

Evaluación del efecto de *Lactococcus lactis* y tiempo de clarificación en las características físico-químicas y sensoriales de la mantequilla clarificada (Ghee)

María Mercedes Zavaleta Méndez

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Octubre, 2014

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Evaluación del efecto de *Lactococcus lactis* y tiempo de clarificación en las características físico químicas y sensoriales de la mantequilla clarificada (Ghee)

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por:

María Mercedes Zavaleta Méndez

Zamorano, Honduras

Octubre, 2014

Evaluación del efecto de *Lactococcus lactis* y tiempo de clarificación en las características físico químicas y sensoriales de la mantequilla clarificada (Ghee)

Presentado por:

María Mercedes Zavaleta Méndez

Aprobado:

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Asesor Principal

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Director
Departamento de Agroindustria
Alimentaria

Mayra Márquez, Ph.D.
Asesora

Raúl H. Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Evaluación del efecto de *Lactococcus lactis* y tiempo de clarificación en las características físico químicas y sensoriales de la mantequilla clarificada (Ghee)

María Mercedes Zavaleta Méndez

Resumen: El ghee es un producto originario de la zona Indoasiática elaborado a partir de la exposición de la mantequilla al calentamiento lento el cual remueve el agua de la mantequilla, se decantan los sólidos lácteos; participando éstos en reacciones de Maillard lo cual le da su textura, sabor, olor y color característico. El objetivo del estudio fue evaluar dos métodos de elaboración (fermentado y no fermentado) y tres tiempos de cocción (7, 10 y 13 minutos) a temperatura de 120 °C para establecer la formulación más aceptada por los consumidores. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con seis tratamientos, tres repeticiones y tres medidas repetidas en el tiempo (días 0, 20, 40). Los tratamientos se evaluaron mediante análisis sensoriales de aceptación con una escala hedónica de nueve puntos. Las características físico-químicas y microbiológicas evaluadas fueron: color, textura, porcentaje de grasa, actividad de agua, pH, ATECAL y mesófilos aerobios. Hubo diferencias entre ambos métodos en los análisis de pH y ATECAL pero los tiempos de cocción fueron las variables determinantes en parámetros de color, consistencia y percepción sensorial. Microbiológicamente todos los tratamientos son estables a temperatura ambiente; la actividad de agua y el porcentaje de grasa no varían en el tiempo. Por medio del análisis de aceptación acumulado el tratamiento mejor evaluado fue el control en el día 0; en el día 20 fue el tratamiento fermentado de 10 minutos y 13 minutos, y no fermentado de 13 minutos; en el día 40 el tratamiento no fermentado de 10 minutos y finalmente en el promedio todos los tratamientos son igualmente aceptados excepto el no fermentado de 13 minutos.

Palabras clave: Cocción, fermentación, ghee, mantequilla clarificada.

Abstract: Clarified butter ghee it's a product native to the Indoasian zone; which is made by exposing butter to low fire, water removal, dairy solids' decantation and their posterior participation in Maillard reactions, a process that brings ghee its' characteristic texture, flavor, aroma and color. This study's objective was to evaluate two elaboration methods (Fermented and non-fermented), as well as three cooking times (7, 10 and 13 minutes) and establish the most accepted treatment. A Completely Random Blocks statistical design was used in this study, with six treatments, three repetitions and three measures repeated through time (day 0, 20 and 40). The treatments were evaluated with a sensory acceptance analysis with a hedonic nine point scale. The physic-chemical and microbiological characteristics evaluated were: color, texture, fat percentage, water activity, pH, TA and aerobic mesophiles. Ghee with low pH, water activity below 0.60 and a 99.8% fat percentage was obtained; these conditions make this product shelf stable at ambient temperature; water activity and fat percentage don't change through time. Sensory analysis states that the treatment that were best evaluated in day 0 was the control; in day 20 was the fermented with 10 and 13 minutes and non-fermented with 10 minutes; in day 40, the non-fermented with 10 minutes and finally, in the average, every treatment was equally accepted by consumers except the non-fermented with 13 minutes.

Key words: Clarified butter. cooking time, fermentation, ghee.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4 CONCLUSIONES.....	30
5 RECOMENDACIONES.....	31
6 LITERATURA CITADA.....	32
7 ANEXOS.....	35

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

		Página
Cuadros		
1.	Diseño Experimental	7
2.	Rendimiento crema cruda a mantequilla	11
3.	Rendimiento mantequilla a ghee	11
4.	Efecto de tratamientos y tiempo en la consistencia del ghee	12
5.	Análisis de color del ghee por L*	13
6.	Análisis de color del ghee por tono	14
7.	Análisis de color del ghee por croma	14
8.	Análisis de grasa del ghee	15
9.	Efecto de tratamientos y tiempo en pH del ghee	16
10.	Efecto de tratamientos y tiempo en la actividad de agua del ghee	17
11.	Efecto de tratamientos y tiempo en ATECAL del ghee	18
12.	Análisis de Apariencia del ghee	20
13.	Análisis de Sabor del ghee	21
14.	Análisis de Aroma del ghee	22
15.	Análisis de la Consistencia del ghee	23
16.	Análisis de Aceptación general del ghee	23
17.	Correlación de análisis físico-químicos del ghee	27
18.	Correlación entre variables de análisis sensorial del ghee	28
19.	Costo de elaboración de 1 kg de ghee fermentado	28
20.	Costo unitarios de ghee fermentado	29
21.	Costo de elaboración de 1 kg de ghee sin fermentar	29
22.	Costo unitarios de ghee sin fermentar	29
Figuras		Página
1.	Flujo de procesos para elaboración de ghee por medio de método de crema directa (no fermentado) y desi ghee (método nativo o fermentado)	4
2.	Análisis del comportamiento de la mantequilla durante el tiempo de calentamiento y cocción	9
3.	Análisis de aceptación acumulada día 0	24
4.	Análisis de aceptación acumulada día 20	25
5.	Análisis de aceptación acumulada día 40	25
6.	Análisis de aceptación acumulada promedio	26
Anexos		Página
7.	Hoja de evaluación sensorial usada en análisis de preferencia	35

1. INTRODUCCIÓN

La mantequilla es una emulsión de gotas de agua, proteína, lactosa y sales dispersas en una fase continua de grasa láctea semi-cristalina (emulsión de agua en aceite). Su sabor característico le da a esta grasa y sus derivados un valor comercial alto en comparación al resto de grasas y aceites naturales que contienen compuestos químicos similares. El interés de la química en la grasa láctea se encuentra en los compuestos de sabor y como éstos son afectados por condiciones de procesamiento; en las propiedades fisicoquímicas (comportamiento de cristalización) de la grasa láctea y las emulsiones en la cual esta grasa es utilizada (Cant *et al.* 2008). La mantequilla contiene normalmente cerca de 80% de grasa (USDA 2007).

Hay evidencia del uso de mantequilla para consumo humano en épocas tan tempranas como 2,000 a.C. y desde el principio se usó el proceso de agitar o batir la crema para transformarla a mantequilla; batir altera la grasa en la leche, lo que causa que los glóbulos grasos se unan entre ellos; en este proceso el suero de la mantequilla es creado junto con la mantequilla sólida. Actualmente se sigue realizando este proceso, únicamente haciéndolo más eficiente (Englesby 2010).

