M.; Jonkers, D.; Venema, K.; Vanhoutvin, S.; Troost, F.J. y Brummer, R.-J. (2008). Review article: the role of butyrate on colonic function. *Aliment. Pharm. Therap.* 27, 104-119.

Hernandez, A., Guerra, Y., Pedroso, Y., & Perez, H. (2014). Desarrollo de un helado de leche con cultivos probióticos. *Tecnología Química*, XXXIV(1), 73–78. La habana, Cuba. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/4455/445543781009.pdf>

Hernandez, Alexandra, & Bernal, R. (2000). Lista de especies de Passifloraceae de

Colombia. Bogota, Colombia. recuperado de:
<https://www.redalyc.org/pdf/491/49110302.pdf>

Holzapfel, W. H. (2005). Introduction to prebiotics and probiotics. *Probiotics in Food Safety and Human Health*, 35, 1–33. Karlsruhe, Alemania. Recuperado de:
<https://doi.org/10.1201/9781420027570.ch1>

Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M. R., Yarmand, M. S., & Razavi, S. H. (2008). Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111, 50–55. Recuperado de:
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.036>

Isolauri, E. (2018). Probiotics in human disease 1–3. *73(April)*, 1142–1146. USA. recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11393192>

INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual). (2006). NTP 202.057: 2006. Leche y productos lácteos: Helados. Requisitos. 2 ed. Perú.

Jáuregui, S., Esteban, C., Rosales, M., Fernanda, M., Bustamante, G. & Cristina, A. (2015). Modelo de hidrólisis de lactosa para fermentación láctica en una base probiótica y simbiótica. *Revista Tecnológica ESPOL-RTE*, 28(3), 53–68.

Karthikeyan, N., Elango, A., Kumaresan, G., Gopalakrishnamurty, T., & Pandiyan, C. (2013). Augmentation of probiotic viability in ice cream using microencapsulation technique. *International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology* 2(1), 76–83. Recuperado de: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.920.8090&rep=rep1&type=pdf>

Kruskal, W., y Wallis, A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association*.

Lafranqui R., (2013). Desarrollo de un helado de crema con adición de cultivos probióticos. (Tesis de grado). La Habana.

Lilliefors, H. (1967). On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. *Journal of the American Statistical Association*. USA. Vol. (62). p. 399.

Liria, D. M. (2007). Guía para la evaluación Sensorial de alimentos. Instituto de Investigación Nutricional [IIN]. Perú. Recuperado de <http://es.slideshare.net/evytaguevara/gua-para-la-evaluacin-sensorial-dealimentos>

lopez, C., Beltrán C., Cardona L., Yepes G. (2006). La fruta de la pasión, potencial contribución de la naturaleza a la seguridad alimentaria. (Investigaciones Andina)

Pereira, Colombia. Recuperado de: redalyc.org/pdf/2390/239017506007.pdf }

Lorenzo, F., Diofanor, A., & Ordoñez, M. (2015). Alimentos funcionales: impacto y retos para el bienestar de la sociedad Colombiana. *Biotechnología en el sector agrario y agroindustrial*, 13(2), 140–149. recuperado de: <https://www.revistavirtualpro.com/biblioteca/produccion-y-aplicacion-de-enzimas-industriales>

.MacFarland LV, Elmer GM. Properties of evidence-based probiotics for human health. In: Goklepe I, Juneja V eds. *Probiotics in food safety and human health*: New York Marcel Dekker, Inc, 2005:109–37

MacFarlane, G.T. y Macfarlane, S., (2007). Models for intestinal fermentation: association between food components, delivery systems, bioavailability and functional interactions in the gut. *Curr. Opin. Biotech.* 18, 156-162.

Macfarlane GT, Steed H, Macfarlane S., (2008). Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *J Appl Microbiol*; 104: 305-344.

Madrid, A., Cenzano, I., (2003). *Helados, elaboración y análisis de control de calidad*. Editorial Mundi Prensa. Madrid, España.

