



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TRABAJO DE TITULACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TÍTULO

**“DETERMINACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* EN HELADOS DE LECHE
ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN TIENDAS DEL SECTOR MUCHO
LOTE 1 EN LA PARROQUIA TARQUI, GUAYAQUIL.”**

AUTORES

MARTÍNEZ GARCÍA LUIS MIGUEL
SÁNCHEZ CABRERA KARLA IVANOVA

TUTORA

DRA. MARÍA GUADALUPE GARCÍA MG. SC.

GUAYAQUIL, ABRIL 2022



**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA			
FICHA DE REGISTRO DE TESIS			
TÍTULO: "DETERMINACIÓN DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> EN HELADOS DE LECHE ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN TIENDAS DEL SECTOR MUCHO LOTE 1 EN LA PARROQUIA TARQUI,			
AUTORES: MARTÍNEZ GARCÍA LUIS MIGUEL SÁNCHEZ CABRERA KARLA IVANOVA		REVISOR: ROBERTO DARWIN COELLO PERALTA	
INSTITUCIÓN: Universidad de Guayaquil		FACULTAD: FMVZ	
CARRERA: Medicina Veterinaria y Zootecnia			
FECHA DE PUBLICACIÓN: 25 de abril del 2022		N° DE PÁGS.: 90	
ÁREA TEMÁTICA: SALUD ANIMAL			
PALABRAS CLAVES: Helados artesanales, Escherichia coli, Placas petrifilm			
<p>RESUMEN: En la Ciudad de Guayaquil – Ecuador, parroquia Tarqui, en el sector de Mucho Lote 1, se realizó una investigación de tipo cuantitativa, diseño no experimental, descriptiva de corte transversal, analítica, con la técnica de muestreo no probabilístico por conveniencia en helados artesanales a base de leche de 2 marcas para determinar la presencia de <i>Escherichia coli</i>, tomando como referencia y siguiendo las reglas de los análisis de la Norma Técnica Ecuatoriana NTE Norma NTE INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS.</p> <p>De acuerdo con los resultados de la encuesta efectuada a los diferentes propietarios de 15 tiendas a lo largo del sector se lograron identificar las 2 marcas más vendidas de helados artesanales a base de leche. Contando con un total de 30 muestras de dichos productos, la determinación de <i>Escherichia. coli</i> se realizó siguiendo el método de placas Petrifilm.</p> <p>Los resultados de los análisis microbiológicos mostraron que de las 2 marcas analizadas en el estudio una de ellas no cumple con lo establecido por la Norma NTE INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS</p>			
N° DE REGISTRO (en la base de datos):		N° DE CLASIFICACION	
DIRECCION URL (tesis de la web): www.ug.edu.ec			
ADJUNTO PDF	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
CONTACTO CON AUTORES: MARTÍNEZ GARCÍA LUIS MIGUEL SÁNCHEZ CABRERA KARLA IVANOVA		TELEFONOS: 0959125518 0986020215	E-mail: luis.martinezg@ug.edu.ec E-mail: karla.sanchezc@ug.edu.ec
CONTACTO DE LA INSTITUCION:		NOMBRE: Secretaria de la Facultad	
		TELEFONO: (03)2848487 Ext. 123	
		E-mail: fca@uta.edu.ec	

HOJA DE APROBACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN
TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO
DE MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

Los miembros del tribunal de sustentación designados por la comisión interna de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, damos por aprobado la presente investigación con la nota de **9,33** equivalente a **Muy Bueno** del estudiante **Martínez García Luis Miguel**.



Firmado electrónicamente por:
GEORGIA ELENA
MENDOZA CASTAÑEDA

Dra. MENDOZA CASTAÑEDA GEORGIA ELENA

Presidente del tribunal



Firmado electrónicamente por:
ROBERTO DARWIN
COELLO PERALTA

Dr. COELLO PERALTA ROBERTO DARWIN

Revisor



Firmado electrónicamente por:
MARIA LOURDES
SALAZAR MAZAMBA

Dra. SALAZAR MAZAMBA MARÍA DE LOURDES

Docente de área



HOJA DE APROBACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN

TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

Los miembros del tribunal de sustentación designados por la comisión interna de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, damos por aprobado la presente investigación con la nota de **9,33** equivalente a **Muy Bueno** del estudiante **Sánchez Cabrera Karla Ivanova**



Firmado electrónicamente por:
GEORGIA ELENA
MENDOZA CASTAÑEDA

Dra. MENDOZA CASTAÑEDA GEORGIA ELENA

Presidente del tribunal



Firmado electrónicamente por:
ROBERTO DARWIN
COELLO PERALTA

Dr. COELLO PERALTA ROBERTO DARWIN

Revisor



Firmado electrónicamente por:
MARIA LOURDES
SALAZAR MAZAMBA

Dra. SALAZAR MAZAMBA MARÍA DE LOURDES

Docente de área



INFORME DE TUTORÍA

Guayaquil, Marzo de 2022

Guayaquil, 17 Marzo de 2022

Dr.
Pablo Ricardo Torres Lasso, Mg.Sc. – Subdecano
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad de Guayaquil
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Envío a usted el informe correspondiente a las tutorías realizadas al Trabajo de Titulación “**DETERMINACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* EN HELADOS DE LECHE ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN TIENDAS DEL SECTOR MUCHO LOTE 1 EN LA PARROQUIA TARQUI, GUAYAQUIL**”, de los estudiantes **MARTÍNEZ GARCÍA LUIS MIGUEL** y **SANCHEZ CABRERA KARLA IVANOVA**, indicando que han cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente.

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que las estudiantes están aptas para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente:

Dra. María Guadalupe García
Moncayo Mg.Sc. /Tutor de Trabajo
de Titulación
CI: 1707541726
Fecha: 17/03/2022



Firmado electrónicamente por:
MARIA GUADALUPE
GARCIA MONCAYO

CERTIFICADO DEL PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado Dra. María Guadalupe García Moncayo Mg.Sc., tutor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por Luis Miguel Martínez García y Karla Ivanova Sánchez Cabrera, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista.

Se informa que el trabajo de titulación: Determinación de *Escherichia coli* en helados de leches artesanales comercializadas en tiendas del sector Mucho Lote 1 en la parroquia Tarqui, Guayaquil ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa anti-plagio (URKUND) quedando el 4 % de coincidencia.

URKUND	
Documento	MARTINEZ & SANCHEZ - TITULACIÓN 21-22 TI2 - 19-03-2022.pdf (D130888209)
Presentado	2022-03-19 16:29 (-05:00)
Presentado por	Pablo Torres Lasso (pablo.torresl@ug.edu.ec)
Recibido	pablo.torresl.ug@analysis.orkund.com
	4% de estas 14 páginas, se componen de texto presente en 3 fuentes.

Link del resultado: <https://secure.orkund.com/view/125025565-926697-996260>

Dra. María Guadalupe García
Moncayo Mg.Sc. /Tutor de Trabajo
de Titulación
CI: 1707541726



Firmado electrónicamente por:
MARIA GUADALUPE
GARCIA MONCAYO



INFORME DEL DOCENTE REVISOR

Guayaquil, Marzo 2022

Dr Pablo Torres Lasso MSc
Subdecano
Universidad de Guayaquil
Ciudad.

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la REVISIÓN FINAL del Trabajo de Titulación “**DETERMINACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* EN HELADOS DE LECHE ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN TIENDAS DEL SECTOR MUCHO LOTE 1 EN LA PARROQUIA TARQUI, GUAYAQUIL**”, de los estudiantes **MARTÍNEZ GARCÍA LUIS MIGUEL** y **SANCHEZ CABRERA KARLA IVANOVA**. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

- ✓ El título tiene un máximo de 22 palabras.
- ✓ La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.
- ✓ El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.
- ✓ La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.
- ✓ Los soportes teóricos son de máximo 5 años.

La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

- ✓ El trabajo es el resultado de una investigación.
- ✓ El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- ✓ El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- ✓ El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que el estudiante está apto para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,

Dr. Roberto Darwin Coello Peralta
Docente Tutor Revisor de Trabajo de Titulación
CI: 1204443137
Fecha: 12/05/2022



Firmado electrónicamente por:
**ROBERTO DARWIN
COELLO PERALTA**

**LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO
NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS**

Nosotros, **Luis Miguel Martínez García**, con C.I. N° 0923228514 y **Karla Ivanova Sánchez Cabrera**, con C.I. N° 0706964384, certificamos que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es “**DETERMINACIÓN DE ESCHERICHIA COLI EN HELADOS DE LECHE ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN TIENDAS DEL SECTOR MUCHO LOTE 1 EN LA PARROQUIA TARQUI, GUAYAQUIL**”, son de nuestra absoluta propiedad y responsabilidad y según el artículo 114 del “CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS CREATIVIDAD E INNOVACIÓN”, autorizamos el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines no académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo, como fuera pertinente.



Luis Miguel Martínez García
C.I: 0923228514



Karla Ivanova Sánchez Cabrera
C.I: 0706964384

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.



DEDICATORIA

Dedico a en primer lugar la realización de este logro a Dios, por brindarme las mejores de sus mejores bendiciones, una familia que me ha apoyado incondicionalmente, así como poner en mi camino a amistades increíbles que me han motivado y me han enseñado muchísimo a lo largo de estos años, y todos esos docentes que con su paciencia me han sabido guiar a lo largo y ancho de esta carrera universitaria y sobre todo en este proceso de titulación.

La realización de estos logros se los dedico a ustedes, madre, hermano, tías, amigos y docentes.

Luis Miguel Martínez García

C.I: 0923228514



DEDICATORIA

Este trabajo de grado se lo quiero dedicar con mucho amor y cariño a mis padres por el apoyo incondicional que me han dado durante lo largo de la carrera, por formarme con reglas y algunas libertades, pero al final siempre me han apoyado en todo. Y, por último, pero no menos importantes a mi abuelita Rosita y a mi ñaño Isidro gracias por su incondicional apoyo de todos los días

Karla Ivanova Sánchez Cabrera

C.I: 0706964384



AGRADECIMIENTO

En primer lugar, a Dios, por otorgarme la oportunidad de vivir esta increíble experiencia, así como de otorgarme fuerza de voluntad y paciencia para cursar esta carrera y dicho proceso con de la manera más satisfactorias.

A mi Madre, Lucrecia que, a pesar de la enorme distancia, me ofreció sus mejores consejos, su apoyo, paciencia y amor incondicional para poder culminar este sueño y ansiada meta

A mi hermano Luis Eduardo que hizo más llevadera esta importante etapa de mi vida gracias a sus consejos, apoyo y paciencia.

A mi Tía Nori García por toda la ayuda, cariño y paciencia que me pudo brindar en la etapa final de este proceso

A mi gran amiga y compañera de tesis Karla Ivanova, que gracias a sus experiencias pude ser una persona con mucha más madurez y por ser la mejor compañía que me ofreció la vida.

Finalmente a mi tutora, la Dra, María Guadalupe García Mg.Sc por haberme guiado a lo largo de este proceso de titulación, a mi tutora grupal, la Dra, María de Lourdes Salazar Mazamba

Luis Miguel Martínez García

C.I: 0923228514



AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a dios los resultados de este trabajo de investigación, por darme la valentía y la fuerza para continuar con uno de mis sueños más deseados.

A mis padres Feliciano y Maritza que, con su esfuerzo, su trabajo y sacrificio en estos 5 años de carrera nunca dejaron de hacerlo, gracias a ustedes he llegado hasta aquí.

A mis hermanos Bryan y Dany por su cariño y apoyo incondicional que me brindaron al largo de esta etapa de nuestras vidas.

A mi abuela Rosita Jaramillo por su amor y consejos, a mis tíos que me han brindado su apoyo, han creído en mi para que logre esta meta.

A mi gran amigo y compañero de tesis Luis Miguel por apoyarme cuando más lo necesitaba, por extenderme su mano en los momentos más difíciles.

Finalmente a mi tutora, la Dra, María Guadalupe García Mg.Sc por haberme guiado en la elaboración de este proyecto de titulación, a mi tutora grupal, la Dra, María de Lourdes Salazar Mazamba

Karla Ivanova Sánchez Cabrera

C.I: 0706964384



TABLA DE CONTENIDOS

CONTENIDO

FICHA DE REGISTRO DE TESIS	i
HOJA DE APROBACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN.....	ii
HOJA DE APROBACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN.....	iii
Introducción	1
1.1. Planteamiento y formulación del problema	2
1.2. Objetivos.....	2
1.2.1. <i>Objetivo General</i>	3
1.2.2. <i>Objetivo Específico</i>	3
1.3. Justificación	3
1.4. Variables.....	4
1.4.1. <i>Variable Dependiente:</i>	4
1.4.2. <i>Variable Independiente:</i>	4
1.5. Hipótesis.....	4
1.5.1. <i>Hipótesis Alternativa</i>	4
1.5.2. <i>Hipótesis Nula</i>	4
2. Marco Teórico	5
2.1. Generalidades	5
2.1.1. <i>Familia Enterobacteriaceae</i>	5
2.1.2. <i>Hábitat de las enterobacterias</i>	6
2.1.3. <i>Escherichia coli</i>	6
2.1.4. <i>Historia</i>	7
2.1.5. <i>Características</i>	7
2.1.6. <i>Clasificación</i>	8
2.1.7. <i>Fisiopatología</i>	8
2.2. Helados.....	10
2.2.1. <i>Historia</i>	10
2.2.2. <i>Beneficios del Helado Para la Salud</i>	12

2.2.3.	<i>Aporte Nutricional</i>	13
2.2.4.	<i>Tipos de Helado</i>	14
2.2.5.	<i>NTE INEN 706:2005 Primera revisión. Requisitos microbiológicos</i>	15
2.2.6.	<i>Diagrama de Flujo del Proceso de Elaboración del Helado Artesanal</i>	16
2.2.7.	<i>Descripción del Proceso Productivo del Helado Artesanal</i>	17
2.2.8.	<i>Determinación de Escherichia coli</i>	18
2.2.9.	<i>Placas Petrifilm para el recuento de Escherichia coli</i>	18
2.2.10.	<i>Aplicaciones de las Placas Petrifilm</i>	19
	Marco Metodológico.....	20
3.1.	Localización de la Zona de Estudio	20
3.1.1.	<i>Características de la Zona de Estudio</i>	20
3.1.2.	<i>Objetivo a muestrear</i>	21
3.2.	Materiales	22
3.2.1.	<i>Materiales de Campo</i>	22
3.2.2.	<i>Reactivos para Desinfección</i>	22
3.2.3.	<i>Materiales de Laboratorio</i>	22
3.2.4.	<i>Medios de Cultivos</i>	22
3.2.5.	<i>Vestimenta en Laboratorio</i>	23
3.2.6.	<i>Materiales y Equipos de Oficina</i>	23
3.2.7.	<i>Recursos Humanos</i>	23
3.3.	Metodología	23
3.3.1.	<i>Unidad de Análisis</i>	23
3.3.2.	<i>Tipo, Diseño y Técnica de la Investigación</i>	23
3.3.3.	<i>Universo y Muestra</i>	24
3.3.4.	<i>Toma de la muestra</i>	24
3.3.5.	<i>Instrumentos de Medición</i>	24
3.3.6.	<i>Análisis de Datos</i>	24
3.3.7.	<i>Metodología de Trabajo</i>	24
3.3.7.1.	<i>Envío de las muestras al laboratorio</i>	25
3.3.7.2.	<i>Realización de encuestas</i>	25
3.3.7.3.	<i>Técnica para determinar Escherichia coli</i>	25
3.3.8.	<i>Análisis estadístico</i>	26