Uno de los tipos de mantequilla es aquella que pasa por una fermentación láctica. La fermentación de la mantequilla se da por cultivo de bacterias mesófilas; las cuales son bacterias que crecen a una temperatura de 10 a 40 °C con un óptimo cercano a 30 °C (Stanley 1998). En este estudio se utilizaron dos tipos de bacterias: *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris* y *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *Cremoris*; los cuales son acidificadores y desarrolladores de aroma en productos lácteos (Gösta 2003). La fermentación se realiza en la crema para evitar la muerte de las bacterias fermentadoras por altos porcentajes de grasa, por lo cual no se hace este proceso después de la elaboración de la mantequilla. Para este estudio se eligió utilizar ambos microorganismos debido a la disponibilidad del cultivo en la casa comercial, así como las características que desarrollan (acidez, sabor y aroma).

La mantequilla clarificada, mejor conocida como ghee es una grasa pura exclusivamente obtenida de la leche, crema o mantequilla, por medio de procesos que involucran la aplicación de calor a presión atmosférica, que resulta en la casi completa remoción de humedad y sólidos no grasos; lo que le da al producto su sabor característico, su textura y estructura física (Tamime 2009). La mantequilla clarificada es usada ampliamente dentro del área que contiene al subcontinente indio, oriente cercano y la parte noreste de África. El origen de la mantequilla clarificada en la parte noreste del subcontinente indio sigue en debate (FAO s.f.). El ghee tiene 25% de grasas de cadena corta y mediana (en comparación a la mantequilla que contiene solamente entre el 12-15%) (WHFoods s.f.). Debido a la separación por densidades se elimina por completo la caseína y la lactosa.

Las diferencias fundamentales entre la mantequilla y el ghee es el porcentaje de grasa debido a que la mantequilla suele estar en valores de 80% y el ghee por su misma definición debe de estar arriba de 99.8% de grasa; el punto de humeo por parte del ghee es superior (205 °C) que la mantequilla (121 °C) y porcentaje de grasa saturada es significativamente mayor en el ghee (53.9-66.8%) en comparación con el de la mantequilla (51.3%) (IDEA s.f.). La mantequilla clarificada se encuentra actualmente ganando popularidad en Australia, países árabes, Estados Unidos, Reino Unido, Bélgica, Nueva Zelanda, Holanda y otros países asiáticos y africanos (Illingworth *et al.* 2009).

El ghee es usado no solamente para cocinar sino también es uno de los pilares de la medicina hindú antigua. Se le atribuyen varios efectos positivos: promueve la digestión, estimula el apetito, mejora la concentración y la memoria así como la detoxificación del cuerpo. Es capaz de promover la sanación de heridas, es anti-inflamatorio y estimula el metabolismo; también contiene una alta concentración de ácido butírico, un ácido graso con propiedades anti virales, se le atribuye la capacidad de inhibir el crecimiento de tumores cancerosos (Lebenswert-Leben s.f.).

En un estudio realizado en el 2012 se compararon tres métodos de procesamiento de ghee (crema directa, mantequilla cremosa y método modificado de mantequilla etíopiana) con respecto al rendimiento y estabilidad en anaquel de cada una de ellas a temperatura de almacenamiento de 45 a 70 °C en oscuridad. Se evaluó el valor del peróxido, el valor de ácidos grasos libres y las propiedades sensoriales de los productos. Se concluyó que el método de crema directa obtuvo la mayor vida de anaquel (7.5 meses), pero en rendimiento, el que obtuvo mejores valores fue el método de mantequilla cremosa (Hailu 2012). Lo que indica que este producto es estable a altas temperaturas y tiene una larga vida anaquel con respecto al resto de grasas comestibles.

Las características de la materia prima influyen en la calidad del producto final por lo cual las variables a considerar son la leche, crema o mantequilla de donde se elabora la mantequilla clarificada, los métodos de preparación, temperatura de clarificación, condiciones de almacenamiento y tipo de alimentación del ganado (Ganguli y Jain 1973). Este estudio se elaboró debido a que es necesario obtener una manera alterna de preservar la grasa de la leche sin la adición de químicos o antioxidantes, elaborar una alternativa de mantequilla más estable a temperatura ambiente y sensorialmente diferente para abrir un nuevo mercado.

- Evaluar el efecto de la fermentación y el tiempo clarificación en las propiedades físico-químicas de la mantequilla clarificada.
- Determinar el efecto de la fermentación y tiempo de clarificación en las propiedades sensoriales y aceptación de la mantequilla clarificada.
- Calcular costos variables por kilogramo y costo variable unitario de la elaboración de ghee fermentado y no fermentad

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio. El estudio se realizó en tres áreas, la Planta de Industria Láctea de Zamorano para la elaboración de la crema ácida y toma de datos de los diferentes tratamientos; Planta de Innovación de Alimentos, donde se realizaron los tratamientos así como los análisis sensoriales; y el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ), en donde se tomaron datos de los análisis físicos y químicos de los diferentes tratamientos; todos estos lugares anteriormente mencionados localizados en el Departamento de Francisco Morazán, 32 Km al este de Tegucigalpa, Honduras.

Desarrollo de proceso preliminar. Se realizaron tres pruebas preliminares en las cuales se buscó establecer un proceso estándar para la elaboración de la mantequilla clarificada. Se utilizaron seis tiempos de cocción de la mantequilla (5, 7, 10, 13, 15, 17 minutos) a 120 °C y diferentes puntos de donde comenzar a tomar el tiempo de cocción (ebullición, decantación de sólidos y luego de alcanzar los 100 °C). Se eligieron los tres tiempos que mostraron las mayores diferencias físicas y sensoriales entre sí (7, 10 y 13 minutos) pero cuyas características sensoriales fueran aceptables al consumidor y cumplieran con las regulaciones de lo que se considera que es ghee. Se eligió el punto clave de punto de partida para tomar el tiempo de cocción cuando la matriz grasa alcanzara los 100 °C; punto en el cual garantizó la mayor cantidad de remoción de agua y mejor textura.

Metodología. Se utilizaron dos metodologías para producir la mantequilla clarificada realizando tres repeticiones por cada tratamiento: Crema cruda anteriormente fermentada y crema cruda fresca. Se realizaron tres tratamientos por cada metodología.

Flujo de proceso. Para la elaboración de la mantequilla clarificada fermentada se utilizó crema cruda al 45% de grasa, inoculando a razón de 1 g de cultivo láctico por cada 3 kilogramos de crema cruda. En total se utilizaron 16 kilogramos de crema cruda por repetición (8 kilogramos por cada metodología). La crema cruda se fermentó a temperatura de 25 °C durante 36 horas, momento en el cual se trasladó la crema fermentada a recipientes cerrados con capacidad de 1.8 litros, llenándolos a la mitad garantizando mayor superficie de contacto en el momento de agitación (asegurando que la crema golpee contra las paredes del recipiente durante la agitación).