Madrid, A. (1996). Curso de Industrias Lácteas. 1 ed. Mundi-Prensa. AMV

Manning, T.S. y Gibson, G.R., (2004). Prebiotics. Best Pract. Res Cl. Ga.18, 287-298.

Martínez, M., (2012). Producción y purificación de nuevos prebióticos a partir de subproductos agroindustriales. (tesis de grado). Universidad de Vigo. Ourense, España.

Mayo, B., Delgado, S., Rodríguez, J.M. & Gueimonde, M., (2008). Old and new facts of probiotics: Where we are and where we are going. CAB Reviews: Perspectives in agriculture, veterinary science, nutrition and natural resources, article number 055.

Melgarejo, L. M. (2015). Granadilla (*Passiflora ligularis* Juss): Caracterización ecofisiológica del cultivo. Universidad Nacional de Colombia. Bogota, Colombia.
Disponible en: <http://uneditorial.net/uflip/granadilla-caracterizacion-ecofisiologica/pubData/source/Granadilla.pdf>

Mohammadi, R. & Mortazavian, A.M. (2011). Tehcnological aspects of prebiotics in probiotic fermented milks. Food Rev. 27, 192-212.

Mussatto, I. & Mancilha M., (2007). Non-digestible oligosaccharides. A Review. Carbohydr. Polym. 68, 587-597.

Negri, L. (2005). Manual de Referencias técnicas para el logro de leche de calidad. El Ph y

La Acidez de La Leche, 155–161. recuperado de: <http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/pH-y-acidez-en-leche2.pdf>

Nielsen, H. (2000). Manual de producción de helados. In. Seminario Grindsted sobre Nuevos aspectos en la fabricación de helados y postres congelados.

Olagnero, G., Abad, A., Bendersky, S., Genevois, C., Granzella, L., & Montonati, M. (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos Functional foods: Fiber, Prebiotics, Probiotics and Simbiotics. DIAETA (B.Aires), 20(25). Recuperado de: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-480573>

Otileno, D.O & Ahring, B.K., (2012). The potential for oligosaccharide production from the hemicellulose fraction of biomasses through pretreatment processes: Xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS), and mannoooligosaccharides (MOS). Carbohydr. Res. 360, 84-92.

Ouwehand, A.C.; Derrien, M.; de Vos, W.; Tiihonen, K. & Rautonene, N., (2005). Prebiotics and other microbial substrates for gut functionality. Curr. Opin. Biotechnol. 16, 212- 217.

Ranadheera R., (2010). “Importance of food in probiotic efficacy”. Food Research International, 43, 1-7.

Roberfroid, M. & Slavin, J. (2000). Nondigestible oligosaccharides. Crit. Rev. Food Sci. 40,

461-480.

Roberfroid, M., Gibson, G.R., Hoyles, L., McCartney, A.L., Rastall, R., Rowland, I., Wolvers, D., Watzl, B., Szajewska, H., Stahl, B., Guarner, F., Respondek, F., Whelan, K., Coxam, V., Davicco, M.J., Le´Otoing, L., Wittrant, Y., Delzenne, N. M., Cani, P.D., Neyrinck, A.M. & Meheust, A. (2010). Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *Br. J. Nutr.*, 104, 1-63.

Ruiz, R. (2017). Produccion de helados a nivel industrial.. (tesis de grado). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Peru.

Sánchez, F., y Vega, G. (2008). SPSS Pruebas no paramétricas. Universidad de Castilla. España.

Sako, T., Matsumoto, K. & Tanaka, R. (1999). Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. *Int. Dairy J.* 9, 69-80.

Scholz-Ahrens, K.E., Schaafsma, G., van den Heuvel, E.G.H.M. & Schrezenmeir, J. (2001). Effects of prebiotics on mineral metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 73, 459-464.