4. Resultados	27
4.1. Determinación de <i>Escherichia coli</i>	27
4.2. Resultados de la encuesta efectuada en las 15 tiendas que expenden helados artesanales.....	38
5. Discusión.....	40
6. Conclusiones y Recomendaciones	41
6.1. Conclusiones	41
6.2. Recomendaciones	43
7. Bibliografía	44
8. Anexos	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: <i>Composición nutricional del helado</i>	13
Tabla 2: <i>Requisitos microbiológicos para helados y mezclas para helados concentrada y líquida</i>	15
Tabla 3: <i>Diagrama del proceso de elaboración del helado artesanal</i>	16
Tabla 4: <i>Determinación de Escherichia coli en helados de leche artesanales comercializados en tiendas del sector Mucho Lote 1 en la parroquia Tarqui, Guayaquil</i>	27
Tabla 5: <i>Identificación de la Presencia de Escherichia coli empleando el Método en Placas Petrifilm en Muestras de Helados de Leche Artesanales Comercializados en Tiendas del Sector Mucho Lote 1 en la Parroquia Tarqui</i>	28
Tabla 6: <i>Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con las Tiendas Muestreadas, Muestras Uno y Dos e Interpretación</i>	30
Tabla 7: <i>Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con las Condiciones Higiénicas de los Lugares de Elaboración, Muestras Uno y Dos e Interpretación</i>	31
Tabla 8: <i>Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con las Condiciones Higiénicas de los Lugares de Expendio, Muestras Uno y Dos e Interpretación</i>	32
Tabla 9: <i>Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con la Manipulación de los Helados en el Lugar de Expendio, Muestras Uno y Dos e Interpretación</i>	33
Tabla 10: <i>Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con la Temperatura de Almacenamiento de los Helados, Muestras Uno y Dos e Interpretación</i>	34
Tabla 11: <i>Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con la Marca de Helado, Muestras Uno y Dos e Interpretación</i>	35

Tabla 12: <i>Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con los Tipos de Envases, Muestras Uno y Dos e Interpretación.....</i>	36
Tabla 13: <i>Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con el pH, Muestras Uno y Dos e Interpretación.....</i>	36
Tabla 14: <i>Establecer si las muestras de helados de leche artesanales cumplen con las Normas NTE INEN 706:2005 HELADOS.REQUISITOS37</i>	
Tabla 15: <i>Evaluación de la encuesta efectuada en las 15 tiendas que expenden helado artesanal, Pregunta 1</i>	38
Tabla 16: <i>Evaluación de la encuesta efectuada en las 15 tiendas que expenden helado artesanal, Pregunta 2</i>	38
Tabla 17: <i>Evaluación de la encuesta efectuada en las 15 tiendas que expenden helado artesanal, Pregunta 3</i>	39



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Placas Petrifilm 3M para el recuento de Escherichia coli</i>	19
Figura 2: <i>Ubicación geográfica del sector de Mucho Lote 1</i>	20
Figura 3: <i>Laboratorio Servicio de Diagnostico Veterinario Yolanda Morante Felipe Pezo Campusano y Benjamín Carrión, Alborada X Etapa, Manzana 410 Villa 7 Río Gualaquiza</i>	21



ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Norma INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS.....	48
Anexo 2: Norma INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS Pág. 1	49
Anexo 3: Norma INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS Pág. 2	50
Anexo 4: Norma INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS Pág.3	51
Anexo 5: Norma INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS Pág.4	52
Anexo 6: Norma INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS Pág.5	53
Anexo 7: Norma INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS Pág.6	54
Anexo 8: Norma INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS Pág.7	55
Anexo 9: Norma INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS Pág.8	56
Anexo 10: Norma INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS Pág.9	57
Anexo 11: Norma INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS Pág.10	58
Anexo 12: Modelo de hoja de control de variables	59
Anexo 13: Modelo de hoja de control para análisis de laboratorio.....	59
Anexo 14: Modelo de hoja para la toma de muestras.....	59
Anexo 15: Recolección de muestras.....	60
Anexo 16: Muestras en su respectiva caja térmica.....	60

Anexo 17: Estudiantes de titulación realizando las respectivas compras de helados en	61
Anexo 18: Estudiantes de titulación realizando las respectivas encuestas a los dueños de las tiendas	62
Anexo 19: Estudiante de titulación guardando muestras en refrigeración antes de su envío al laboratorio para el correspondiente análisis.....	62
Anexo 20: Tabla de resultados de los análisis de las muestras recolectadas	63
Anexo 21: Tabla de resultados de los análisis de las muestras recolectadas	63
Anexo 22: Tabla de resultados de los análisis de las muestras recolectadas	64
Anexo 23: Muestras de Placas Petrifilm	65
Anexo 24: Muestras de Placas Petrifilm	65
Anexo 25: Muestras de Placas Petrifilm	65
Anexo 26: Guía de placas Petrifilm 3M para el recuento de <i>E. coli</i> . Pág.1	66
Anexo 27: Guía de placas Petrifilm 3M para el recuento de <i>E. coli</i> . Pág.2	67



**“DETERMINACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* EN HELADOS DE LECHE
ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN TIENDAS DEL SECTOR MUCHO
LOTE 1 EN LA PARROQUIA TARQUI, GUAYAQUIL”**

Autores: Luis Miguel Martínez García

Karla Ivanova Sánchez Cabrera

Tutora: Dra. María Guadalupe García Mg. Sc.

RESUMEN

En la Ciudad de Guayaquil – Ecuador, parroquia Tarqui, en el sector de Mucho Lote 1, se realizó una investigación de tipo cuantitativa, diseño no experimental, descriptiva de corte transversal, analítica, con la técnica de muestreo no probabilístico por conveniencia en helados artesanales a base de leche de 2 marcas para determinar la presencia de *Escherichia coli*, tomando como referencia y siguiendo las reglas de los análisis de la Norma Técnica Ecuatoriana NTE **Norma NTE INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS.**

De acuerdo con los resultados de la encuesta efectuada a los diferentes propietarios de 15 tiendas a lo largo del sector se lograron identificar las 2 marcas más vendidas de helados artesanales a base de leche. Contando con un total de 30 muestras de dichos productos, la determinación de *Escherichia. coli* se realizó siguiendo el método de placas Petrifilm.

Los resultados de los análisis microbiológicos mostraron que de las 2 marcas analizadas en el estudio una de ellas no cumple con lo establecido por la **Norma NTE INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS**

Palabras Claves: Helados artesanales, *Escherichia coli*, Placas petrifilm

**“DETERMINATION OF *ESCHERICHIA COLI* IN ARTISAN MILK ICE
CREAM SOLD IN STORES IN THE LOT 1 MUCHO SECTOR IN THE
TARQUI PARISH, GUAYAQUIL”**

Autoras: Luis Miguel Martínez García

Karla Ivanova Sánchez Cabrera

Tutora: Dra. María Guadalupe García Mg. Sc.

ABSTRACT

In the city of Guayaquil - Ecuador, Tarqui parish, in the Mucho Lote 1 sector, a quantitative, non-experimental, descriptive, cross-sectional, analytical, non-probabilistic sampling technique was used to determine the presence of *Escherichia coli* in artisanal milk-based ice cream of two brands, taking as a reference and following the rules of analysis of the Ecuadorian Technical Standard **NTE NTE INEN 706:2005 First Revision. ICE CREAM. REQUIREMENTS.**

The sampling was conducted for the convenience of the researcher, according to the results of the survey conducted to the different owners of 15 stores along the Mucho Lote 1 sector, the 2 most sold brands of handmade milk-based ice cream were identified. With a total of 30 samples of these products, the identification of *E. coli* was carried out using the Petrifilm plate method.

The results of the microbiological analysis showed that of the 2 brands analyzed in the study, one of them did not comply with **NTE NTE INEN 706:2005 First Revision. ICE CREAM. REQUIREMENTS.**

Key words: Artesanal ice cream, *Escherichia coli*, Petrifilm plates

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud describe a las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) como el conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua o alimentos que contengan agentes biológicos o no biológicos en cantidades tales que afectan la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupo de personas.

Según el Ministerio de Salud Pública (2021) en Ecuador durante el 2019, las enfermedades transmitidas por agua y alimentos alcanzaron 19487 casos, pero en el año 2020 se registró un decrecimiento del 54%, no obstante, en la semana epidemiológica número 11, a nivel nacional se reportaron 101 casos de los cuales Guayaquil cuenta con 36 de ellos ocasionados por agua o alimentos que no han recibido el debido tratamiento, manipulación, cocción o conservación.

Las enfermedades transmitidas por alimentos o ETA son las encargadas de originar las principales alteraciones que atentan contra la salud de los consumidores, dichas enfermedades están presentes en países desarrollados como en los que se encuentran en vías de desarrollo. La diversidad de los agentes causales de las ETA como de las enfermedades que estas provocan y que son de un rango considerablemente amplio, podrían contaminar los productos elaborados.

En el caso de los productos elaborados a base de lácteos o de sus derivados como es el caso de los helados a base de leche, considerados insumos de elevada demanda por parte del consumidor, por tratarse de un alimento que aporta una gran cantidad de nutrientes tales como proteínas, carbohidratos, lípidos y minerales, también funge como un transporte de patógenos hacia el consumidor, sobre todo cuando en su proceso de elaboración ha sido expuesto a contaminantes externos o condiciones higiénicas inadecuadas en la manipulación o en la obtención de las materias primas.

Las nuevas mejoras o procedimientos en los métodos de elaboración en los helados de elaboración industrial incrementan su grado de inocuidad; sin embargo, no están exentos de propagar enfermedades ocasionadas por contaminantes externos, por el contrario, los helados de elaboración artesanal acarrearán mayores riesgos de contaminación microbiológica debido a su metodología de elaboración algo menos tecnificada o más tradicional en los que, posiblemente se sigan unas mínimas pautas higiénicas en su elaboración, en su manipulación u obtención de materia prima.

1.1. Planteamiento y formulación del problema

Existe desconocimiento en la comunidad del sector Mucho Lote 1, relacionado a la presencia de *Escherichia coli* en helados de leche artesanales, que se comercializan en tiendas y las consecuencias de la infección provocada por esta bacteria, en la salud humana

1.2. Objetivos

Los helados de base láctea tienen un valor nutritivo significativo, debido, principalmente, a su aporte en proteínas de alto valor biológico y calcio altamente biodisponible. También suministran azúcares, grasas, fósforo, magnesio y potasio. La infección por *Escherichia coli* (*E. coli*), puede provocar una enfermedad muy grave y suele ser transmitida por alimentos contaminados. Algunas cepas de *E. coli* pueden salir de los intestinos y llegar a la sangre. Esta bacteria, si no existe las normas de bioseguridad, puede infectar al ganado vacuno y contaminar la leche, nutriente importante para nuestra alimentación. Los helados artesanales elaborados con leche propuestos en este trabajo de titulación tienen un valor nutricional que los hace interesantes; por sus componentes, aportan energía y nutrientes y por otro, están asociados desde la infancia a momentos de bienestar, por ello, es importante determinar su calidad microbiológica para preservar su seguridad alimentaria y no comprometer la salud del consumidor.

1.2.1. Objetivo General

Determinar la presencia de *Escherichia coli* en helados de leche artesanales, comercializados en tiendas del sector Mucho Lote 1 en la parroquia Tarqui, Guayaquil.

1.2.2. Objetivo Específico

- Identificar la presencia de *Escherichia coli* empleando el método en placas Petrifilm en muestras de helados de leche artesanales comercializados en tiendas del sector Mucho Lote 1 en la parroquia Tarqui.
- Correlacionar la presencia de *Escherichia coli* con las variables independientes.
- Establecer si las muestras de helados de leche artesanales cumplen con las

Normas NTE INEN 706:2005 HELADOS.REQUISITOS

1.3. Justificación

Los helados de base láctea tienen un valor nutritivo significativo, debido, principalmente, a su aporte en proteínas de alto valor biológico y calcio altamente biodisponible por su contenido lácteo. También suministran azúcares, grasas, y minerales como fósforo, magnesio y potasio. La infección por *Escherichia coli* (*E. coli*), puede provocar una enfermedad muy grave y suele ser transmitida por alimentos contaminados. Algunas cepas de *E. coli* pueden salir de los intestinos y llegar a la sangre. Esta bacteria, si no existen las normas de bioseguridad, puede infectar al ganado vacuno y contaminar la leche, que es un componente importante para nuestra alimentación, Es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo determinar la presencia de *Escherichia coli* en helados de leche artesanales, comercializados en tiendas del sector mucho lote 1 en la parroquia Tarqui, guayaquil, dando lugar a un conocimiento más idóneo o exacto sobre el estado higiénico o la calidad microbiológica de los mismos

1.4. Variables

1.4.1. Variable Dependiente:

- *Escherichia coli*

1.4.2. Variable Independiente:

- Condiciones higiénicas – sanitarias de los lugares de expendio.
- Condiciones higiénicas – sanitarias de los lugares de elaboración.
- Manipulación de los helados en los lugares de expendio.
- Temperatura de almacenamiento de los helados.
- Tipos de envase: Fundas, vasos, pH, Recuento de *E. coli*

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis Alternativa

Sí existe información en la comunidad del sector Mucho Lote 1 relacionado a la presencia de *Escherichia coli* en helados de leche artesanales, comercializados en tiendas del sector Mucho Lote 1 en la parroquia Tarqui, Guayaquil.

1.5.2. Hipótesis Nula

No existe información en la comunidad del sector Mucho Lote 1 relacionado a la presencia de *Escherichia coli* en helados de leche artesanales, comercializados en tiendas del sector Mucho Lote 1 en la parroquia Tarqui, Guayaquil.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Generalidades

Los microorganismos son los organismos más primitivos y numerosos que existen en la Tierra, habitan en todos los ambientes: suelo, agua y aire, participan de manera importante en todos los ecosistemas y están en interacción continuamente con las plantas, los animales y humanos

(Castañeda, 2019) menciona que estas bacterias están presentes en muchos organismos, tanto de forma benéfica, interviniendo en diferentes procesos biológicos, fisiológicos e inmunológicos y de manera patógena provocando varias enfermedades, estas se ubican a lo largo del tracto digestivo de dichos individuos.