Se bajó la temperatura de la crema cruda hasta 15 °C para obtener mayor rendimiento de crema cruda a mantequilla y posteriormente se agitó manualmente hasta que se observó una separación de fases entre la mantequilla y el suero de la mantequilla (5 minutos como promedio). Se procedió a calentar la mantequilla a fuego lento (la mantequilla suele encontrarse entre 15 -20 °C; se calienta hasta llegar a 99 °C, aunque el punto de ebullición de la mantequilla se alcanza a los 83°C), en este punto se comienza a remover la espuma

acumulada en la superficie hasta que la mantequilla derretida comienza a aclararse; al sobrepasar los 100 °C se comenzó a tomar el tiempo de cocción para los diferentes tratamientos (7, 10, 13 minutos) ya que en esta etapa se caramelizan los sólidos decantados.

Al finalizar el tiempo de cocción, el líquido previamente filtrado con una malla plástica fina de cocina, se envasó en los frascos de vidrio, dejando que se enfríen a temperatura ambiente (25 °C) por una hora y luego sellando los frascos y almacenándolos a temperatura ambiente durante 40 días, tomando datos el día de elaboración, a los 20 y a los 40 días. Se realizó el mismo procedimiento para el método de la mantequilla clarificada no fermentada exceptuando que la crema pasó directamente a ser agitada, no pasó por el proceso de fermentación.

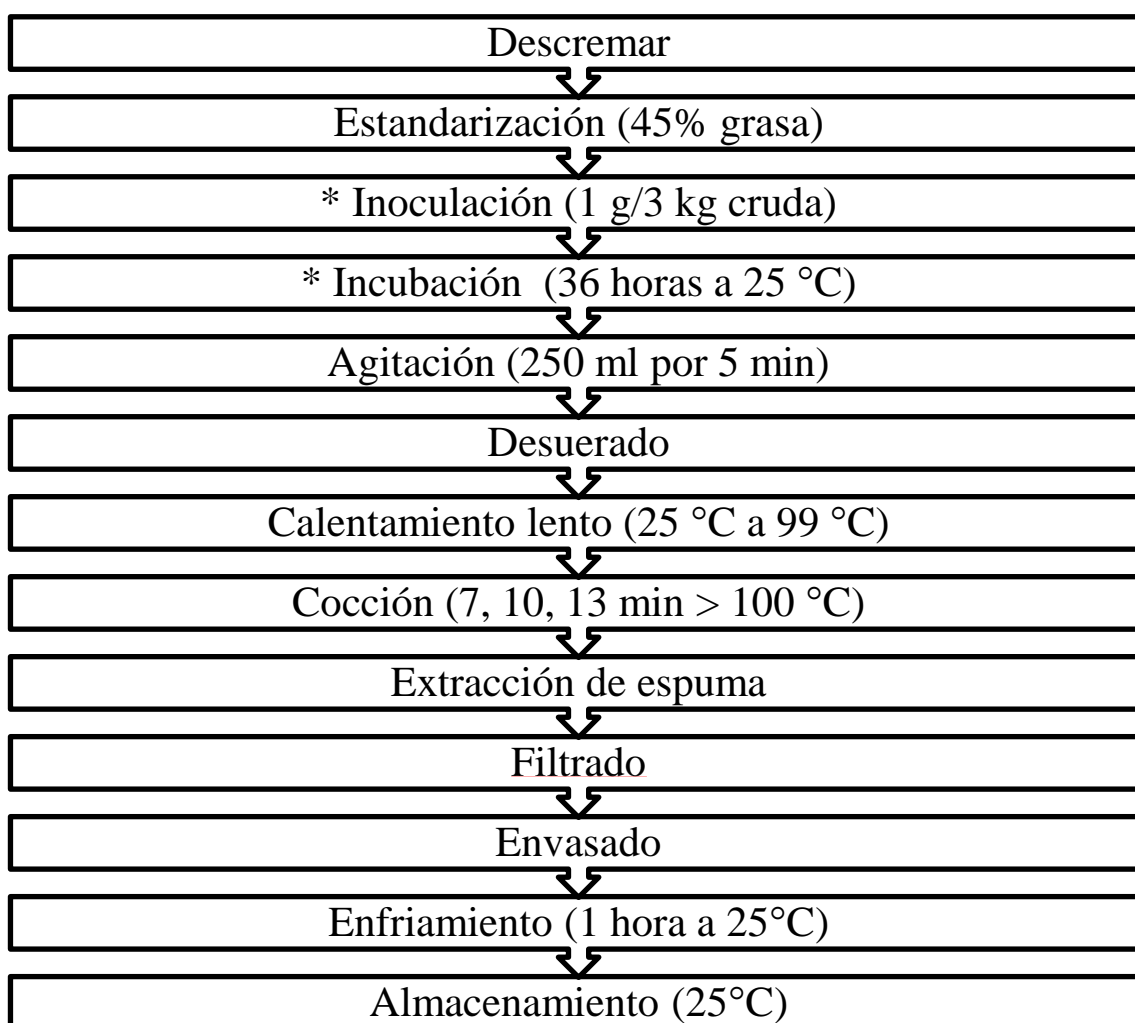


Figura 1. Flujo de procesos para elaboración de ghee por medio de método de crema directa (no fermentado) y desi ghee (método nativo o fermentado).

* Paso exclusivo al método nativo (fermentado)

Análisis físicos. Se analizó el color y consistencia para los seis tratamientos en los días 0, 20 y 40, y días 0 y 40, respectivamente; en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ).

Para el análisis de color se utilizó el colorímetro Colorflex HunterLab[®], determinando los valores L* a* b* para cada tratamiento, los cuales describen la coloración en un eje tridimensional. El valor L* cuantifica la claridad en una escala de 0-100, donde 0 corresponde a negro absoluto (oscuro) y 100 corresponde a blanco absoluto (claridad). El valor a* cuantifica el espectro de coloración verde al rojo, donde “-a” corresponde a verde y “+a” corresponde a rojo. El valor b* cuantifica para el espectro azul al amarillo, siendo “-b” azul y “+b” amarillo. Los valores obtenidos mediante el Colorflex Hunter Lab[®] fueron empleados para analizar el color de la mantequilla clarificada. Los valores a* y b* fueron consecuentemente convertidos a tono (color) y a croma (saturación) utilizando un programa estandarizado en Excel.

Para el análisis de consistencia se utilizó el consistómetro de Bostwick (ASTM F1080-93). Se tomó una muestra a temperatura ambiente para llenar la celda de carga a su capacidad máxima. Se registró la temperatura de la muestra en la celda, se libró la guillotina para hacer fluir la muestra. Se determinó el recorrido de la muestra en centímetros durante 30 segundos.

Análisis químicos. Los análisis se realizaron en la planta de lácteos Zamorano en los días 0, 20 y 40. Se determinó volumétricamente el contenido de grasa de la mantequilla clarificada mediante el método Babcock, expresado en porcentaje IS 3508 (1966) modificado para utilizar butirómetros calibrados hasta el 50% de grasa (se tomó la mitad de la muestra en uno de los butirómetros y se llenó la cantidad faltante con agua destilada. Se hizo este procedimiento 2 veces para sumar los dos porcentajes a 100%), en vez de butirómetros calibrados al 100% debido a la disponibilidad de los anteriores (BIS 1975).