Shah, N. P. (2000). Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83(4), 894–907. Recuperado de: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74953-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74953-8)

- Shah, Nagendra P. (2007). Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*, 17(11), 1262–1277. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.01.014>
- Shi, L. E., Li, Z. H., Zhang, Z. L., Zhang, T. T., Yu, W. M., Zhou, M. L., & Tang, Z. X. (2013). Encapsulation of *Lactobacillus bulgaricus* in carrageenan-locust bean gum coated milk microspheres with double layer structure. *LWT - Food Science and Technology*, 54(1), 147–151. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.027>
- Shoaf-Sweeney, K.D. & Hutkins, R.W. (2009). Adherence, anti-adherence, and oligosaccharides preventing pathogens from sticking to the host. *Adv. Food Nutr. Res.* 55, 101- 161.
- Singh, J. K., & Maloo, S. (2018). Enrichment of probiotic ice-cream with prebiotic green banana flour (Resistant starch). Telangana, India. Recuperado de: [file:///C:/Users/usuario/Downloads/3-6-48-137%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/usuario/Downloads/3-6-48-137%20(3).pdf)
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B. & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review. *Appetite*, 51, 456-467
- Sofjan, R. P., & Hartel, R. W. (2004). Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. *International Dairy Journal*, 14(3), 255–262. Recuperado

de: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.08.005>

Suárez, J. E. (2015). Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. *Nutricion Hospitalaria*, 31, 3–9. Recuperado de: <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.sup1.8701>

Swennen, K., Courtin C.M. & Delcour J.A. (2006). Non-digestible oligosaccharides with prebiotic properties. *Crit. Rev. Food Sci.* 46, 459-471.

Talwalkar, A., & Kailasapathy, K. (2004). A Review of Oxygen Toxicity in Probiotic Yogurts: Influence on the Survival of Probiotic Bacteria and Protective Techniques. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 3(3), 117–124. Recuperado de: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2004.tb00061.x>

Timm, F., Hirsing, I., Buchner, H., Lips, P. & Geyer, J. (1989). *Tecnología de la elaboración de helados*. Zaragoza, España, Acribia.

Vasiljevic, T., & Shah, N. P. (2008). Probiotics-From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18(7), 714–728. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.004>

Voragen, A.G.J., (1998). Technological aspects of functional food-related carbohydrates. *Trends Food Sci. Tech.* 9, 328-335.

Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A. & Van B. (2001). Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos. Zaragoza, España, Acribia.

Wang, X. y Gibson, G.R., (1993). Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. J. Appl. Bacteriol. 75, 373-380.

Wang, Y. (2009). Prebiotics: Present and future in food science and technology. Food Res. Int. 42, 8-12.

ANEXOS

ANEXO 3: DATOS DE LOS ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS DEL ZUMO DE

Análisis físico química del zumo de granadilla						
características	unidad	R1	R2	R3	Media	DesvStand ±
sólidos solubles	°Brix	14	14	14.2	14.07	0.12
Ph		4.93	4.96	4.97	4.95	0.02
Acidez titulable (a.c)	%	0.35	0.38	0.37	0.37	0.02
Humedad	%	86.03	86.32	86.13	86.16	0.15
Grasa	%	0.55	0.5	0.53	0.53	0.03
Sólidos totales	%	13.97	13.68	13.87	13.84	0.15
Proteínas	%	0.46	0.46	0.48	0.47	0.01
Cenizas	%	1.14	1.13	1.13	1.13	0.01
Fibra	%	0.42	0.4	0.42	0.41	0.01
carbohidratos	%	*	*	*	11.3	*

GRANADILA

ANEXO 4: DATOS DE LOS ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS DEL PRODUCTO