Varios de estos microorganismos se encuentran frecuente y naturalmente en los alimentos y en virtud de sus propiedades específicas, favorecen la multiplicación de bacterias en el medio lácteo propiciando que estos productos vean acelerada su degradación o descomposición en temperaturas desfavorables. En estos productos lácteos también vimos un crecimiento excesivo de bacterias patógenas, como *E. coli*, que están estrechamente relacionadas con ETA, sin embargo, estas no comprometen la calidad del alimento en sí.

2.1.1. Familia *Enterobacteriaceae*

Los microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae* incluyen microorganismos que tienen las siguientes características:

- Son bacilos Gram negativos formadores de esporas
- Son móviles o inmóviles, los móviles poseen flagelos peritricos
- Se multiplican en medios que posean peptonas o extractos de carne sin adición de cloruro de sodio u otros compuestos
- Crecen bien en Mac Agar Conkey
- Son bacterias aerobias y anaerobios facultativos

- Fermentan la glucosa para producir ácidos o ácidos y gases
- Son catalasa positiva, oxidasa negativa, excepto *Plesiomonas*
- Son capaces de reducir los nitratos a nitritos

2.1.2. Hábitat de las enterobacterias

(Jawetz, Melnick & Adelberg, 2020) mencionan que esta extensa y heterogénea familia de bacilos gran negativos se consideran comunes porque se pueden encontrar casi universalmente en el agua, el suelo o las plantas, pero también se encuentran de forma saprofita en el intestino de animales y seres humanos.

Esta familia incluye muchos géneros, entre ellos *Escherichia coli*, no obstante, este microorganismo entérico ya es considerado parte de la flora bacteriana normal del tracto gastrointestinal, pero, bajo ciertas circunstancias, causa enfermedades en animales y humanos, por lo que se considera importante en términos de salud. (Sherris, 2017)

2.1.3. *Escherichia coli*

Como menciona (Horacio, 2017) *Escherichia coli* es un bacilo gramnegativo que forma parte de la flora natural del intestino y también se considera que es el causante de enfermedades entéricas y extraintestinales en animales y seres humanos. Diferentes cepas de *E. coli* son las responsables de producir leves cuadros gastroentéricos hasta insuficiencias renales o shocks sépticos.

(Horacio, 2017) describe que entre los mecanismos de evasión que posee *E. coli* para burlar el sistema inmunológico del individuo infectado se encuentran su grado de virulencia o su capacidad para volverse resistente a los antimicrobianos usados con mayor frecuencia en medicina.

2.1.4. Historia

(González, 2020) comenta que el Dr. Theodor Escherich en el año de 1885 descubrió el microorganismo que hoy conocemos como *Escherichia coli* durante una investigación analizando bacterias en la materia fecal de ciertos infantes, la cual denominó como "*bacterium coli comune*" por ser un microorganismo habitual en el intestino de muchos organismos, posteriormente dicha bacteria fue bautizada tal como la conocemos en la actualidad en honor al apellido del Dr. Theodor.

La *Escherichia coli* desde su descubrimiento ha servido para diversos fines en el campo de la ciencia siendo un aliado importante para los bacteriólogos por su facilidad de cultivo, caracterización o ayudar a reproducir material genético que pertenece a otros microorganismos con el fin de buscar como conocer mejor sus métodos de control.

2.1.5. Características

Según (González, 2020) En 1964, el género *Escherichia* fue definido en la obra "*Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity*" de Wilson y Miles como organismos móviles o no móviles que se ajustan a la definición de *Enterobacterieae* siguiente:

Se trata de Bacilos Gramnegativos que no son capaces de formar esporas, sus medidas oscilan entre 1 y 1,5 μm x 2 y 6 μm . Al tratarse de una bacteria Gram – negativa cuenta con una cubierta con dos membranas lipídicas, una externa y una interna, y una pared de peptidoglicano entre ambas membranas.

Esta bacteria crece en presencia de oxígeno o en ausencia de este, del mismo modo son Oxidasa-negativos; Catalasa-positivos. Producen ácido o ácido y gas al fermentar glucosa en medio aeróbico o anaeróbico, del mismo modo forman indol en su metabolismo. Y, por último, realizan la reducción de nitratos a nitritos. (Mueller & Tainter, 2021)

(Denamur et al 2020) Nos mencionan que esta bacteria se desarrolla satisfactoriamente en temperaturas de 35 a 43°C por tratarse de una bacteria mesófila, sin embargo, su límite mínimo de temperatura es de 7°C, por ello es tan importante saber preservar la cadena de frío para determinados alimentos en la industria alimentaria de tal como que se evite su proliferación, no obstante, esta condición de preservación tiene reducido efecto sobre la población microbiológica en el alimento, su rango máximo de temperatura es superior a 70°C. en condiciones de pH extremas (inferiores a 3,8, o superiores a 9,5) no consigue proliferar. Se siembran en los medios de cultivo convencionales, el medio más conocido por su predilección por la facilidad de reproducción es el agar Mac Conkey.

2.1.6. Clasificación

(Cundon et al 2018) Mencionan que las enfermedades intestinales se asocian según los subtipos de *E. coli*:

- *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC)
- *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC), que también se conoce como *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC) y denominada EHEC/STEC,
- *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC)
- *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC)
- *Escherichia coli* enteroagregante (EAEC)

2.1.7. Fisiopatología

Según (Bansal y Lee, 2017) Las afecciones intestinales por *E. coli* son una consecuencia de la ingestión de la bacteria y la capacidad innata de *E. coli* para eludir las defensas del huésped. Las bacterias gramnegativas se caracterizan por su envoltura celular, que consta de una membrana citoplasmática interna, una pared celular de peptidoglicano y una membrana externa. La membrana externa está compuesta por una

bicapa lipídica, proteínas de unión y lipopolisacáridos (LPS), que provocan una reacción tóxica tras la lisis.

Las variedades de *E. coli* que más enfermedades provocan tiene factores de virulencia específicos codificados en plásmidos, transposones y bacterias (Sherris, 2017).

- *E. coli* enteroagregante:

Las EAEC se adhieren a las células epiteliales

Las EAEC se adhieren a los enterocitos a través de fimbrias de adherencia y son ayudadas por la dispersina, una proteína de superficie bacteriana que neutraliza la carga superficial negativa del lipopolisacárido.

También producen enterotoxinas similares a la enterotoxina de Shigella y a la toxina ETEC ST.

- *E. coli* enterohemorrágica

Las EHEC se clasifican en serotipos *E. coli* O157:H7 y no O157:H7 Ambos serotipos producen toxinas similares a la Shiga.

El síndrome urémico hemolítico (SUH) está causado por la toxina tipo Shiga, que es absorbida por la mucosa gastrointestinal inflamada hacia la circulación, donde altera la función de las células endoteliales, ocasionando que se active la agregación plaquetaria

- *E. coli* enteroinvasiva

Las EIEC no producen toxinas, invaden las células epiteliales y provocan una colitis aguda autolimitada

- *E. coli* enterotoxigénica

Las ETEC producen toxina termolábil (LT) y toxina termoestable (ST). Ambas inducen la secreción de cloruro y agua e inhiben la absorción de fluidos intestinales. La toxina LT activa el adenilato ciclasa y estimula la secreción de

cloruro y simultáneamente inhibe la absorción. (Marquez, Escorcía, Larrea, .,2019).

Las toxinas ST se unen al guanilato ciclasa y estimulan la secreción de cloruro

2.2. Helados

2.2.1. Historia

Inicialmente, el helado no era un producto lácteo, sino un producto elaborado a base de frutas. Se puede decir que el helado es una mezcla homogénea pasteurizada de distintos ingredientes (leche, agua, azúcar, nata, zumo, etc.).

(Mora & Maestre 2017) Mencionan que algunas historias relatan que los chinos fueron inventores, otros fueron los babilonios, o posiblemente mongoles, y de algunas de estas culturas se trasladó a la India y Brasil, luego a Grecia y Roma. Pero en Italia, a finales de la Edad Media, apareció el helado y se extendió por toda Europa y según algunos autores, la élite china era muy aficionada al postre helado, cuando se trataba de una bebida helada mezclada con nieve de las montañas con miel y frutas.

Otras fuentes mencionan que en los Proverbios del Rey Salomón (rey de Israel y Judea desde aproximadamente el 960 al 925 a.C.) se menciona el consumo de bebidas congeladas que la gente de granja usa durante las horas más calurosas del día.

(Borja & Pilay 2019) argumentan que Los persas (sucesores del Imperio babilónico) perfeccionaron la tecnología de almacenar hielo en grandes frigoríficos enfriados naturalmente, Marco Polo relata un descubrimiento, una estructura alta de unos dieciocho metros de altura en las afueras de Kerman: unos refrigeradores llamados "Yakhshal", estas estructuras se usaban para almacenar hielo del invierno o traído de las montañas, estos refrigeradores se usaban en las ciudades del desierto de Persia desde el siglo V a.C. Se cree que la receta de los postres congelados se introdujo en el Imperio Persa a través de las rutas comerciales de China hace más de 2500 años. Los persas inventaron un postre a base de agua de rosas y fideos, una mezcla de sorbete y

arroz con leche denominado "faludeh", alrededor del año 400 a. C. Se turnaron para beber una bebida con nieve llamada "sherbet" (de ahí el origen del sorbete).

Los griegos también conocían el hielo como alimento. Hipócrates (460-377 a. C) recomendaba alimentos congelados a sus pacientes porque aumentaban el estado de ánimo del cuerpo y mejoraban la salud. Jenofonte (430-354 a. C.), historiador y general, mencionaba la preferencia del ejército por los helados con miel y jugo. En la antigua Roma, el hielo también se usaba para hacer bebidas frías y manjares.

Marco Polo, en 1292, regresa a Venecia después de vivir más de veinte años en el interior de Asia. Entre otras cosas, el explorador trajo una receta de platos congelados del príncipe mongol Kublai Khan. También se dice que en su relato dijo que en China hace 3000 años, durante los meses cálidos, se consumía un producto a base de hielo, leche y jugo, lo que apoyaría la idea de que los chinos inventaron el helado. No obstante, originario de Italia, donde el helado se está expandiendo por todo el mundo, se cree que se originó en Roma. Sin embargo, no se menciona el helado en ninguno de los manuscritos que describen los viajes de Marco Polo. Incluso los historiadores modernos dudan de que el famoso viajero haya llegado a China. (Helado Artesanal, 2018)

Según (Shaunak, 2020) Cuando este producto se estableció en Italia y gracias a la invención de la salmuera en 1600 y la creación de puntos de venta se popularizó entre la población, muchos años después, un siciliano Procopio dei Coltelli, abrió una tienda en París, el primer lugar para tomar café donde además se servía café, se vendía helado, de aquí se extendió por toda Europa. En el siglo XV el artista Bernardo Buontalenti ofrecía a los visitantes unos helados elaborados con nata, frutas, dulces, aromas, huevos y nieve, lo que le hizo famoso en toda Europa. En el siglo XVII también en Sicilia, se introdujeron algunas novedades en la preparación combinando azúcar y añadiendo sal al hielo para prolongar su vida útil.

Alrededor de 1800 llegó el helado a Estados Unidos, unos años después Jacob Fussell industrializó el proceso de elaboración del helado, convirtiendo a Estados Unidos en uno de los países con mayor consumo de este producto a nivel mundial.

A lo largo de los años, se fueron utilizando cada vez más ingredientes en los helados, incluida la leche, y el primer helado a base de leche fue obra de un chef francés de la corte inglesa, que obtuvo ingresos para mantener la receta en secreto, este producto fue de consumo exclusivo de la mesa real británica, no obstante, el secreto no duró mucho y la receta se extendió rápidamente por toda Europa.

Sin embargo, el verdadero boom de los helados comenzó con la producción industrial, primero con la máquina de hielo automática desarrollada por la norteamericana Nancy Johnson en 1846 y que posteriormente llegó a Italia alrededor de 1930. Dichas máquinas sentarían las bases para la creación de las heladoras modernas (manteadoras o turbinas). (Borja & Pilay 2019)

Se define a los helados como un alimento que se procesa de manera uniforme y equilibrada entre diferentes ingredientes lácteos y saborizantes en estado sólido y semisólidos rico en grasas, carbohidratos, proteínas y minerales. La mezcla se congeló previamente batiéndola durante este proceso para evitar la formación de cristales de hielo.

2.2.2. Beneficios del Helado Para la Salud

Según (Mata, 2020) el helado no debe presentarse como un mero alimento, ya que aporta beneficios directos al organismo como cualquier otro alimento, como ayudar a reducir la sudoración, nutritivo, aportando fósforo, energía, calcio y también vitaminas A y B2.