Se realizaron análisis de acidez titulable expresada como ácido láctico (ATECAL) mediante el método utilizado para mantequilla (Nissen 1931) pero el cual fue modificado para pesar 9 g en 45 mL de agua calentada a 60 °C con 6 gotas (0.5 mL) de fenoltaleína, la cual fue usada como indicador. La bureta de titulación fue llenada con hidróxido de sodio NaOH al 0.1M y el nivel de éste en la bureta fue ajustado en la marca más alta (señalando 0). El NaOH fue agregado a la muestra con agitación continua hasta observar un color rosado pálido que persistía por más de 15 segundos. Se observó la marca más baja de NaOH en la bureta para calcular ATECAL; el cual se expresa en porcentaje de ácido láctico (Sadler & Murphy 2010)

$$\% \text{Ácido lactico} = \frac{\text{NaOH (mol/L)} \times \text{volumen de NaOH (mL)} \times 90 \text{ g/mol} \times 6}{\text{volumen de muestra (mL)} \times 10} \quad [1]$$

Se realizó el análisis de Actividad de agua (Aw) con el equipo Aqualab Series 3TE Decagon en una escala de 0 a 1, siendo 1 el más alto nivel de Actividad de agua; y el pH

se midió utilizando el potenciómetro Oyster™ previamente calibrado. Las mediciones se realizaron en una escala de 1 a 14, siendo 1 el más ácido, 7 neutro y 14 el más alcalino.

Análisis de rendimiento. Se calcularon dos rendimientos: crema cruda (fermentada y no fermentada) a mantequilla (fórmula 2) y mantequilla a ghee (fórmula 3). El rendimiento fue expresado en kilogramos de mantequilla clarificada producidos por kilogramo de mantequilla convencional. Los datos fueron tomados en el día 0 y todos los valores fueron convertidos a porcentaje.

$$\text{Rendimiento crema cruda a mantequilla} = \frac{\text{kilogramos de mantequilla}}{\text{kilogramos de crema cruda}} \times 100 \quad [2]$$

$$\text{Rendimiento mantequilla a ghee} = \frac{\text{kilogramos de ghee}}{\text{kilogramos de mantequilla}} \times 100 \quad [3]$$

Análisis de costos. Para los dos mejores tratamientos se efectuó un análisis considerando como costos variables de producción la materia prima empleada y la energía utilizada para elaborar la mantequilla clarificada.

Conteo microbiológico. La siembra para el conteo de mesófilos aerobios (RTCA 67.04.50:08) se realizó a los días 0, 20 y 40, almacenando los platos Petri a 35 ± 2 °C dentro de una incubadora. Se utilizó medio de crecimiento Agar Cuenta Estándar de Biomark™ Laboratories (23.5 g/1000 mL agua destilada) para la siembra, utilizando 15 ml del medio preparado para cada plato Petri utilizado. No se realizó diluciones de la muestra (siembra directa de muestra, dilución 10^0). Se realizó mediante técnica de vertido (pour plate) en el cual se depositó 1 mL de mantequilla calentada anteriormente a 40 °C para deshacer por completo su estructura y que esta pueda dispersarse uniformemente en los 15 mL de agar vaciados en placa; antes del vaciado, sin embargo, se deja que la mantequilla alcance los 35 °C. Para cada tratamiento la siembra se realizó por duplicado y el conteo se realizó a las 48 ± 2 h y se reportó en ufc/mL (Camacho *et al.* 2009).

Análisis sensorial de aceptación. El análisis que se realizó fue de aceptación utilizando una escala hedónica de nueve puntos, evaluando las características de Apariencia, Aroma, Sabor, Textura y Aceptación general. Se consideró el valor 1 como “me disgusta extremadamente” y 9 como “me gusta extremadamente” con el valor 5 como valor neutro (no me gusta ni me disgusta). Participaron 25 panelistas por repetición y por día (0, 20, 40 días), sumando un total de 225 panelistas no entrenados, escogidos al azar. El diseño experimental utilizado es un Bloque Completos al Azar; cada dato se analizó en el programa estadístico SAS versión 9.4, para determinar cuál fue tratamiento más aceptado con el uso de un análisis de varianza (ANDEVA) y la separación de medias DUNCAN.

Análisis Estadístico. El diseño experimental utilizado son Bloques Completos al Azar. Los datos recolectados fueron analizados en el programa estadísticos “Statistical Analysis

System” (SAS® Versión 9.3) mediante un análisis de varianza ANDEVA para determinar la diferencia entre los tratamientos y separación de medias LSMeans.

Diseño Experimental. Se evaluaron dos tipos de ghee (fermentado y no fermentado) y tres tiempos de cocción; de los cuales se realizaron tres repeticiones por tratamiento. El diseño experimental fue de Bloques Completos al Azar con arreglo factorial (2x3) y medidas repetidas en el tiempo (0, 20 y 40 días). La temperatura ambiental de almacenamiento fue de 25 °C.

Cuadro 1. Diseño Experimental.

Tiempo de cocción (minutos)	Mantequilla Ghee Fermentada	Mantequilla Ghee No Fermentada
7	T1	T2
10	T3	T4
13	T5	T6
Control	T7	

Tratamientos

- T1: F7. Ghee fermentado, tiempo de cocción de 7 minutos.
- T2: NF7. Ghee no fermentado, tiempo de cocción de 7 minutos.
- T3: F10. Ghee fermentado, tiempo de cocción de 10 minutos.
- T4: NF10. Ghee no fermentado, tiempo de cocción de 10 minutos.
- T5: F13. Ghee fermentado, tiempo de cocción de 13 minutos.
- T6: NF13. Ghee no fermentado, tiempo de cocción de 13 minutos.
- T7: Control. Mantequilla comercial sin sal.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Desarrollo de formulaciones. Inicialmente se pretendió evaluar la temperatura de cocción de 5, 10 y 15 minutos pero se determinó que la variabilidad sensorial entre los tres tratamientos era alta, especialmente porque al caramelizar los sólidos lácteos por 5 minutos la viscosidad de la mantequilla clarificada era muy baja (líquida e irregular), lo cual no es deseado ni esperado de la mantequilla clarificada ghee tradicional, que suele ser cremosa o grumosa; sin embargo, los otros dos tratamientos obtuvieron la textura deseada. Por lo tanto se decidió acortar el rango entre los tratamientos y aumentar la temperatura de éstos a 7, 10 y 13 minutos, los cuales fueron sensorialmente diferentes entre unos y otros (color, textura, sabor y olor).

Se observó que al tomar el tiempo de cocción desde el momento que la mantequilla líquida alcanzó la ebullición, lo cual sucedía a 83 °C, ocasionaba que parte importante del agua original proveniente de la mantequilla no fuera evaporada, lo cual creaba una mantequilla concentrada pero cuyas características no coincidían con la definición de ghee (se podía observar una clara separación de fases y de colores); además se obtuvo una actividad de agua por encima de 0.75 debido a la insuficiente remoción de agua, lo cual da lugar a mohos, levaduras y algunos tipos de hongos.

El punto de decantación de los sólidos lácteos acumulados en la superficie sucedía en tiempos y circunstancias diferentes (cantidad de suero residual en la mantequilla, espuma generada por fermentación, entre otros) así que no era un indicador estándar; además que no garantizaba la remoción casi total del agua contenida dentro de la mantequilla. Luego de varias pruebas preliminares se determinó que el mejor punto para comenzar la cuenta del tiempo de cocción era en el momento en el que la mantequilla sobrepasó los 100 °C debido a que en ese momento se garantizó la remoción total del agua contenida en la mantequilla; en este punto los sólidos lácteos ya se han decantado, por lo que el siguiente paso que se dió lugar fueron las reacciones de Maillard y caramelización; lo cual le dió su olor, color y textura característico al ghee y lo separó del aceite de mantequilla. No se agregó sal a ninguno de los tratamientos debido al perfil de sabores así como sus características químicas (pH bajo, baja actividad de agua, alto porcentaje de grasa), lo cual permitía que no hubiera crecimiento microbiológico ni enranciamiento acelerado; aunque es común la adición de sal y otros saborizantes a la mantequilla y sus derivados.