ÓPTIMO

Análisis físico química del zumo del producto óptimo						
características	unidad	R1	R2	R3	Media	DesvStand ±
sólidos solubles	°Brix	15.5	16	16	16	0.29
Ph		4.46	4.45	4.43	4.45	0.02
Acidez titulable (a.l)	%	1.26	1.23	1.25	1.25	0.01
Humedad	%	68.69	68.68	68.64	68.67	0.03
Grasa	%	10.01	10.5	10.12	10.21	0.26
Sólidos totales	%	31.29	31.39	31.3	31.33	0.06
Proteínas	%	11.06	10.8	11	10.95	0.14
Cenizas	%	2.84	2.83	2.8	2.82	0.02
Fibra	%	0.43	0.42	0.44	0.43	0.01
carbohidratos	%	*	*	*	11.3	*

ANEXO 5: FICHA TECNICA DE LOS MICROORGANISMOS PROBIOTICOS



FD-DVS ABY-3 Probio-Tec®

Product Information

Version: 3 PI-EU-EN 12-08-2011

Description Thermophilic lactic acid culture. Contains the documented probiotic strains BB-12® and LA-5®. The strains have a long history of safe use.

Taxonomy Bifidobacterium species
Streptococcus thermophilus
Lactobacillus acidophilus
Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus

Packaging **Material No:** 669852 **Size** 10X50 U **Type** Pouch(es) in box

Physical Properties **Color:** Off-white to slightly reddish or brown
Form: Granulate

Application **Usage**
The culture will produce yoghurt or fermented milk with high body, very mild flavor and very low post-acidification. Suitable for cup set, stirred and drinking yoghurt.

Recommended inoculation rate

Amount of milk to be inoculated	250 l/ 70 gal	1,000 l/ 300 gal	2,500 l/ 700 gal
Amount of DVS culture	50 U	200 U	500 U

Directions for Use

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

Range Cultures in this series include ABY-1(freeze-dried), ABY-4 (frozen) and ABY-2, ABY-3 and ABY-10 (frozen or freeze-dried).

Storage and handling < -18 °C / < 0 °F

FD-DVS ABY-3 Probio-Tec®

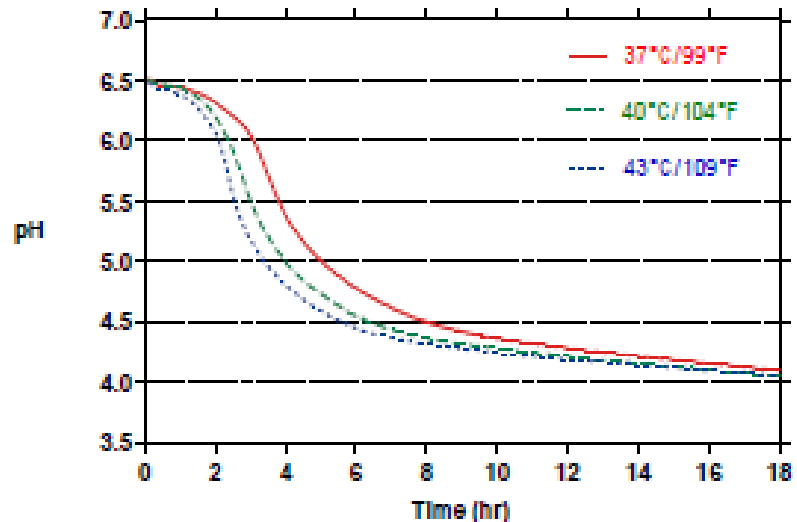
Product Information

Version: 3 PI-EU-EN 12-08-2011

Shelf life

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

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

Technical Data**Acidification curve**

Fermentation conditions:

Whole milk +2 % skim milk powder (85°C/185°F, 30 minutes)

Inoculation: 500U/2500L

Analytical Methods

References and analytical methods are available upon request.

Legislation

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

The product is intended for use in food.