2.2.3. Aporte Nutricional

Tabla 1

Composición nutricional del helado

	Por 100 g de porción comestible	Por bola mediana (115 g)	Recomendaciones día - hombres	Recomendaciones día - mujeres
Energía (Kcal)	211	243	3000	2300
Proteínas (g)	4,5	5,2	54	41
Lípidos totales (g)	10,1	11,6	100 – 117	77 – 89
AG saturados (g)	8,51	9,79	23 – 27	18 – 20
AG monoinsaturados (g)	0,76	0,87	67	51
AG poliinsaturados (g)	0,19	0,22	17	13
w - 3 (g)*	0,003	0,003	3,3 – 6,6	2,6 – 5,1
C18:2 Linoleico (w - 6) (g)	0,187	0,215	10	8
Colesterol (mg/1000 Kcal)	31	35,7	Menos de 300	Menos de 230
Hidratos de carbono (g)	25,4	29,2	375 – 413	288 – 316
Fibra (g)	Tr	Tr	Mas de 35	Mas de 25
Agua (g)	60	69,0	2500	2000
Calcio (mg)	150	173	1000	1000
Hierro (mg)	0,2	0,2	10	18
Yodo (µg)	-	-	140	110
Magnesio (mg)	13	15,0	350	330
Zinc (mg)	0,4	0,5	15	15
Sodio (mg)	69	79,4	Menos de 2000	Menos de 2000
Potasio (mg)	160	184	3500	3500
Fósforo (mg)	120	138	700	700
Selenio (mg)	1,8	2,1	70	55
Tiamina (mg)	0,05	0,06	1,2	0,9
Riboflavina	0,14	0,16	1,8	1,4
Equivalentes niacina (mg)	1	1,2	20	15
Vitamina B6 (mg)	0,08	0,09	1,8	1,6
Fosfatos (ug)	2	2,3	400	400
Vitamina B12 (µg)	Tr	Tr	2	2
Vitamina C (mg)	1	1,2	60	60
Vitamina A: Eq Retinol (ug)	48	55,2	1000	800
Vitamina D (µg)	Tr	Tr	15	15
Vitamina E (mg)	0,21	0,2	12	12

Fuente: (Moreiras, et al 2017)

2.2.4. Tipos de Helado

Según lo que se describe en la NTE INEN 706:2005 Primera revisión. HELADOS. REQUISITOS (2005) los helados se pueden clasificar mediante los criterios descritos a continuación

Por la composición que presentan o bien por sus ingredientes:

- Crema de leche o Leche y leche con grasa vegetal
- yogur, yogur con grasa vegetal
- grasa vegetal
- no lácteo
- de sorbete,
- frutal, agua o hielo
- bajo en calorías

Y por tipos de mezcla para helados

- Líquida, concentrada y el polvo

(Anexos 1 a 11)

2.2.5. NTE INEN 706:2005 Primera revisión. Requisitos microbiológicos.

Tabla 2

Requisitos microbiológicos para helados y mezclas para helados concentrada y líquida

Los helados y mezclas para helados ya sean mezclas líquidas o concentradas necesitan cumplir unas indicaciones mínimas de presencia de microorganismos indicados a continuación:

Requisitos	n	m	M	c
Recuento de microorganismos mesófilos ¹⁾, UFC/g	5	10000	100000	2
Recuento de Coliformes, UFC/g	5	100	200	2
Recuento de <i>E. coli</i>, ²⁾ UFC/g	5	Ausencia	Ausencia	0
Recuento de Staphylococcus coagulasa positiva, UFC/g	5	50	100	2
Detección de Salmonella/25g	5	Ausencia	Ausencia	0
Detección de Listeria monocytogenes/25g	5	Ausencia	Ausencia	0

1) EL recuento de microorganismos mesófilos no se realiza en helados de yogur

2) En los helados con agregados en donde se requiere hacer dilución 10⁻¹ el resultado se expresa como recuento de *E. coli*, UFC/ menos de 10

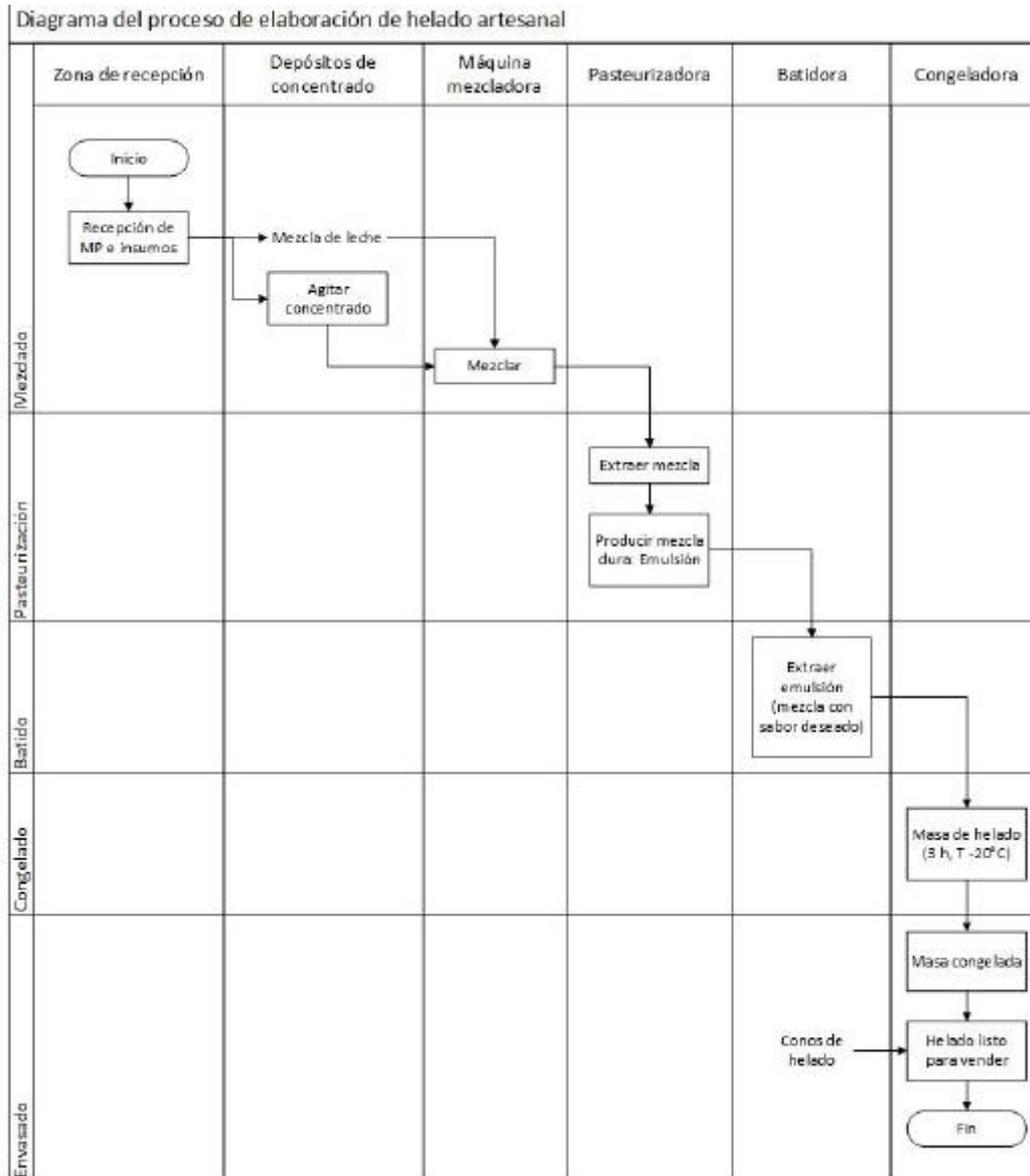
Nota. En donde: n = Número de muestras. m = Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad. M= Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad. c = Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

Fuente: (NTE INEN 706:2005)

2.2.6. Diagrama de Flujo del Proceso de Elaboración del Helado Artesanal

Tabla 3

Diagrama del proceso de elaboración del helado artesanal



Fuente: (Banda et al, 2020)

2.2.7. Descripción del Proceso Productivo del Helado Artesanal

Según (Banda et al, 2020) el proceso productivo del helado artesanal consta de las siguientes fases:

- a. Mezclado: Los componentes sólidos de manera independiente de los líquidos se mezclan, formando dos tipos de mezclas, el objetivo está en tener ambas mezclas lo más homogéneas posible. Seguidamente, se vierten todos los ingredientes líquidos como lo son leche y agua en un contenedor de almacenamiento para su mezcla, se agita el concentrado y se aplica calor. De preferencia se emplea agua caliente debido a que el vapor induce quemaduras. Se procede a adicionar los ingredientes sólidos como panela, estabilizantes, etc., con sus medidas de cantidad correspondientes. La operación debe realizarse antes de que se alcancen los 50 grados centígrados.
- b. Pasteurización: El objetivo de este proceso es eliminar mediante altas temperaturas la mayor cantidad de bacterias peligrosas para el ser humano. Con esto también se logra que la mezcla tenga todos sus ingredientes disueltos y totalmente mezclados.
- c. Licuado: Este proceso consiste en licuar la mezcla compactada junto a los aditamentos restantes (panela, leche de vaca, algarrobina). En licuados poco óptimos se generan productos de depósito sólidos que comprometen la calidad y textura del producto terminado.
- d. Congelación: Terminado el paso anterior, el producto se lleva a congelación, a una temperatura de -15°C , por 3 horas aproximadamente. Cabe destacar que en esta fase hay formación de diminutos cristales de agua que otorgan al producto una textura suave. Con esto se obtiene una mejora en la calidad del helado.

- e. Envasado: Se almacenan bloques de helado congelado, en el momento de la venta se le expende al cliente una pequeña porción en envases idóneos para su consumidor.

2.2.8. Determinación de *Escherichia coli*

Actualmente podemos encontrar múltiples variedades de métodos bioquímicos o morfológicos para identificar o detectar microorganismos considerados patógenos para la salud humana, en los que destacaremos los siguientes métodos:

Método de cultivo y cuantificación de colonias, métodos basados en inmunología y el método de PCR (reacción en cadena de la polimerasa). (Redondo, 2017)

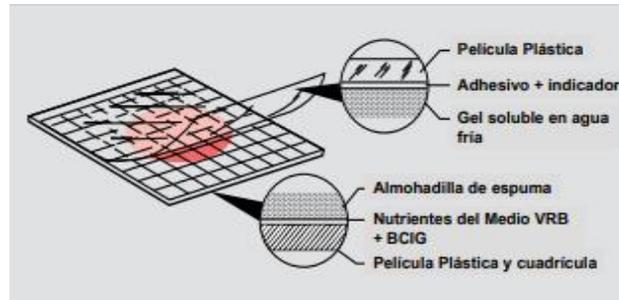
2.2.9. Placas Petrifilm para el recuento de *Escherichia coli*

3M (2020) Expone que este método de detección para *E. coli* y coliformes es sencillo y práctico, garantizando una alta confiabilidad, calidad y ahorro en el tiempo de análisis y resultados.

Contiene nutrientes de VRB (Bilis Rojo-Violeta), funciona como indicador de la glucuronidasa funcionando como indicador que facilitan el recuento de colonias. Este VRB es fácilmente soluble en agua fría y tiene características de gel. Buena parte de las *E. coli*, en torno al 97% produce beta-glucuronidasa, que sirve como identificador para la colonia. *E. coli* produce gases, al rededor del 95% de estas los cuales son fácilmente atrapados gracias a una película superior que posee el producto. Las colonias se ven reflejadas por colores que van de azul a rojo debido al gas producido.

Figura 1

Placas Petrifilm 3M para el recuento de Escherichia coli



Fuente: 3M (2020)

2.2.10. Aplicaciones de las Placas Petrifilm

3M (2020) Menciona que las placas Petrifilm para Recuento de E. coli y Coliformes tiene aplicaciones de uso para Alimentos, Monitoreo ambiental o de superficies como procesamiento o manipulación o monitoreo del aire.

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Localización de la Zona de Estudio

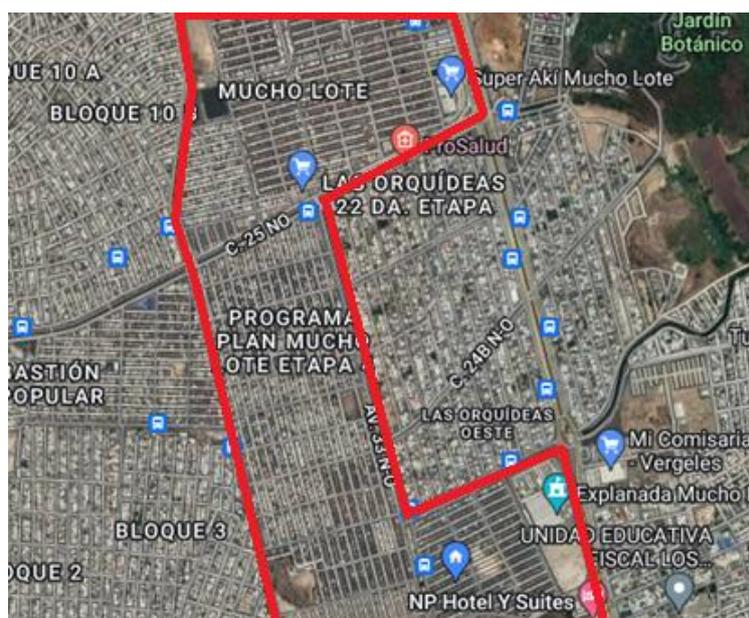
La presente investigación se realizó en el sector de Mucho Lote 1 parroquia Tarqui, localizado en la ciudad Guayaquil provincia del Guayas.

3.1.1. Características de la Zona de Estudio

El sector de Mucho Lote 1 se encuentra ubicado al norte de la Parroquia Tarqui, a la izquierda del Jardín Botánico del sector de Las Orquídeas, a la derecha del Bloque 8 de Bastión Popular y al norte de los Bloques 1B y 5, y al sur del barrio de Pascuales de la ciudad de Guayaquil, situada en Latitud $-2,0806^{\circ}$ o $2^{\circ} 4' 50,3''$ sur y Longitud $-79,9198^{\circ}$ o $79^{\circ} 55' 11,1''$ oeste. Al igual que el resto de la ciudad de guayaquil, este sector se encuentra a 11 metros de altura sobre el nivel del mar, posee un clima tropical cálido húmedo y con una temperatura promedio máxima de 31° C y mínimas de 24° C. (Google Maps 2022)

Figura 2

Ubicación geográfica del sector de Mucho Lote 1.



Fuente: Google Maps (2022)

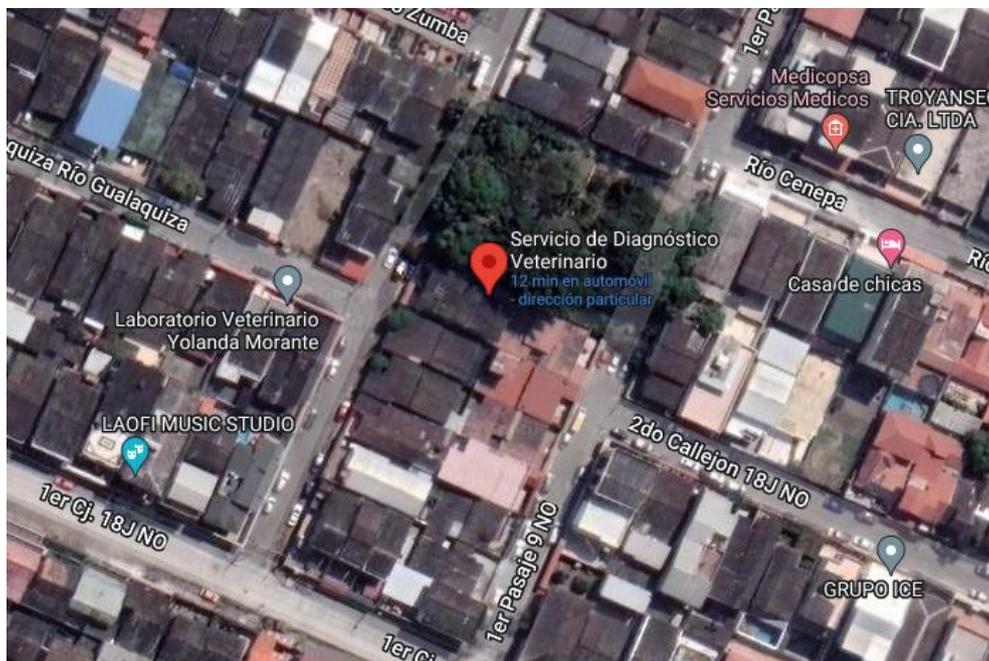
3.1.2. Objetivo a muestrear

El estudio del presente trabajo está dirigido a helados artesanales a base de leche comercializados en sector de Mucho Lote 1, dentro de esta área se escogieron los 2 tipos de marcas más concurrentes en las tiendas seleccionadas del sector.