El tiempo de reposo luego del envasado fue sumamente importante en cuestión de actividad de agua y textura debido a que el enfriamiento lento del producto permitió la cristalización natural de los ácidos grasos. Es necesario que el ghee se enfríe sin tapadera para que el vapor que emite el producto durante el enfriamiento pase al aire y no se

condense dentro del envase; además el contacto con el aire promueve la cristalización y la formación de textura del ghee.

Para el filtrado se utilizaron coladores de fibra plástica fina para separar los sólidos lácteos caramelizados de la mantequilla clarificada. Los tratamientos realizados en las pruebas preliminares fueron almacenados durante 40 días. Durante este tiempo se monitorearon características físico químicas y sensoriales.

Se observó (figura 2) el comportamiento durante el calentamiento y cocción de ambas mantequillas. El punto de ebullición en común de la mantequilla es de 83 °C (a los 22-28 minutos de haber comenzado el calentamiento lento), luego se da una etapa en la cual la mantequilla oscila entre 85 y 98 °C durante aproximadamente 40-50 minutos momento en el cual se evaporó la mayor cantidad de agua dentro de la matriz de la mantequilla. En el momento en el que sobrepasó los 100 °C toda el agua ha sido removida de la matriz y los sólidos lácteos comenzaron el proceso de caramelización; en este punto se comenzó a tomar el tiempo de la cocción de la mantequilla. Se monitoreó el calentamiento de la mantequilla tomando la temperatura cada dos minutos, desde el momento que se depositó la mantequilla en la olla hasta el final de la cocción de ésta.

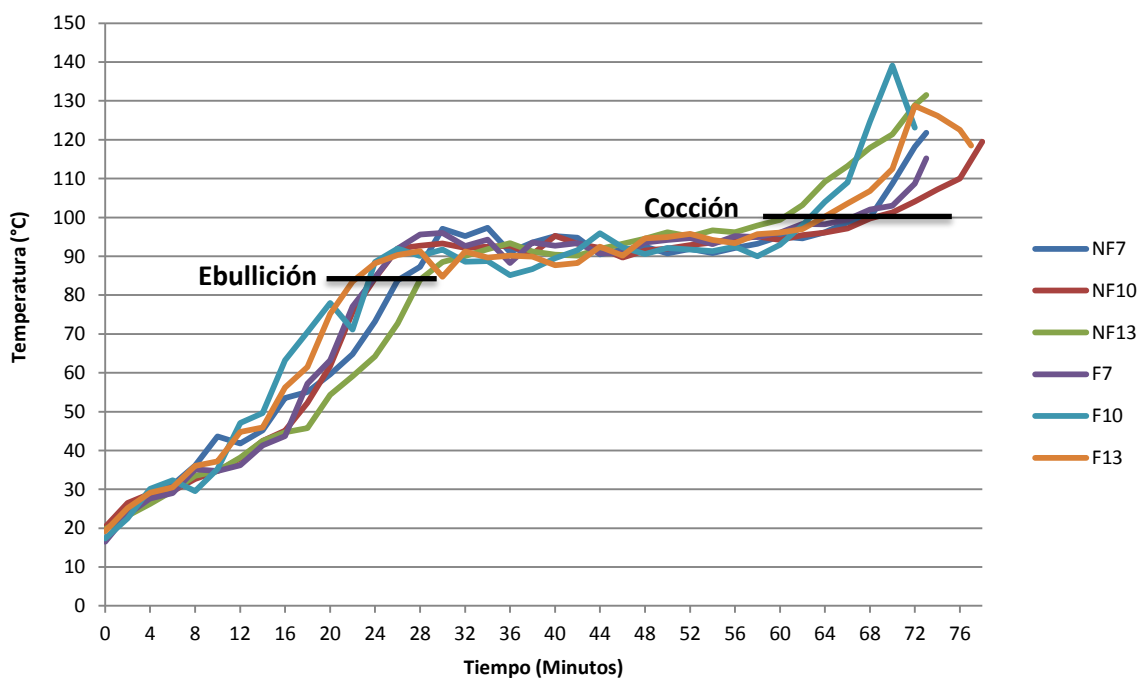


Figura 2. Análisis del comportamiento de la mantequilla durante el tiempo de calentamiento y cocción.

Análisis de Rendimiento. Los factores que influenciaron el tiempo de batido y la recuperación de la mantequilla de la crema fueron (O'Mahony 1988):

- **Acidez de la leche:** Leche que contiene al menos 0.6% de ácido láctico es más fácil de batir. Acidez más alta que 0.6% no influencia significativamente el tiempo de batido o la recuperación de grasa.
- **Temperatura:** La temperatura de la crema durante el batido fue de suma importancia y es el factor determinante en el rendimiento. Si se encuentra demasiado frío, la formación del gránulo de mantequilla es atrasado y el gránulo es pequeño y difícil de manipular o compactar. Si la temperatura es muy alta, el rendimiento de la mantequilla será muy baja, porque una gran proporción de la grasa permanecerá aun en la crema y la mantequilla formada será espumosa y de mala calidad. La crema debe de ser batida entre 10-12 °C en épocas calientes y de 14-17 °C en las épocas frías.
- **Grado de agitación:** La agitación acelerada reduce el tiempo de batido. Sin embargo, el proceso es dependiente de la temperatura y el batido a temperaturas arriba de 20 °C resulta en tiempos cortos de batido pero con rendimiento pobre de recuperación de grasa.
- **Llenado de recipiente de batido:** El recipiente debe de ser llenado a un tercio o a la mitad de su capacidad volumétrica máxima. Llenar más de la mitad de la capacidad volumétrica aumenta considerablemente el tiempo de batido pero no reduce el rendimiento o recuperación de grasa de la crema.

La eficiencia de batido es medida en términos del tiempo requerido para producir gránulos de mantequilla y por la cantidad grasa recuperada de la crema cruda inicial. La eficiencia es influenciada significativamente principalmente por la temperatura y en menor grado, la acidez de la crema o de la leche. (O'Mahony 1988).

En el cuadro 2 podemos observar que aunque hay un valor más alto en el rendimiento de crema cruda fermentada a mantequilla tradicional, los valores entre la crema cruda fermentada y no fermentada no son significativamente diferentes ($P=0.3114$), lo cual se demuestra también en el análisis del rendimiento de mantequilla a mantequilla clarificada (Cuadro 3). Por lo tanto se puede concluir que si se controlan el resto de variables (temperatura de agitación, llenado de recipiente y velocidad de agitación), entonces el rendimiento entre los dos métodos son estadísticamente similares a pesar que pueda obtenerse, en teoría, mayor rendimiento en el método de crema fermentada, el cual puede explicarse a que cuando se desdoblán y rompen las cadenas largas de ácidos grasos y los azúcares durante la fermentación se crea un mayor volumen de cadenas de compuestos orgánicos, pero de menor longitud (donde antes se encontraba un C18:0, por medio de la fermentación ahora se encuentran C6:0, C8:0, C4:0, por ejemplo), logrando así que haya mayor cantidad de sólidos que en la crema no fermentada, cuyos compuestos orgánicos no sufren un cambio significativo.