Food Safety

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

FD-DVS ABY-3 Probio-Tec®

Product Information

Version: 3 PI-EU-EN 12-08-2011

Allergen Information

List of common allergens in accordance with the US Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act of 2004 (FALCPA) and EU labeling Directive 2000/13/EC with later amendments	Present as an Ingredient in the product
Cereals containing gluten* and products thereof	No
Crustaceans and products thereof	No
Eggs and products thereof	No
Fish and products thereof	No
Peanuts and products thereof	No
Soybeans and products thereof	No
Milk and products thereof (including lactose)	Yes
Nuts* and products thereof	No
List of allergens in accordance with EU labeling Directive 2000/13/EC only	
Celery and products thereof	No
Mustard and products thereof	No
Sesame seeds and products thereof	No
Lupine and products thereof	No
Mollusks and products thereof	No
Sulphur dioxide and sulphites at concentrations of more than 10 mg/kg or 10 mg/litre, expressed as SO ₂	No

* Please consult the EU Labeling Directive 2000/13 Annex IIIa for a legal definition of common allergens, see European Union law at: www.eur-lex.europa.eu

ANEXO 6: FOTOS DE LA INVESTIGACION



Granadilla



Selección del fruto



Pesado



Lavado y desinfección



Extracción de la pulpa de granadilla



Determinación del pH de la pulpa del fruto



Determinación de la acidez de la pulpa del fruto



Acondicionamiento de la pulpa



Pasteurización de la mezcla base



Pesado de microorganismos benéficos



Acondicionamiento de M.O



Inoculación



Mezcla inicial para análisis



Adición en frascos estériles



Baño maría



Acondicionamiento de la temperatura y tiempo



Determinación del pH de la mezcla final



Determinación de la acidez



Muestra para analizar °Brix



Observación de °Brix



Adición de insumos después de la maduración



Batido y aumento de volumen (overrum)



Congelación rápida en la maquina soft



Endurecimiento y almacenamiento



Medio de cultivo para microorganismos
beneficos



Proceso de siembra microbiológica



Contador de colonias



Análisis de microorganismo patógenos



Determinación de humedad



Determinación de ceniza



Determinación de grasa



Pesado y análisis de contenido de grasa



Proteína - proceso de digestión



Reactivos para determinar proteínas



Equipo para determinación de proteínas



Preparación de muestras para evaluación sensorial

Proceso de Validación y Confiabilidad

Procedimiento de validación y confiabilidad



UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRION

FICHA DE VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

I. DATOS GENERALES:

- 1.1. Apellidos y nombres del Informante: Matencio Gerónimo Rafael
- 1.2. Grado académico: Magister
- 1.3. Cargo e Institución donde labora: Director de la EFP Industrias Alimentarias UNDAC.
- 1.4. Título de la Investigación: Elaboración de helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla (*Passiflora ligularis*)
- 1.5. Autor del Instrumento: DURAN MUCHA Anadela Roco
- 1.6. Nombre del Instrumento:
 - Análisis físico-químico
 - Análisis microbiológico
 - Análisis sensorial

II. ASPECTO DE VALIDACIÓN:

INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Buena 41-60%	Muy buena 61-80%	Excelent e81- 100%
CLARIDAD	Los indicadores están formulado con lenguaje apropiado y claros				X	
OBJETIVIDAD	Los indicadores que se están midiendo están expresados en conductas observables				X	
ACTUALIDAD	Usa instrumentos y métodos actuales					X
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica				X	
SUFICIENCIA	Comprende los aspectos en calidad y claridad				X	
INTENCIONALIDAD	Es adecuado para poder determinar los aspectos del estudio					X
CONSISTENCIA	Basado en aspectos teórico científicos					X
COHERENCIA	Lleva relación cada aspecto la tabla				X	
METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito de la estrategia					X
OPORTUNIDAD	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías					X

III. PROMEDIO DE VALIDACIÓN: 88%

IV. OPINIÓN DE APLICACIÓN:

- Elaboración de helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla (*Passiflora ligularis*)

Chanchamayo, 31 de diciembre de 2022	20576760		964689031
Lugar y Fecha	N.º DNI	Firma del experto	Nº Celular