Análisis de las muestras: Para el análisis de las muestras se eligió el laboratorio Servicio de Diagnostico Veterinario Yolanda Morante, ubicado en la ciudad de Guayaquil en Felipe Pezo Campusano y Benjamín Carrión, Alborada X Etapa, Manzana 410 Villa 7 Río Gualaquiza,

Figura 3

Laboratorio Servicio de Diagnostico Veterinario Yolanda Morante Felipe Pezo Campusano y Benjamín Carrión, Alborada X Etapa, Manzana 410 Villa 7 Río Gualaquiza.



Fuente: Google Maps (2022)

3.2. Materiales

3.2.1. Materiales de Campo

- Guantes de nitrilo
- Mascarillas desechables
- Caja térmica
- Gel refrigerante
- Termómetro
- Cinta Scotch
- Papel
- Marcador permanente
- Hoja de control para toma de muestras
- Visor Protector
- Mandil u overol

3.2.2. Reactivos para Desinfección

- Alcohol líquido al 70 %
- Amonio cuaternario.

3.2.3. Materiales de Laboratorio

- Funda de algodón
- Paquete bolsa stomacher
- Pipeta graduada de vidrio 5ml
- Pipetas
- Funda stomacher

3.2.4. Medios de Cultivos

- Placas Petrifilm 3M Recuento *E. coli*
- Medios de dilución

- Agua peptonada

3.2.5. Vestimenta en Laboratorio

- Mandil de tela blanca
- Guantes exploratorios talla s
- Mascarillas quirúrgicas descartables

3.2.6. Materiales y Equipos de Oficina

- Computadora
- Resma de papel
- Hojas de campo
- Impresora
- Carpeta
- Lápiz
- Bolígrafos
- Clips

3.2.7. Recursos Humanos

- Estudiantes tesistas
- Docente tutora

3.3. Metodología

3.3.1. Unidad de Análisis

Helados artesanales a base de leche

3.3.2. Tipo, Diseño y Técnica de la Investigación

Tipo de investigación cuantitativa, diseño no experimental, descriptiva de corte transversal, analítica, con la técnica de muestreo no probabilístico por conveniencia.

3.3.3. Universo y Muestra

La población en estudio fueron Helados Artesanales a base de leche, el muestreo fue por conveniencia, del cual fueron tomadas 30 muestras de 2 marcas de helados diferentes, divididas en 15 muestras para una marca de helado y 15 para otra marca en el Sector de Mucho Lote 1, Guayaquil.

3.3.4. Toma de la muestra

Las muestras fueron tomadas directamente de las tiendas seleccionadas, los helados contenidos en sus fundas originales fueron introducidas en empaques ziplock y resguardadas en una caja térmica y con pilas refrigerantes para preservar la temperatura. Posteriormente, las muestras fueron diferenciadas entre si mediante etiquetas mostrando el numero de la muestra, la marca del helado y la fecha de la obtención de esta.

Para el cálculo de la Muestra se realizó lo siguiente:

- **Análisis estadístico:** Método porcentual, tablas de distribución de frecuencia, Prueba de Chi Cuadrado de Pearson.
- **Cálculo del tamaño de la muestra:** Se utilizó un software en SPSS para el cálculo del tamaño de la muestra.

3.3.5. Instrumentos de Medición

Se utilizó como instrumento de medición una hoja para la toma de muestras utilizada en el momento del muestreo y una hoja de control para análisis de laboratorio

3.3.6. Análisis de Datos

Se realizó mediante el uso del Software SPSS versión 25.

3.3.7. Metodología de Trabajo

Las muestras tomadas se transportarán en cajas térmicas conservando la cadena de frío para ser transportadas al laboratorio, para realizar el análisis microbiológico,

mediante el método de Placas de conteo Petrifilm para el recuento de *Escherichia coli*. Se empleará agua peptonada cuando se realicen las diluciones.

3.3.7.1. Envío de las muestras al laboratorio

El envío de las muestras al laboratorio se realizó preferentemente el mismo día de su obtención en un intervalo de 2 a 3 horas después de su obtención con el objetivo de no superar las 12 horas para no alterar la cadena de frío del producto, contenidas en una caja térmica con una temperatura de 4 a 8 °C utilizando pilas refrigerantes evitando así cambios de temperatura bruscos en las muestras recogidas.

3.3.7.2. Realización de encuestas

Se elaboro un formulario para la realización de encuestas dirigidas a las tiendas que expenden helados artesanales para conocer si los propietarios han recibido una debida capacitación, si poseen correctas condiciones de almacenamiento o reclamos de parte del consumidor. (Ver anexos 14 y 18).

3.3.7.3. Técnica para determinar *Escherichia coli*.

- Prepare una dilución de una muestra de alimento. Pese o pipetee la muestra en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.
- Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH₂PO₄ y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); buffer de agua peptonada (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo Lethen libre de bisulfato o agua destilada
- Mezcle u homogeneice la muestra mediante los métodos usuales
- Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior

- En forma perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 ml de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior, con la Pipeta Electrónica 3M™ (o cualquier otro dispositivo similar)
- Baje con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. No la deje caer
- Con el lado liso hacia abajo, coloque el dispersor en la película superior sobre el inóculo
- Presione suavemente el dispersor para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire ni deslice el dispersor
- Levante el dispersor. Espere, por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.
- Incubar las placas caras arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente de agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad
- Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la Guía de Interpretación para leer los resultados
- Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel. 3M (2020)

3.3.8. Análisis estadístico

El tipo muestreo utilizado en esta investigación es por conveniencia. Para analizar los resultados de este trabajo de investigación se utilizó el software SPSS versión 25.

4. RESULTADOS

En la presente investigación que trató sobre la “Determinar de la presencia de *Escherichia coli* en helados de leche artesanales, comercializados en tiendas del sector Mucho Lote 1 en la parroquia Tarqui, del Cantón Guayaquil, se obtuvieron siguientes resultados.

4.1. Determinación de *Escherichia coli*

Tabla 4

Determinación de Escherichia coli en helados de leche artesanales comercializados en tiendas del sector Mucho Lote 1 en la parroquia Tarqui, Guayaquil

<i>Escherichia coli</i> - UFC/g	Frecuencia	Porcentaje	Interpretación
0	15 _b	50%	Apto Para el Consumo
3-60	15 _a	50%	No Apto para el Consumo
Total	30	100%	

Nota: UFC/g – Unidad Formadora de Colonia por gramo

^{a, b} Cada letra del subíndice denota un subconjunto de interpretación categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel de significación de 0.05

*($p \leq 0.05$)

De las 30 muestras analizadas de 2 marcas de helado de leche artesanales, el 50% de ellas presentaron valores mayores a 0 UFC/g de *E. coli*, correspondiente a la marca 1, siendo estos productos no aptos para el consumo, mientras que, el otro 50% restante (marca 2) tuvo ausencia de *E. coli*, apto para consumo.

Figura 3

Representación Gráfica de la Determinación de la Presencia de Escherichia coli en Helados de Leche Artesanal

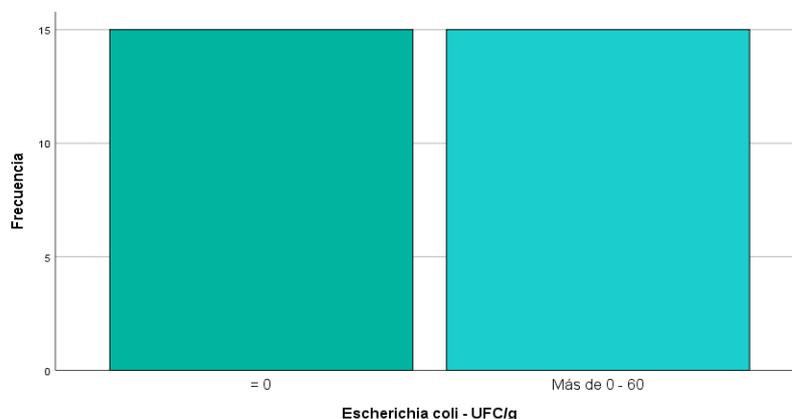


Tabla 5

Identificación de la Presencia de Escherichia coli empleando el Método en Placas Petrifilm en Muestras de Helados de Leche Artesanales Comercializados en Tiendas del Sector Mucho Lote 1 en la Parroquia Tarqui

Tiendas	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		Porcentaje		Interpretación	
	= 0	Más de 0 - 60	= 0	Más de 0 - 60	= 0	Más de 0 - 60
1	0 _a	2 _a	0%	100%	Apto	No Apto
2	1 _a	1 _a	50%	50%	No Apto	No Apto
3	2 _a	0 _a	100%	0%	No Apto	Apto
4	2 _a	0 _a	100%	0%	No Apto	Apto
5	1 _a	1 _a	50%	50%	No Apto	No Apto
6	1 _a	1 _a	50%	50%	No Apto	No Apto
7	1 _a	1 _a	50%	50%	No Apto	No Apto
8	1 _a	1 _a	50%	50%	No Apto	No Apto
9	1 _a	1 _a	50%	50%	No Apto	No Apto
10	1 _a	1 _a	50%	50%	No Apto	No Apto
11	1 _a	1 _a	50%	50%	No Apto	No Apto
12	1 _a	1 _a	50%	50%	No Apto	No Apto
13	0 _a	2 _a	0%	100%	Apto	No Apto
14	1 _a	1 _a	50%	50%	No Apto	No Apto
15	1 _a	1 _a	50%	50%	No Apto	No Apto
Total	15	15	50%	50%	Apto	No Apto

Nota: UFC/g – Unidad Formadora de Colonia por gramo

^{a, b} Cada letra del subíndice denota un subconjunto de interpretación categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel de significación de 0.05

*($p \geq 0.05$)

De acuerdo con los resultados obtenidos de 30 muestras de helados de leches artesanales de 2 marcas, analizadas mediante el método Placas Petrifilm, obtenidas en 15 tiendas de la parroquia Tarqui, sector Mucho Lote 1, el 50% de las muestras resultaron negativos a la presencia de *E. coli*, es decir ausencia del patógeno por gramo de muestra, aptos para consumo, y el 50% restante resultaron positivos a *E. coli*, no aptos para consumo.

Tabla 6

Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con las Tiendas Muestreadas, Muestras Uno y Dos e Interpretación

Tiendas	M ₁		Interpretación		M ₂		Interpretación	
	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		= 0	Más de 0 - 60	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		= 0	Más de 0 - 60
	= 0	Más de 0 - 60			= 0	Más de 0 - 60		
1	0 _a	2 _a	Apto	No Apto	0 _a	0 _a	Apto	Apto
2	0 _a	1 _a	Apto	No Apto	1 _a	0 _a	No Apto	Apto
3	0 _a	0 _a	Apto	Apto	2 _a	0 _a	No Apto	Apto
4	0 _a	0 _a	Apto	Apto	2 _a	0 _a	No Apto	Apto
5	0 _a	1 _a	Apto	No Apto	1 _a	0 _a	No Apto	Apto
6	0 _a	1 _a	Apto	No Apto	1 _a	0 _a	No Apto	Apto
7	0 _a	1 _a	Apto	No Apto	1 _a	0 _a	No Apto	Apto
8	0 _a	1 _a	Apto	No Apto	1 _a	0 _a	No Apto	Apto
9	0 _a	1 _a	Apto	No Apto	1 _a	0 _a	No Apto	Apto
10	0 _a	1 _a	Apto	No Apto	1 _a	0 _a	No Apto	Apto
11	0 _a	1 _a	Apto	No Apto	1 _a	0 _a	No Apto	Apto
12	0 _a	1 _a	Apto	No Apto	1 _a	0 _a	No Apto	Apto
13	0 _a	2 _a	Apto	No Apto	0 _a	0 _a	Apto	Apto
14	0 _a	1 _a	Apto	No Apto	1 _a	0 _a	No Apto	Apto
15	0 _a	1 _a	Apto	No Apto	1 _a	0 _a	No Apto	Apto
Total	0	15(50%)	Apto	No Apto	15(50%)	0	No Apto	Apto

Nota: UFC/g – Unidad Formadora de Colonia por gramo

^{a, b} Cada letra del subíndice denota un subconjunto de interpretación categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel de significación de 0.05

*($p \geq 0.05$).

De acuerdo con los resultados obtenidos en las 30 muestras analizadas de 2 marcas de helados de leche artesanales en 15 tiendas que fueron muestreadas en la parroquia Tarqui sector Mucho Lote 1, se obtuvo como resultado que, en las 15 tiendas, el 50 % de las muestras resultaron aptas para consumo, correspondiente a la marca 2 y el otro 50% restante que corresponde a la marca 1 resultaron no aptas para el consumo.

Tabla 7

Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con las Condiciones Higiénicas de los Lugares de Elaboración, Muestras Uno y Dos e Interpretación

Condiciones Higiénicas de los lugares de elaboración	M ₁		Interpretación		M ₂		Interpretación	
	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		= 0	Más de 0 - 60	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		= 0	Más de 0 - 60
	= 0	Más de 0 - 60			= 0	Más de 0 - 60		
Buenas	0a	15b	Apto	No Apto	15a	0b	No Apto	Apto

Nota: UFC/g – Unidad Formadora de Colonia por gramo

a, b Cada letra del subíndice denota un subconjunto de interpretación categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel de significación de 0.05

*($p \leq 0.05$), no se presupone la hipótesis nula, se basa en una aproximación normal

De acuerdo con los resultados obtenidos, las 15 muestras de la marca 1, dieron positivo a *E. coli* no aptos para el consumo; las 15 muestras de la marca 2, dieron negativo a *E. coli*, aptos para el consumo. Las CONDICIONES HIGIÉNICAS DE LOS LUGARES DE ELABORACIÓN DE LOS HELADOS de las dos marcas artesanales se consideran con categoría buena.