Cuadro 2. Rendimiento crema cruda a mantequilla tradicional.

Tratamientos	
F/NF	Rendimiento mantequilla
	Media(%)±DE ^β
F	64.46±4.460 ^a
NF	59.42±5.961 ^a
Coeficiente de variación (%)	
1.73	

(a, b) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

Se puede observar que hay una diferencia significativa entre el tiempo de cocción de 7 minutos y el resto de tiempos de cocción (10 y 13 minutos), mostrando que el mayor rendimiento lo obtuvo el tiempo de cocción de 7 minutos, sin importar si provenía de crema fermentada o no fermentada (Cuadro 3). Esto podría ocurrir debido a que aún se encuentran cierta cantidad de sólidos lácteos suspendidos en la matriz de grasa en ese tiempo de cocción, lo que aumentaría considerablemente el volumen de ghee al final de la cocción. En los otros tiempos de cocción hay más tiempo para la separación de fases por densidades, asegurándose que los sólidos lácteos se asienten en el fondo y se de reacción de Maillard por contacto directo al calor.

Cuadro 3. Rendimiento de mantequilla a ghee.

Tratamientos		
F/NF	Cocción (min)	Rendimiento Ghee
		Media(%)±DE ^β
F	7	82.85±6.90 ^a
F	10	79.17±3.86 ^b
F	13	79.70±4.90 ^b
NF	7	82.25±5.08 ^{ab}
NF	10	81.00±2.73 ^{ab}
NF	13	80.42±4.82 ^{ab}
Coeficiente de Variación (%)		5.86

(a, b) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

Análisis de Consistencia. Cuando se enfría por debajo de la temperatura de fundición, la fase sólida del ghee se encuentra bien definida y conformada por gránulos de diferente tamaño (Draft Indian Standard 2013). El ghee sufre cambios físico químicos durante el almacenamiento. La cristalización ocurre junto con la formación de capas sólida, semi sólida y líquida; ghee que ha sido almacenado en vidrio por debajo de 20 °C se solidifica uniformemente con cristales pequeños mientras que entre 20 y 30 °C la solidificación es

suelta y la formación de cristales es más grande, lo cual ha sido demostrado en el estudio de Ganguli y Jain (1973).

Se puede observar la clara diferencia estadística (Cuadro 4) entre los tratamientos según su temperatura de cocción ($P<0.0001$) y los días de toma de datos ($P<0.0001$). No se observó un efecto significativo entre repeticiones ($P=0.4748$), sin embargo si se observó diferencias entre métodos de preparación (fermentado y no fermentado) ($P=0.0014$) y la interacción entre métodos de preparación y tiempo de cocción ($P=0.0017$); así como las interacciones entre tiempo de cocción y días ($P<0.0001$); y fermentación, tiempo de cocción y días ($P<0.0001$).

El tratamiento que mostró el nivel de consistencia más alta (NF10) fue el tratamiento más preferido en dicho aspecto por los panelistas por su textura cremosa y sólida como se observará más adelante (Cuadro 15); debido a que se asemeja más a la mantequilla untable comercial. Es importante notar que los tratamientos (F7, NF7) son los tratamientos que tienen una menor consistencia que el resto de tratamientos; esto se debe a que mientras menor sea la temperatura de clarificación, menor el tamaño y el número de gránulos en el ghee; además, el método fermentado produce gránulos más grandes en comparación con el método no fermentativo (Dairy Technology 2014).

Cuadro 4. Efecto de tratamientos y tiempo en la consistencia del ghee*.

Tratamientos		Tiempo	
F/NF	Cocción (min)	Día 0	Día 40
		Media±DE ^β	Media±DE
F	7	22.60±1.03 ^{ab(x)}	19.60±0.52 ^{a(y)}
F	10	20.83±0.76 ^{b(x)}	11.26±1.16 ^{cd(y)}
F	13	23.06±1.06 ^{ab(x)}	17.56±0.40 ^{b(y)}
NF	7	22.80±1.25 ^{ab(x)}	19.43±1.20 ^{a(y)}
NF	10	22.06±0.90 ^{b(x)}	09.16±0.76 ^{d(y)}
NF	13	23.83±0.28 ^{a(x)}	10.53±1.28 ^{d(y)}
Coeficiente de Variación (%)		4.54	6.66

(a - d) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ($P<0.05$).

(x, y) Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes ($P<0.05$).

^βDE= Desviación estándar.

* Medido en cm/30 segundos.

Análisis de Color. Los resultados obtenidos de color en la mantequilla clarificada (Cuadro 5), mostraron que si existieron diferencias significativas para los valores L* por tratamiento, día y la interacción de ambos ($P<0.0001$). Esto indica que a lo largo del tiempo la luminosidad del producto aumenta, esto puede deberse a la formación de estructuras y su incremento de viscosidad, lo que hace que la mantequilla se vea “blanquecina” cuando sólida.

Cuadro 5. Análisis de color de ghee por L*.

Tratamientos		Tiempo		
F/NF	Cocción	Día 0	Día 20	Día 40
		Media±DE ^β	Media±DE	Media±DE
F	7	9.41±0.07 ^{b(z)}	31.04±0.48 ^{d(y)}	58.18±0.05 ^{a(x)}
F	10	8.00±0.09 ^{c(z)}	40.70±0.11 ^{c(y)}	54.09±0.15 ^{d(x)}
F	13	6.97±0.08 ^{d(z)}	46.71±0.15 ^{b(y)}	57.23±0.11 ^{b(x)}
NF	7	7.19±0.23 ^{d(z)}	51.74±0.11 ^{a(y)}	53.67±0.06 ^{e(x)}
NF	10	9.94±0.07 ^{a(z)}	51.86±0.11 ^{a(y)}	53.76±0.13 ^{e(x)}
NF	13	6.69±0.16 ^{e(z)}	46.88±0.13 ^{b(y)}	55.12±0.16 ^{c(x)}
C.V. (%) ^μ		1.82	0.42	0.22

(a - e) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).
(x, y) Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

^μC.V.= Coeficiente de variación

El cambio de color aparente en el ghee (intensificando el color amarillo característico de la mantequilla) se da al aumentar las temperaturas de post-clarificación o alargar los tiempos de cocción (Cuadro 6). Sin embargo hay varios factores que causan cambios en el color; tales como la acumulación de productos no volátiles o la oxidación de triacilgliceroles en el momento de cocción. Generalmente los aceites que entran en contacto con alguna molécula orgánica causa que ésta se friture y pase a ser un colorante microscópico dentro del aceite (Suwarat y Tungjaroenchai 2013), proceso que sucede durante la clarificación de la mantequilla al momento de la reacción de Maillard en los sólidos lácteos que se encontraron en el fondo. Los resultados obtenidos de color en la mantequilla clarificada mostraron que no existieron diferencias significativas para los valores de tono por tiempo de cocción (P=0.2734), pero si hubo diferencias significativas por día (P<0.0001) y en la interacción de tratamiento, tiempo de cocción y día (P=0.0373). Se puede observar que el color en el día cero el producto tiene un color más amarillo que en los días siguientes, esto se debe a que en el día 0 la mantequilla estaba recién elaborada y no había logrado formar su estructura por lo que aún se encontraba líquida. En cambio, en los días 20 y 40 se ha solidificado y sus promedios estadísticamente no fueron diferentes.