Procedimiento de validación y confiabilidad



UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRION

FICHA DE VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

I. DATOS GENERALES:

- 1.1. Apellidos y nombres del Informante: FERNANDEZ LIMACHE Abel
- 1.2. Grado académico: Ingeniero en Industrias Alimentarias
- 1.3. Cargo e Institución donde labora: Jefe de Planta / Agros Natural
- 1.4. Título de la Investigación: Elaboración de helados funcionales con crema de leche Incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla (*Passiflora ligularis*)
- 1.5. Autor del Instrumento: DURAN MUCHA Anabela Rocio
- 1.6. Nombre del Instrumento:
 - Análisis físico-químico
 - Análisis microbiológico
 - Análisis sensorial


II. ASPECTO DE VALIDACIÓN:

INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Buena 41-60%	Muy buena 61-80%	Excelent «81- 100%
CLARIDAD	Los indicadores están formulado con lenguaje apropiado y claros				X	
OBJETIVIDAD	Los indicadores que se están midiendo están expresados en conductas observables				X	
ACTUALIDAD	Usa instrumentos y métodos actuales					X
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica				X	
SUFICIENCIA	Comprende los aspectos en calidad y claridad				X	
INTENCIONALIDAD	Es adecuado para poder determinar los aspectos del estudio					X
CONSISTENCIA	Basado en aspectos teórico científicos					X
COHERENCIA	Lleva relación cada aspecto la tabla					X
METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito de la estrategia					X
OPORTUNIDAD	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías					X

III. PROMEDIO DE VALIDACIÓN: 86%

IV. OPINIÓN DE APLICACIÓN:

- Elaboración de helados funcionales con crema de leche Incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla (*Passiflora ligularis*)

Chanchamayo, 31 de diciembre de 2022	47600005	 <small>FERNANDEZ LIMACHE ABEL ING. INDUSTRIAS ALIMENTARIAS REG. CIP 277954</small>	281000442
Lugar y Fecha	N.º DNI	Firma del experto	Nº Celular

Procedimiento de validación y confiabilidad



UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRION

FICHA DE VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

I. DATOS GENERALES:

- 1.1. Apellidos y nombres del Informante: MEDINA ORE Alex Paul
- 1.2. Grado académico: Ingeniero en Industrial Alimentarias
- 1.3. Cargo e Institución donde labora: Especialista en Nutrición / CUNA MÁS
- 1.4. Título de la Investigación: Elaboración de helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla (*Passiflora ligularis*)
- 1.5. Autor del Instrumento: DURAN MUCHA Anadela Rocío
- 1.6. Nombre del Instrumento:
 - Análisis físico-químico
 - Análisis microbiológico
 - Análisis sensorial

II. ASPECTO DE VALIDACIÓN:

INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Buena 41-60%	Muy buena 61-80%	Excelent e81- 100%
CLARIDAD	Los indicadores están formulado con lenguaje apropiado y claros				X	
OBJETIVIDAD	Los indicadores que se están midiendo están expresados en conductas observables				X	
ACTUALIDAD	Usa instrumentos y métodos actuales					X
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica					X
SUFICIENCIA	Comprende los aspectos en calidad y claridad				X	
INTENCIONALIDAD	Es adecuado para poder determinar los aspectos del estudio					X
CONSISTENCIA	Basado en aspectos teórico científicos					X
COHERENCIA	Lleva relación cada aspecto la tabla				X	
METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito de la estrategia					X
OPORTUNIDAD	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías					X

III. PROMEDIO DE VALIDACIÓN: 88%

IV. OPINIÓN DE APLICACIÓN:

- Elaboración de helados funcionales con crema de leche incorporando bacterias probióticas y pulpa de granadilla (*Passiflora ligularis*)

Chanchamayo, 31 de diciembre de 2022	20054217		037565561
Lugar y Fecha	N.º DNI	Firma del experto	Nº Celular


ALEX P. MEDINA ORE
INGENIERO EN INDUSTRIAL ALIMENTARIAS
DPI Nº 21026