Tabla 8

Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con las Condiciones Higiénicas de los Lugares de Expendio, Muestras Uno y Dos e Interpretación

Condiciones Higiénicas de los lugares de expendio	M ₁		Interpretación		M ₂		Interpretación	
	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		= 0	Más de 0 - 60	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		= 0	Más de 0 - 60
	= 0	Más de 0 - 60			= 0	Más de 0 - 60		
Buena	0a	14b	Apto	No Apto	13a	0b	No Apto	Apto
Regular	0a	1a	Apto	No Apto	2a	0a	No Apto	Apto
Total	0(0%)	15(50%)	Apto	No Apto	15(50%)	0(%)	No Apto	Apto

Nota: UFC/g – Unidad Formadora de Colonia por gramo

a, b Cada letra del subíndice denota un subconjunto de interpretación categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel de significación de 0.05

*($p \leq 0.05$), no se presupone la hipótesis nula, se basa en una aproximación normal

De acuerdo con los resultados obtenidos del análisis de 30 muestras de helados de leches artesanales de 2 marcas (1 y 2), de 15 tiendas. La marca 1 dio positivo para *Escherichia coli* (*E. Coli*), no apta para el consumo. La marca 2 dio negativo para *E. coli*, aptas para el consumo. 14 tiendas con la marca 1, tuvieron la CONDICIÓN HIGIÉNICA DEL LUGAR DE EXPENDIO con categoría buena y 1 tienda con la CONDICIÓN HIGIÉNICA DE EXPENDIO, con categoría regular.

13 tiendas con la marca 2, tuvieron la CONDICIÓN HIGIÉNICA DEL LUGAR DE EXPENDIO con categoría buena y 2 tiendas con LA CONDICIÓN HIGIÉNICA con categoría regular.

Tabla 9

Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con la Manipulación de los Helados en el Lugar de Expendio, Muestras Uno y Dos e Interpretación

Manipulación de los helados en el lugar de expendio	M ₁		Interpretación		M ₂		Interpretación	
	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g				Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g			
	= 0	Más de 0 - 60	= 0	Más de 0 - 60	= 0	Más de 0 - 60	= 0	Más de 0 - 60
Buena	0a	14b	Apto	No Apto	13a	0b	No Apto	Apto
Regular	0a	1a	Apto	No Apto	2a	0a	No Apto	Apto
Total	0(0%)	15(50%)	Apto	No Apto	15(50%)	0(%)	No Apto	Apto

Nota: UFC/g – Unidad Formadora de Colonia por gramo

^{a, b} Cada letra del subíndice denota un subconjunto de interpretación categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel de significación de 0.05

*($p \leq 0.05$), no se presupone la hipótesis nula, se basa en una aproximación normal.

De acuerdo con los resultados obtenidos de las 30 muestras de 2 marcas de helados de leches artesanales en 15 tiendas muestreadas, con respecto a la marca 1, 14 tiendas tuvieron por manipulación de helados en el lugar de expendio la categoría buena, mientras que, 1 obtuvo la categoría regular. La marca 2 en 13 tiendas tuvo por manipulación de helados en el lugar de expendio la categoría buena mientras que, 2 de ellos obtuvo la categoría regular

Las 15 muestras analizadas de la marca 1 fueron positivo a *E. coli* (50%), es decir, no aptas para consumo y las otras 15 muestras analizadas (50%) de la marca 2 fueron negativas a *E. coli*, es decir, aptas para el consumo.

Tabla 10

Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con la Temperatura de Almacenamiento de los Helados, Muestras Uno y Dos e Interpretación

Temperatura de Almacenamiento de los helados	M ₁		Interpretación		M ₂		Interpretación	
	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		= 0	Más de 0 - 60	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		= 0	Más de 0 - 60
	= 0	Más de 0 - 60			= 0	Más de 0 - 60		
Si	0 _a	15 _b	Apto	No Apto	15 _a	0 _b	No Apto	Apto

Nota: UFC/g – Unidad Formadora de Colonia por gramo

^{a, b} Cada letra del subíndice denota un subconjunto de interpretación categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel de significación de 0.05

*($p \leq 0.05$), no se presupone la hipótesis nula, se basa en una aproximación normal.

De acuerdo con los resultados obtenidos en las dos marcas de helados de leches artesanales, todas las tiendas tuvieron temperatura de almacenamiento alrededor de +4°C. La marca 1 dio positivo a *E. coli*, no apta para el consumo y la marca 2 dio negativo a *E. coli*, apta para el consumo.

Tabla 11

Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con la Marca de Helado, Muestras Uno y Dos e Interpretación

Marca de Helado	M ₁				M ₂			
	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		Interpretación		Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		Interpretación	
	= 0	Más de 0 - 60	= 0	Más de 0 - 60	= 0	Más de 0 - 60	= 0	Más de 0 - 60
A	0	15	Apto	No Apto	0	0	Apto	Apto
B	0	0	Apto	Apto	15	0	No Apto	Apto
Total	0(0%)	15(50%)	Apto	No Apto	15(50%)	0(0%)	No Apto	Apto

Nota: UFC/g – Unidad Formadora de Colonia por gramo

^aNo se presupone la hipótesis nula

^b Se basa en una aproximación normal

*($p \leq 0.05$)

De acuerdo con los resultados obtenidos, las 15 muestras de la marca 1, dieron positivo a *E. coli* no aptos para el consumo; las 15 muestras de la marca 2, dieron negativo a *E. coli*, aptos para el consumo.

Tabla 12

Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con los Tipos de Envases, Muestras Uno y Dos e Interpretación

Tipos de Envase	M ₁		Interpretación		M ₂		Interpretación	
	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		= 0	Más de 0 - 60	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		= 0	Más de 0 - 60
	= 0	Más de 0 - 60			= 0	Más de 0 - 60		
Fundas	0 a	15 ^b	Apt o	No Apto	15 a	0 ^b	No Apto	Apto

Nota: UFC/g – Unidad Formadora de Colonia por gramo

^a No se presupone la hipótesis nula

^b Se basa en una aproximación normal

*($p \leq 0.05$)

Las 15 muestras de la marca 1, dieron positivo a *E. coli* no aptos para el consumo; las 15 muestras de la marca 2, dieron negativo a *E. coli*, aptos para el consumo. Los envases (30 u.) de ambas marcas eran del mismo material plástico.

Tabla 13

Correlacionar la Presencia de Escherichia coli con el pH, Muestras Uno y Dos e Interpretación

pH	M ₁		Interpretación		M ₂		Interpretación	
	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		= 0	Más de 0 - 60	Frecuencia - <i>Escherichia coli</i> - UFC/g		= 0	Más de 0 - 60
	= 0	Más de 0 - 60			= 0	Más de 0 - 60		
Alcalino	0	15	Apt o	No Apto	0	0	Apto	Apto
Ácido	0	0	Apt o	Apto	15	0	No Apto	Apto
Total	0(0 %)	15(50%)	Apt o	No Apto	15(50 %)	0(%)	No Apto	Apto

Nota: UFC/g – Unidad Formadora de Colonia por gramo

^a No se presupone la hipótesis nula

^b Se basa en una aproximación normal

*($p \leq 0.05$)

La totalidad (15 u.) de helados de leche artesanales, marca 1 dieron positivo a *E. coli*, no aptas para el consumo y presencia de alcalinidad (pH). La totalidad (15 u.) de helados de leche artesanales, marca 2 no dieron positivo a *E. coli*, aptas para el consumo y presencia de acidez (pH).

Tabla 14

Establecer si las muestras de helados de leche artesanales cumplen con las Normas NTE INEN 706:2005 HELADOS.REQUISITOS

<i>Escherichia coli</i> - UFC/g	Frecuencia	Porcentaje	Normas NTE INEN 706:2005 HELADOS REQUISITOS
0	15	50%	Cumple
3-60	15	50%	No Cumple
Total	30	100%	

Nota: Se utilizó en Excel la Condición Si - =SI(I2>0;"Producto No Apto Para el Consumo"; "Apto")

*($p \leq 0.05$).

De acuerdo con los resultados obtenidos, las 15 muestras de helados de leches artesanales de la marca 2, que representan el 50%, cumplen con la Norma NTE INEN 706:2005 HELADOS REQUISITOS y 15 muestras de la marca 1 que, representan el otro 50% de muestras, no cumplen con la norma NTE INEN 706:2005 HELADOS REQUISITOS.

4.2. Resultados de la encuesta efectuada en las 15 tiendas que expenden helados artesanales.

Tabla 15

Evaluación de la encuesta efectuada en las 15 tiendas que expenden helado artesanal, Pregunta 1

¿Ha recibido capacitación por parte del lugar de elaboración del helado artesanal?	Frecuencia	Porcentaje%
Si	15	100%
No	0	0%
Total	15	100%

De acuerdo con los resultados obtenidos en la encuesta realizada se determinó que, los 15 propietarios de los locales de expenden helados artesanales, sí recibieron capacitación por parte de la empresa.

Tabla 16

Evaluación de la encuesta efectuada en las 15 tiendas que expenden helado artesanal, Pregunta 2

¿El local cuenta con condiciones de almacenamiento adecuadas?	Frecuencia	Porcentaje%
Si	15	100%
No	0	0%
Total	15	100%

De acuerdo con los resultados obtenidos en la encuesta a 15 tiendas que expenden helado artesanal, el 100% cuentan con condiciones adecuadas de almacenamiento.

Tabla 17

*Evaluación de la encuesta efectuada en las 15 tiendas que expenden helado artesanal,
Pregunta 3*

¿Ha recibido algún reclamo por parte del consumidor?	Frecuencia	Porcentaje%
Si	0	0%
No	15	100%
Total	15	100%

De acuerdo con los resultados obtenidos en la encuesta a 15 tiendas que expenden helado artesanal, el 100% no cuentan, con reclamos por parte del consumidor sobre el producto de expendio.

5. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se pudo determinar que para el total de las 30 muestras de helado de leche artesanal analizadas, 15 de las mismas (50%) que corresponden a una de las marcas de helado hubo presencia de *Escherichia coli* mientras que para las otras 15 muestras, el 50% restante hubo ausencia del patógeno, indicando que solo unas de las marcas cumple con los parámetros de la **Norma NTE INEN 706:2005 HELADOS.REQUISITOS**, lo cual difiere con los valores obtenidos en la investigación realizada por Játiva (2019) con respecto a la presencia de *E. coli* y comparándolos con los parámetros establecidos por la norma **INEN 706:2013 segunda revisión**, el 13% de las muestras cumplen con los parámetros establecidos para *Escherichia coli*.

Así mismo, los resultados de la determinación de *E. coli* en helados artesanales donde el 50% de las muestras correspondientes a una de las marcas de helado dieron positivo a contaminación con *E. coli*, difiriendo con los valores obtenidos en la investigación realizada por Gavilanes y Guamán (2019) con respecto a la presencia de *E. coli*, donde los resultados obtenidos fueron que el 82.1% del total de las muestras presentaron contaminación con *E. coli*.

Del mismo modo en el presente trabajo de investigación se correlaciono las variables independientes junto con la presencia de *E. coli* en helados de leche artesanal dando como resultado que para la única variable en la que se pudo hallar una relación directa a la presencia del patógeno mencionado fue en el pH, en los cuales 15 de las muestras analizadas (50%) correspondientes a una de las marcas de helado de leche artesanal se obtuvieron valores de pH Alcalino mientras que para las 15 muestras restantes (50%) se obtuvieron valores de pH ácidos.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

- Se identificó la presencia de *Escherichia coli* utilizando el método de Placas Petrifilm, en 30 muestras de helados de leche artesanales comercializadas en tiendas del sector Mucho Lote 1, parroquia Tarqui.
- Se estableció que en la marca 1, las 15 muestras dieron positivo a *E. coli*, no aptos para el consumo y la marca 2, las 15 muestras dieron negativo a *E. coli*, aptos para el consumo.
- La presencia o ausencia de *Escherichia coli* no se correlaciona con las CONDICIONES HIGIÉNICAS SANITARIAS DEL LUGAR DE EXPENDIO.
 - 14 tiendas con la marca 1, tuvieron la CONDICIÓN HIGIÉNICA DEL LUGAR DE EXPENDIO con categoría buena y 1 tienda con categoría regular.
 - 13 tiendas con la marca 2, tuvieron la CONDICIÓN HIGIÉNICA DEL LUGAR DE EXPENDIO con categoría buena y 2 tiendas con categoría regular.
- La presencia o ausencia de *Escherichia coli* no se correlaciona con las CONDICIONES HIGIÉNICAS DEL LUGAR DE ELABORACIÓN.
 - Las 15 muestras de la marca 1, dieron positivo a *E. coli* no aptos para el consumo y las 15 muestras de la marca 2, dieron negativo a *E. coli*, aptos para el consumo.
- Las CONDICIONES HIGIÉNICAS DE LOS LUGARES DE ELABORACIÓN de las dos marcas de helados de leches artesanales se consideran con categoría buena.
- La presencia o ausencia de *Escherichia coli* no se correlaciona con la MANIPULACIÓN DE HELADOS EN LOS PUNTOS DE EXPENDIO.

- En la marca 1 de helados de leches artesanales, 14 tiendas almacenaron en condiciones con categoría buena y 1 tienda con categoría regular.
- En la marca 2, 13 tiendas almacenaron en condiciones con categoría buena y 2 tiendas con categoría regular.
- La marca 1 dio positivo a *E. coli*, no apto para el consumo y la marca 2 dio negativo a *E. Coli*, apto para el consumo.
- La presencia o ausencia de *Escherichia coli* no se correlaciona con las TEMPERATURAS DE ALMACENAMIENTO de los helados.
 - En las dos marcas de helados de leches artesanales, todas las tiendas tuvieron temperatura de almacenamiento 4°C.
 - La marca 1 dio positivo a *E. coli*, no apta para el consumo y la marca 2 dio negativo a *E. Coli*, apta para el consumo
- La presencia o ausencia de *Escherichia coli*, no se correlaciona con las MARCAS DE HELADOS, sino con los controles sanitarios que aplican las industrias durante sus procesos.
 - Las 15 muestras de la marca 1, dieron positivo a *E. coli* no aptos para el consumo y las 15 muestras de la marca 2, dieron negativo a *E. coli*, aptos para el consumo.
- La presencia o ausencia de *Escherichia coli*, no se correlaciona con los TIPOS DE ENVASE.
 - Las 15 muestras de la marca 1, dieron positivo a *E. coli* no aptos para el consumo y las 15 muestras de la marca 2, dieron negativo a *E. coli*, aptos para el consumo
 - Los envases (30 u.) de ambas marcas eran del mismo material plástico
- Las muestras de helados de leche artesanal de la marca 2, cumplen con los requisitos microbiológicos de la Norma NTE INEN 706:2005 HELADOS.REQUISITOS

6.2. Recomendaciones

- Sugerir un nuevo estudio con un número mayor de marcas de helados de leche artesanales para determinar si hay presencia de *Escherichia coli* empleando el método de Placas Petrifilm con el fin de aumentar la confianza de los consumidores de este producto en el sector de Mucho Lote 1 de Guayaquil.
- Proponer la ejecución de un programa de capacitaciones sobre Buenas Prácticas de Manufactura en las instalaciones de las empresas de helados de leche artesanales, asegurando en dicho producto una correcta inocuidad de cara al consumidor.
- Sugerir la evaluación del procedimiento de entrega del producto a los diferentes puntos de expendio para determinar donde se corta la cadena de frío durante la transportación.