Cuadro 6. Análisis de color de ghee por tono.

Tratamientos		Tiempo		
F/NF	Cocción	Día 0	Día 20	Día 40
		Media±DE ^β	Media±DE	Media±DE
F	7	100.66± 3.78 ^{ab(x)}	89.66±0.57 ^{a(y)}	82.00±0.00 ^{e(z)}
F	10	102.66±10.06 ^{ab(x)}	88.33±0.57 ^{b(y)}	85.00±0.00 ^{b(y)}
F	13	105.33±3.21 ^{a(x)}	86.00±0.00 ^{c(y)}	85.00±0.00 ^{d(y)}
NF	7	103.00± 5.19 ^{ab(x)}	85.00±0.00 ^{d(y)}	86.00±0.00 ^{a(y)}
NF	10	105.66± 1.52 ^{a(x)}	86.00±0.00 ^{b(y)}	85.33±0.57 ^{a(y)}
NF	13	96.00± 5.29 ^{b(x)}	85.66±0.57 ^{c(y)}	85.33±0.57 ^{c(y)}
C.V. (%) ^μ		4.24	0.40	0.41

(a - d) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).
(x, y) Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

^μC.V.= Coeficiente de variación

Los resultados obtenidos de color en el ghee (Cuadro 7), mostraron que si existieron diferencias significativas para los valores de croma por tratamiento, tiempo de cocción, día y la interacción de todos ellos (P<0.0001). El croma o saturación mide que tan vivaz es un color; siendo el color puro el valor máximo y gris, cero. Se puede observar como a lo largo del tiempo el valor de croma aumenta, esto se puede deber a que en el día 0 el ghee aun no ha solidificado y por eso registra valores diferentes. En cambio, el ghee solidificado muestra valores significativamente diferentes a largo del tiempo, habiendo una diferencia entre día 0 y día 40.

Cuadro 7. Análisis de color de ghee por croma.

Tratamientos		Tiempo		
F/NF	Cocción	Día 0	Día 20	Día 40
		Media±DE ^β	Media±DE	Media±DE
F	7	2.76±0.11b(x)	14.40±0.49f(y)	28.20±1.97a(z)
F	10	1.64±0.43cd(x)	19.94±0.15e(y)	26.78±2.20b(z)
F	13	1.45±0.48d(x)	24.24±0.05d(y)	26.69±0.08b(z)
NF	7	3.27±0.18b(x)	27.08±0.09 ^a (y)	24.95±0.12c(z)
NF	10	3.81±0.18a(x)	26.03±0.05b(y)	25.24±0.61b(y)
NF	13	2.14±0.13c(x)	24.78±0.09c(y)	26.08±0.13b(z)
C.V. (%) ^μ		11.69	1.01	5.12

(a - f) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).
(x, y) Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

^μC.V.= Coeficiente de variación

Análisis de Grasa. El promedio de porcentaje de grasa del ghee permaneció en 99.8% sin cambio alguno a través del tiempo (P=0.2486) o de repeticiones (P=0.1064), lo que cumple con los estándares establecidos para ghee (Tamime 2009); tomando en cuenta que el producto fue almacenado en frascos de vidrio con tapadera de metal, lo cual es una barrera absoluta a la humedad y al oxígeno, lo cual explicó la falta de variabilidad con respecto al análisis de grasa a través del tiempo (Cuadro 8).

Cuadro 8. Análisis de grasa de ghee.

Tratamientos		
F/NF	Cocción (min)	Rendimiento Ghee
		Media(%)±DE ^β
F	7	100.00±0.00 ^a
F	10	100.00±0.00 ^a
F	13	100.00±0.00 ^a
NF	7	99.33±0.57 ^a
NF	10	99.66±0.28 ^a
NF	13	99.83±0.28 ^a
Coeficiente de Variación (%)		0.25

(a, b) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

Análisis de pH. Se puede observar que se encontraron diferencias entre los tratamientos y si fue fermentado o no (Cuadro 9). Esto se debió a que *Lactococcus lactis* es una bacteria homofermentativa que produce ácido láctico, lo que mostró claramente las diferencias entre la crema fermentada y no fermentada (P<0.0001).

Se observó que mientras más tiempo de cocción, más bajo el pH (P<0.0001); esto es causado por las altas temperaturas de fritura, la cual aumenta la concentración de ácidos grasos libres además de la hidrólisis de los ácidos grasos de cadena larga a cadena corta durante el proceso de cocción; la concentración también cambia durante el almacenamiento, mediante la oxidación e hidrólisis de las grasas. La grasa oxidada forma hidroperóxidos, ácidos conjugados dienóicos, hidróxidos, aldehídos, entre otros; los cuales pueden estar relacionados también al aumento de concentración de ácidos grasos libres; así como también puede ser el resultado de la producción de ácidos orgánicos como el ácido láctico producido por bacterias lácticas (Aysegul e Issa 2008).

A medida avanzó el tiempo (día 20 y 40) el pH de los tratamientos disminuyó (P<0.0001), es decir, se acidificó. Debido a la eliminación de *Lactococcus lactis* en el proceso de clarificación, la acidez posterior al tratamiento no provino del ácido láctico producido por estas bacterias, sino por los ácidos grasos libres entre otros compuestos formados en la autooxidación y fotooxidación (Suwarat y Tungjaroenchai 2013); no se consideró

contacto con oxígeno ni con metal debido a que la mantequilla se encontraba almacenada en botes de vidrios con tapa metálica recubierta con plástico.

No hubo diferencias significativas en las interacciones de método de preparación y tratamiento de cocción (P=0.0863) y la interacción de método de preparación, tiempo de cocción y día (P=0.8903).

Cuadro 9. Efecto de tratamientos y tiempo en pH del ghee.

Tratamientos		Tiempo		
F/NF	Cocción	Día 0	Día 20	Día 40
		Media±DE ^β	Media±DE	Media±DE
F	7	3.70±0.45 ^{c(x)}	3.40±0.14 ^{d(xy)}	3.40±0.30 ^{c(y)}
F	10	3.45±0.29 ^{c(x)}	3.25±0.10 ^{d(xy)}	3.18±0.21 ^{c(y)}
F	13	3.00±0.11 ^{c(x)}	2.97±0.14 ^{d(xy)}	2.82±0.32 ^{c(y)}
NF	7	6.54±0.05 ^{a(x)}	6.45±0.05 ^{a(xy)}	6.33±0.14 ^{a(y)}
NF	10	6.12±0.28 ^{ab(x)}	5.95±0.26 ^{b(xy)}	5.59±0.60 ^{b(y)}
NF	13	5.71±0.48 ^{ab(x)}	5.56±0.48 ^{c(xy)}	5.27±0.59 ^{b(y)}
C.V. (%) ^μ		6.89	4.25	5.27

(a - d) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).
(x, y) Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

^μC.V.= Coeficiente de variación.