7. BIBLIOGRAFÍA

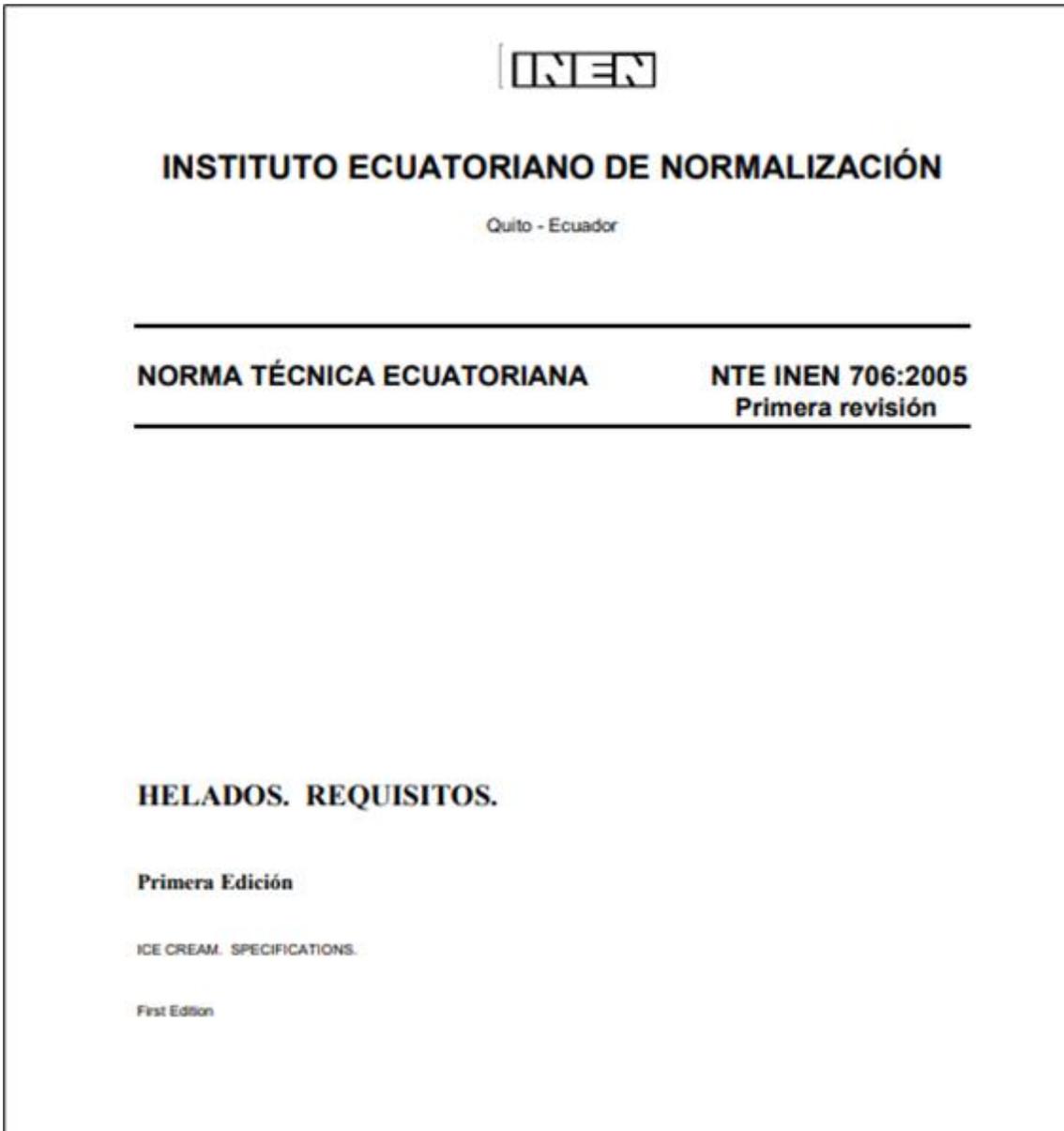
- 3M. (s.f). *Las placas Petrifilm™ de 3M™ están diseñadas para la ciencia moderna.* https://www.3m.com.ec/3M/es_EC/food-safety-la/petrifilm/
- 3M. (s.f). *Placas Petrifilm 3M.* <https://www.novachem.com.ec/producto/petrifilm/>
- 3M. (s.f) *3M™ Petrifilm™ Placas para Recuento de Coliformes.* 3M Petrifilm Guía de Interpretación. https://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm_guias.pdf
- Banda, M., Saldarriaga, G., Montoya L., Aguirre, P. y Franco, A. (2020). *Diseño del proceso de producción para la elaboración de helado artesanal a base de plátano de seda de descarte en Piura.* Universidad de Piura Facultad de Ingeniería: https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/4617/PYT_Informe_Final_Proyecto_HeladoPlatano.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Bansal, N., y Lee, L. (2017). *Escherichia coli.* Pathology outlines. <https://www.pathologyoutlines.com/topic/colonecoli.html>
- Bird, P., Bastin, B., Klass, N., Crowley, E., Agin, J., Goins, D., Schumacher, A. (2020). Evaluation of the 3MTM Petrifilm™ Rapid E. coli/Coliform Count Plate for the Enumeration of E. coli and Coliforms: Collaborative Study, First Action: 2018.13. Journal of AOAC International, 513-522. <https://doi.org/10.1093/jaocint/qs2013>
- Borja, G., Pilay, J. (2019). *Estudio de factibilidad para la creación de una heladería artesanal con sabores ecuatorianos en la ciudad de Guayaquil.* Guayaquil, Ecuador. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/46772/1/BINGQ-GS-19P80.pdf>
- BPHC. (2019). *E. coli (Escherichia coli)* Boston Public Health Commission | Infectious Disease Bureau. Boston. <https://bphc.org/whatwedo/infectious-diseases/Infectious-Diseases-A-to-Z/Documents/Fact%20Sheet%20Languages/E.coli/Spanish.pdf>

- Castañeda Guillot, C. (2017). *Microbiota intestinal, probióticos y prebióticos*. Dialnet, 156 - 160. <http://dx.doi.org/10.29033/ei.v2n4.2017.07>
- Márquez, M., Escorcía, G., Larrea, J., (2019) *Mecanismos de Patogenicidad de Escherichia Coli y Salmonella SSP*. Contactos, Revistas de Educación en Ciencias y Tecnología. <https://contactos.izt.uam.mx/index.php/contactos/article/view/16>
- Cundon, C., Ameal, A., Maubecín, E., Betancor, A. (2019) *Caracterización de cepas patógenas extraintestinales de Escherichia coli aisladas de perros y gatos de compañía de Buenos Aires, Argentina*. Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. 10.1016/j.ram.2017.11.003
- CDC. (s.f.). *La E. coli y la seguridad de los alimentos*. Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/ecoli-and-food-safety.html>
- Heladoartesanal.com. (2018). *Historia y evolución del helado*. <https://heladoartesanal.com/historia-evolucion-del-helado/>
- Heladoartesanal.com (2018) *Los helados y su importancia nutricional*. <https://heladoartesanal.com/los-helados-importancia-nutricional/>
- García, B., Gonzáles, M. X., Prado, C., Sánchez, S., & Valladolid, M. (2018). *Diseño de una línea de producción de helado artesanal en base algarroba con insumos naturales. Piura, Piura, Perú*. https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/3837/PYT_Informe_Final_Proyecto_HELADOALGARROBA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- González, N. (2020). *Escherichia coli. Una revisión bibliográfica*. Ocronos - Editorial Científico-Técnica. <https://revistamedica.com/escherichia-coli-revision-bibliografica/#TAXONOMIA-Y-CLASIFICACION-DE-ESCHERICHIA-COLI>

- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S. et al. (2021). *The population genetics of pathogenic Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 19, 37–54. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0416-x>
- Jawetz., Melnick., Adelberg (2020). *Microbiología Médica* (28 ed.). Mc Graw Hill.
- Mata, N. (2020). *Helado de zanahoria (Daucus carota) en base láctea enriquecido con extracto de alfalfa (Medicago sativa) como fuente de hierro*. Milagro, Ecuador. <https://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/2702/1/TUAESC012-2014.pdf>
- Millán, Y., Araque, M., Ramírez, A. (2020). *Distribution of phylogenetic groups, virulence factors and antimicrobial susceptibility in strains of uropathogenic Escherichia coli*. *Revista Chilena de Infectología*. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182020000200117>
- Mora, J., & Maestre, S. (2017). *Historia del Helado. Fundamentos Científicos de la Heladería*. San Vicente del Raspeig: Universitat d' Alacant. España
- Mora, J., & Maestre, S. (2017). *Bromatología de los Helados. Fundamentos Científicos de la Heladería*. San Vicente del Raspeig: Universitat d' Alacant. España
- Morales López, S., Yepes, J., Prada Herrera, J., & Torres Jiménez, A. (2019). *Enterobacteria in the 21st century: a review focused on taxonomic changes*. *The Journal of infection in developing countries*, 265. <https://doi.10.3855/jidc.11216>
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., Cuadrado, C. (2017). *Tablas de composición de alimentos* (18 ed.). Pirámide.
- Mueller, M., Tainter, C. (2021). *Escherichia coli*. *SatPEarls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/>
- Ríos Muñoz, D., Cerna Cortés, J. F., Morán García, N., Meza Segura, M., & Estrada García, T. (2019). *Escherichia coli enterotoxigénica y enteroagregativa: prevalencia, patogénesis y modelos murinos*. *Gaceta de México*, 410-416. <https://doi.10.24875/GMM.19004716>

- Redondo, E. (2017). *Detección de la presencia de Escherichia coli y Salmonella spp. en alimentos por técnicas de cultivo y técnicas moleculares*. Universitat Politècnica de València. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural - Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural. https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/85541/memoria_20855937.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Shaunak, A. (2020). *la Historia del helado desde el helado de leche a los magnums*. Food Unfolded. <https://www.foodunfolded.com/es/articulo/la-historia-del-helado-desde-el-helado-de-leche-a-los-magnums>
- Sherris, D. (2017). *Enterobacterias*. Microbiología Médica 6e. Barcelona: McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2169§ionid=162984036>
- Vargas Remolina, L. V. (2018). *Mecanismos de virulencia de Escherichia coli enteropatógena*. Revista Bioanálisis, 35. <http://www.revistabioanálisis.com/images/flippingbook/Rev80/nota3.pdf>
- WHO (2018). *E. coli*. Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

8. ANEXOS



Anexo 1: Norma INEN 706:2005 Primera Revisión. HELADOS. REQUISITOS.

Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	HELADOS. REQUISITOS.	NTE INEN 706:2005 Primera revisión 2005-10
--	---------------------------------	---

1. OBJETO

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

2. ALCANCE

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

3. DEFINICIONES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

(Continúa)

DESCRITORES: Helados, requisitos

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

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

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

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

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

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

4. CLASIFICACIÓN

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

4.1.1 De crema de leche

4.1.2 De leche

4.1.3 De leche con grasa vegetal

4.1.4 De yogur

4.1.5 De yogur con grasa vegetal

4.1.6 De grasa vegetal

4.1.7 No lácteo

4.1.8 Sorbete o "sherbet"

4.1.9 De fruta

4.1.10 De agua o nieve

4.1.11 De bajo contenido calórico

4.2 Clasificación de mezclas para helado

4.2.1 Líquida

4.2.2 Concentrada

4.2.3 En polvo

(Continúa)

4.3 Designación

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

Ejemplos:

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

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

Ejemplo:

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

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

Ejemplo:

Mezcla concentrada para helado de leche, sabor a mora.

5. DISPOSICIONES GENERALES

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

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

5.1.2 Grasas y aceites vegetales, o animales comestibles.

5.1.3 Proteínas comestibles no lácteas.

5.1.4 Edulcorantes naturales y artificiales permitidos.

5.1.6 Agua potable

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

5.1.8 Frutas y productos a base de fruta.

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

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

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

(Continúa)

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

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

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

5.7 El producto que se descongele no debe congelarse nuevamente.

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

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

6. REQUISITOS

6.1 Requisitos específicos

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

TABLA 1. Requisitos fisicoquímicos

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

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

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

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

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

(Continúa)

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

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

Requisitos	n	m	M	c
Recuento de microorganismos mesófilos ¹⁾ , UFC/g	5	10000	100000	2
Recuento de Coliformes, UFC/g	5	100	200	2
Recuento de E. Coli, ²⁾ UFC/g	5	Ausencia	Ausencia	0
Recuento de Staphylococcus coagulasa positiva, UFC/g	5	50	100	2
Detección de Salmonella/25g	5	Ausencia	Ausencia	0
Detección de Listeria monocytogenes/25g	5	Ausencia	Ausencia	0

1) El recuento de microorganismos mesófilos no se realiza en el helado de yogur.
2) En los helados con agregados en donde se requiere hacer dilución 10⁻¹ el resultado se expresará como recuento de E. coli, UFC/g < 10

En donde:

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

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

TABLA 3. Requisitos microbiológicos para mezclas en polvo para helados

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

En donde:

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

(Continúa)

6.2 Requisitos complementarios

6.2.1 Higiene

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

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

6.2.2 Las temperaturas de almacenamiento y transporte del helado no deben ser inferior a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

7. MUESTREO E INSPECCIÓN

7.1 Muestreo

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

7.2 Aceptación o rechazo

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

8. MÉTODOS DE ENSAYOS

8.1 Ensayos fisicoquímicos

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

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

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

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

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

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

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

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

(Continúa)

8.2 Ensayos microbiológicos

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

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

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

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

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

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

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

9. ROTULADO Y ENVASADO**9.1 Rotulado**

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

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

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

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

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

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

9.2 Envasado

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

(Continúa)

APENDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 004:1983	Leche y productos lácteos. Muestreo.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 012:1973	Leche. Determinación del contenido de grasa
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 013:1984	Leche. Determinación de la acidez titulable
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 014:1984	Leche. Determinación de sólidos totales
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 016:1984	Leche. Determinación de proteína
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 019:1973	Leche y productos lácteos. Determinación de la actividad de fosfatasa alcalina usando el método fluorimétrico.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 255:1979	Control de calidad. Procedimientos de muestreo y tablas para la inspección por atributos.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 720:1985	Leche y productos lácteos. Determinación de bacterias patógenas (Salmonella y Shigella)
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 729:1985	Leche y productos lácteos. Determinación del colesterol.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 334-1:2000	Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 1. Requisitos
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 334-2:2000	Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 2. Rotulado nutricional. Requisitos
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-5:1990	Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de microorganismos aeróbios mesófilos REP
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-7:1990	Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de Recuento de colonias
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-8:1990	Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y escherichia coli.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-11:1998	Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la presencia o ausencia de mohos y levaduras (utilizando medio líquido)
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-14:1998	Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de Staphylococcus aureus.
Norma Internacional ISO 3728: 2004	Milk and Milk Products. Determinación de sólidos totales.
Norma Internacional ISO 4831:1978	Microbiology General Guidance for the enumeration of Colform – Most probable number Technical at 30° C.
Norma Internacional ISO 4832:1991	Microbiology. General Guidance For The Enumeration Of Coliforms. Colony Count Technique.
Norma Internacional ISO 4833:2003	Milk and Milk Products. Recuento de microorganismos mesófilos
Norma Internacional ISO 6579:2002	Milk and Milk Products. Detection de salmonella
Norma Internacional ISO 6610:1992	Milk and Milk Products. Enumeration of Colony-Forming Units Of Micro-Organisms Colony Count Technique at 30 degrees C.

(Continúa)

Norma Internacional ISO 6611:1992	Milk and Milk Products. Enumeration of Colony-Forming Units Of Yeasts and/or Moulds. Colony Count Technique at 25 degrees C.
Norma Internacional ISO 6785:2001	Milk and Milk Products. Detection of Salmonella spp.
Norma Internacional ISO 7328:1999	Milk - Based Edible Ices an Ice Mixes. Determination of fat Content. Gravimetric Method (Reference Method)
Norma Internacional ISO 8262-2:1987	Milk Products and Milk Based Foods. Determination of Fat Content by the Weibull - Bemtroop Gravimetric Method (Reference Method) Part 2. Edible Ice and Ice Mixes.
Norma Internacional ISO 10560:1993/Cor. 1:1994	Milk and Milk Products. Detection of Listeria monocytogenes.
Norma Internacional ISO 11290-1:1996	Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs. Horizontal Method for the Detection and Enumeration of Listeria monocytogenes. Detection Method.
AOAC, 2000, 17 th 33.8.03 (941.08)	Total Solids in Ice Cream and Frozes Desserts.
AOAC, 2000, 17 th 33.2.26 (989.05)	Mojonnier modificado.
AOAC, 2000, 17 th 33.8.05 (952.06)	Fat in Ice Cream and Frozes Desserts.
AOAC, 2000, 17 th 33.8.01 (968.14)	Weight per Unit Volume of Package Ice Cream.

Z.2 BASES DE ESTUDIO

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

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

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

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN 706 Primera revisión	TÍTULO: HELADOS. REQUISITOS.	Código: AL 03.01-430
ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio:	REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo 1983-06-14 Oficialización con el Carácter de Obligatoria por Acuerdo No. 441 de 1983-09-01 publicado en el Registro Oficial No. 579 de 1983-09-15 Fecha de iniciación del estudio: 2004-11-16	
Fecha de consulta pública: de _____ a _____		
Subcomité Técnico: HELADOS Fecha de iniciación: 2004-11-16 Integrantes del Subcomité Técnico:		Fecha de aprobación: 2005-01-14
NOMBRES:	INSTITUCIÓN REPRESENTADA:	
Dra. Sorina Luna (PRESIDENTA)	UNILEVER ANDINA ECUADOR	
Ing. Mariana Soriano	UNILEVER ANDINA ECUADOR	
Dr. Gonzalo Paz	UNILEVER ANDINA ECUADOR	
Dra. Roscio Zapata	HELADERIAS CONFRUNAT CIA. LTDA.	
Dra. Mónica Sosa	INST. NACIONAL DE HIGIENE- QUITO	
Dra. Edith Mayorga	FABRILACTEOS	
Dr. Carlos Santos	ESKIMO S. A.	
Dra. Maritza Freire	INST. NACIONAL DE HIGIENE-GUAYAS	
Dra. Paulino Salazar	COMERCIAL DANESA	
Dr. Hernán Morales	DIREC. METROPOLITANA DE SALUD	
Dra. Teresa Ávila	DIREC. METROPOLITANA DE SALUD	
Lic. Hugo Bastos	HELADERIAS CONFRUNAT CIA. LTDA.	
Quím. Mauricio Carehigüta	PASTEURIZADORA QUITO	
Téc. Sara Iruvalde	UNILEVER ANDINA ECUADOR	
Dra. Amparo Fuentes	LECOCEM-PARMALAT	
Dra. Narcisca Quito	LECHES ANDINAS S.A.	
Ing. Fausto Lara M.(SECRETARIO TÉCNICO)	INEN	
Otros trámites:		
El Consejo Directivo del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 2005-08-25		
Oficializada como: Obligatoria	Por Acuerdo Ministerial No. 05 783 de 2005-09-30	
Registro Oficial No. 127 de 2005-10-18		



Anexo 15: Recolección de muestras



Anexo 16: Muestras en su respectiva caja térmica



Anexo 17: Estudiantes de titulación realizando las respectivas compras de helados en las diferentes tiendas



Anexo 18: Estudiantes de titulación realizando las respectivas encuestas a los dueños de las tiendas



Anexo 19: Estudiante de titulación guardando muestras en refrigeración antes de su envío al laboratorio para el correspondiente análisis



SERVICIO DE DIAGNÓSTICO VETERINARIO
LABORATORIO MICROBIOLÓGICO
Dra. Yolanda Morante de López

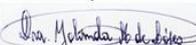
Señor (a/ta) Egresado (a):Karla Sánchez..... Fecha:10 de febrero de 2022..... Muestra: ...Helados artesanales.....

HOJA DE CONTROL PARA ANÁLISIS DE LABORATORIO

Siembra por el método de Petri Film

#de Muestra	Código	Cantidad	Resultado E. Coli	Número de UFC	Observaciones
#1	M1	1	Positivo	27	
#2	M1	1	Positivo	60	
#3	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano
#4	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano
#5	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano
#6	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano
#7	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano
#8	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano
#9	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano
#10	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano

Atentamente,


Dra. Yolanda Morante de López
Registro profesional #105

Anexo 20: Tabla de resultados de los análisis de las muestras recolectadas



SERVICIO DE DIAGNÓSTICO VETERINARIO
LABORATORIO MICROBIOLÓGICO
Dra. Yolanda Morante de López

Señor (a/ta) Egresado (a):Karla Sánchez..... Fecha:10 de febrero de 2022..... Muestra: ...Helados artesanales.....

HOJA DE CONTROL PARA ANÁLISIS DE LABORATORIO

Siembra por el método de Petri Film

#de Muestra	Código	Cantidad	Resultado E. Coli	Número de UFC	Observaciones
#11	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano
#12	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano
#13	M1	1	Positivo	5	No apto para el consumo humano
#14	M1	1	Positivo	11	No apto para el consumo humano
#15	M1	1	Positivo	3	No apto para el consumo humano
#16	M1	1	Positivo	38	No apto para el consumo humano
#17	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano
#18	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano
#19	M2	1	Negativo	-	Producto apto para el consumo humano
#20	M2	1	Positivo	45	No apto para el consumo humano

Atentamente,


Dra. Yolanda Morante de López
Registro profesional #105

Anexo 21: Tabla de resultados de los análisis de las muestras recolectadas



SERVICIO DE DIAGNÓSTICO VETERINARIO
LABORATORIO MICROBIOLÓGICO
Dra. Yolanda Morante de López

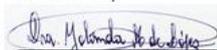
Señor (a/ita) Egresado (a):Karla Sánchez..... Fecha:26 de febrero de 2022.... Muestra: ...Helados artesanales.....

HOJA DE CONTROL PARA ANÁLISIS DE LABORATORIO

Siembra por el método de Petri Film

#de Muestra	Código	Cantidad	Resultado E. Coli	Número de UFC	Observaciones
#21	M2	1	Positivo	8	Producto no apto para consumo humano
#22	M2	1	Positivo	5	No apto para el consumo humano
#23	M2	1	Positivo	23	Producto no apto para consumo humano
#24	M2	1	Positivo	8	No apto para el consumo humano
#25	M2	1	Positivo	10	Producto no apto para consumo humano
#26	M1	1	Positivo	9	No apto para el consumo humano
#27	M1	1	Positivo	7	Producto no apto para consumo humano
#28	M1	1	Positivo	4	No apto para el consumo humano
#29	M2	1	Positivo	0	Producto apto para el consumo humano
#30	M2	1	Positivo	0	Producto apto para el consumo humano

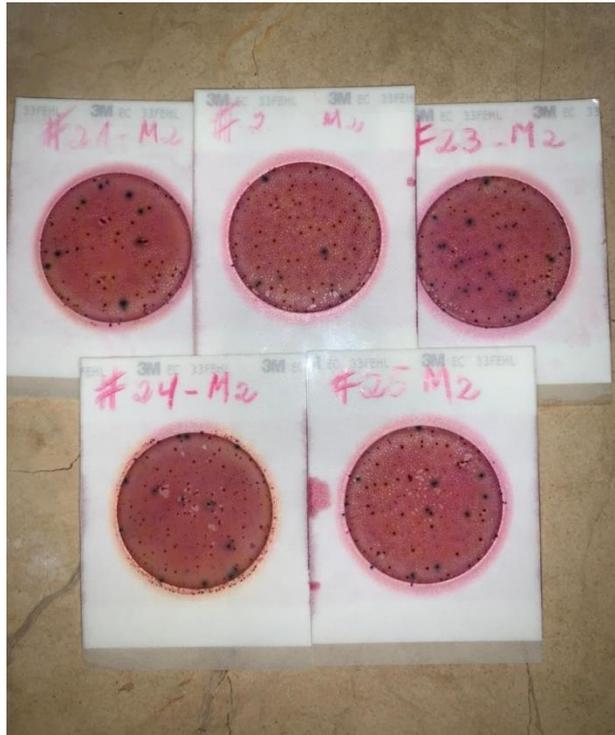
Atentamente,


 Dra. Yolanda Morante de López
 Registro profesional #105

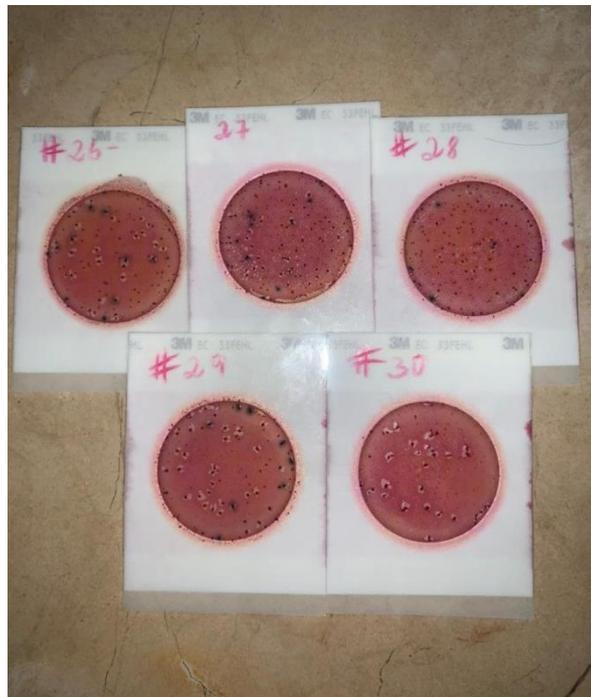
Anexo 22: Tabla de resultados de los análisis de las muestras recolectadas



Anexo 23: Muestras de Placas Petrifilm



Anexo 24: Muestras de Placas Petrifilm



Anexo 25: Muestras de Placas Petrifilm

3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes

Recomendaciones de uso

Para información detallada sobre ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

Almacenamiento



1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura $\leq 5^{\circ}\text{C}$ ($\leq 41^{\circ}\text{F}$). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se almacenen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Cierre la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.



2 Para cerrar un paquete abierto, doble el adhesivo y presiónelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.



3 Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura $\leq 5^{\circ}\text{C}$ ($\leq 41^{\circ}\text{F}$) y una humedad relativa $\leq 65\%$. **No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos.** Utilice las Placas Petrifilm máximo un mes después de abrir el paquete.

Preparación de la muestra



4 Prepare una dilución de una muestra de alimento. Pese o pipete la muestra en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.



5 Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Buffer-Field (tampon-IF buffer, 0.0333 g/L de KH_2PO_4 y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1% (diluyente de sal peptonada (protocolo ISO 6887)); buffer de agua peptonada (método ISO 6078); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo Lactose libre de bisulfito o agua destilada.

No utilice buffers que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.



6 Mezcle o homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.0 y 7.2:
• Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH .
• Para productos básicos: use solución 1N de HCl .

Inoculación



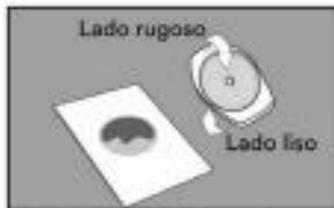
7 Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.



8 En forma perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrada inferior, con la Pipeta Electrónica 3M™ (o cualquier otro dispositivo similar).



9 Baje con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. **No la deje caer.**



10 Con el lado liso hacia abajo, coloque el dispensador en la película superior sobre el inóculo.



11 Presione suavemente el dispensador para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire el dedo ni el dispensador.



12 Levante el dispensador. Espere, por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.

Incubación



13 Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humedecer el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente de agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

Interpretación



14 Las Placas Petrifilm pueden ser contactadas en un cortador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la Guía de Interpretación para leer los resultados.



15 Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. Los métodos aprobados más conocidos son:

- **ADAC método oficial 991.14**
Para coliformes: Incubar 24 h ± 2 h a 35 °C ± 1 °C
Para *E. coli*: Incubar 48 h ± 2 h a 35 °C ± 1 °C
- **ADAC método oficial 998.08**
Para *E. coli* (carnes, aves, marinos):
Incubar 24 h ± 2 h a 35 °C ± 1 °C
- **Método NMKL (147.1993)**
Para coliformes: Incubar 24 h ± 2 h a 37 °C ± 1 °C
Para *E. coli*: Incubar 48 h ± 2 h a 37 °C ± 1 °C

Comentarios adicionales

- **Nota:** Recuerde inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.
- Para contactar localmente a 3M Food Safety en Latinoamérica, visítanos en nuestra página de internet: www.3M.com/foodsafety
- Para servicio técnico en Latinoamérica, contacte al Representante de Ventas 3M más cercano a usted.

3M.com/foodsafety

3M

3M Food Safety
3M Center, Building 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000 USA

1-800-328-6553

3M, Ciencia Aplicada a la Vida, y Petrifilm son marcas registradas de 3M. Por favor, recicla.
© 3M 2015. Todos los derechos reservados.