Análisis de Actividad de Agua (Aw). Se puede observar que no hubo diferencias significativas entre métodos de elaboración (P=0.3152), tiempos de cocción (P=0.3807) o el tiempo de almacenamiento (P=0.3357) ni alguna de sus interacciones (P=0.4231). Esto puede explicarse debido a que las condiciones de almacenamiento fueron herméticas (envase de vidrio y metal) por lo que no hubo migración de humedad del ambiente al producto durante el tiempo almacenado (Cuadro 10). Entre tratamientos no hubo diferencias significativas debido a que todos éstos fueron sometidos a temperaturas por encima de los 100 °C lo que garantizó que el agua libre y el agua retenida fuese removida de la matriz oleosa. Los valores mostrados fueron los que la mantequilla químicamente es capaz de retener. Aunque si es cierto que hay ciertos tratamientos que tienen una diferencia significativa entre el resto, esto se puede explicar como fallo humano debido a que mientras más prolongado sea el tiempo de exposición de la muestra a la humedad del ambiente antes de ser analizada por el equipo de Aqualab, más humedad absorberá esta del ambiente, lo que puede dar lecturas diferentes a los datos esperados.

Cuadro 10. Efecto de tratamiento y tiempo en Actividad de agua en ghee.

Tratamientos		Tiempo		
F/NF	Cocción	Día 0	Día 20	Día 40
		Media±DE ^β	Media±DE	Media±DE
F	7	0.52±0.06 ^{bc(x)}	0.59±0.005 ^{a(x)}	0.55±0.01 ^{ab(x)}
F	10	0.51±0.06 ^{bc(x)}	0.57±0.019 ^{b(x)}	0.54±0.04 ^{bc(x)}
F	13	0.50±0.05 ^{c(x)}	0.55±0.015 ^{c(x)}	0.56±0.02 ^{a(x)}
NF	7	0.55±0.06 ^{a(x)}	0.53±0.001 ^{c(x)}	0.51±0.02 ^{d(x)}
NF	10	0.54±0.04 ^{ab(x)}	0.54±0.005 ^{c(x)}	0.54±0.02 ^{bc(x)}
NF	13	0.50±0.06 ^{c(x)}	0.58±0.007 ^{a(x)}	0.52±0.03 ^{cd(x)}
C.V. (%) ^μ		3.06	1.45	2.20

(a, b, c) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

(x, y) Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

^μC.V.= Coeficiente de variación.

Análisis de ATECAL. El proceso de elaboración de mantequilla es una actividad continua de bacterias o enzimas, en especial el método en el cual se fermenta con bacterias lácticas, por lo que la medida de su actividad, por medio de la producción de ácido láctico, es importante. Se puede observar (Cuadro 11) que no existió un aumento a través del tiempo (P=0.0004) debido a que se elimina todo microorganismo durante el proceso de clarificación y cocción, no hay bacterias ácido-lácticas que produzcan ácido láctico. Hay diferencias significativas entre método (fermentado y no fermentado) siendo el fermentado el que mayores valores de ATECAL obtuvo (P<0.0001); los valores de ATECAL anotados para el método no fermentativo proviene de la acidez inicial de la leche y la actividad natural de bacterias presentes dentro de la matriz láctea. También hubo una diferencia significativa (P<0.0001) en tiempo de cocción, lo que indica que el proceso de calentamiento descompone los compuestos lipídicos en ácidos (Suwarat y Tungjaroenchai 2013). En la interacción entre método y tiempo de cocción y día no hubo diferencias significativas (P=0.3751).

Tomando en cuenta que este es el porcentaje de ácido láctico presente en la totalidad de la muestra, todos los tratamientos superan el 0.2% de compuestos que no son ácidos grasos, que se encuentran en el ghee, lo que excede el límite máximo de los estándares de ghee. Esto puede suceder debido a que dentro de la grasa se encuentra no solamente triglicéridos, ácidos grasos libres y vitaminas liposolubles, sino que también un alto porcentaje de fosfolípidos que son liberados del complejo proteínico-fosfolípido durante el calentamiento arriba de los 120 °C (Unnikrishnan y Bhimasena 1977). Los fosfolípidos son emulsificantes por lo que podría unir compuestos hidrófilos tales como el ácido láctico, otros ácidos y algunas proteínas y hacer que estos se mezclen dentro del 99.8% de la matriz lipídica.

Cuadro 11. Efectos de los tratamientos en ATECAL del ghee expresado en porcentaje (%) de ácido láctico.

Tratamientos		Tiempo		
F/NF	Cocción (min)	Día 0	Día 20	Día 40
		Media(%)±DE	Media(%)±DE	Media(%)±DE
F	7	0.68±0.09c(x)	0.66±0.10b(x)	0.72±0.06b(x)
F	10	0.84±0.06b(x)	0.84±0.06a(x)	0.88±0.03a(x)
F	13	0.92±0.03a(x)	0.84±0.06a(y)	0.94±0.06a(x)
NF	7	0.34±0.03e(x)	0.36±0.00d(x)	0.40±0.03d(x)
NF	10	0.52±0.03d(x)	0.52±0.03c(x)	0.62±0.03c(y)
NF	13	0.64±0.06c(x)	0.64±0.06b(x)	0.68±0.06bc(x)
C.V. (%)		4.91	9.42	4.81

(a - d) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).
(x, y) Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

^μ C.V.= Coeficiente de variación.

Análisis de mesófilos aerobios. El conteo de mesófilos aerobios de los tratamientos demostró que todos cumplieron de ICAITI (Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial). Los conteos finales de todos los tratamientos en este estudio, en todas las fechas se encontraron en <1 UFC/mL que se encuentran muy por debajo del límite máximo de 1,000,000 ufc/mL para mantequillas (Revilla 2000).

La gran mayoría de los microorganismos requiere valores de actividad de agua muy altos para poder crecer. Las bacterias requieren por lo general $A_w > 0.90$, levaduras $A_w > 0.85$, hongos filamentosos $A_w > 0.80$, mohos y levaduras $A_w > 0.70$. Los microorganismos que pueden crecer en condiciones $A_w < 0.60$ se clasifican como halotolerantes, halófilos y xerófilos (UPNA s.f.).

Debido a la remoción total de agua de la matriz de la mantequilla, el promedio de actividad de agua es <0.60, además del tratamiento térmico extremo (arriba de 100 °C) al que se sometió durante un largo periodo de tiempo (de 7 a 13 minutos) garantiza la eliminación de bacterias. Si se mantiene la actividad de agua por debajo de <0.60 y tomando en cuenta el alto porcentaje de grasa (>99%) ningún organismo crecerá (aunque es posible que permanezca en latencia si es que se contamina pos-procesamiento).

La mantequilla puede portar los mismos microorganismos patógenos o de descomposición que posee la leche si no se maneja con la sanitización, los procedimientos estandarizados de operaciones y buenas prácticas de manufactura necesarios a este proceso; en especial es necesario asegurarse que la leche o crema utilizada se encuentre debidamente pasteurizada.

En diciembre de 2007 el Departamento de Salud Pública (DHP) alertó a los consumidores de no consumir ningún producto lácteo proveniente de Whittier Farms en Shrewsbury, Estados Unidos debido que se encontró contaminación por listeria, que contribuyó a la muerte de dos personas ese mismo año (Milfordailynews 2007)

Análisis Sensorial de Aceptación. Es importante notar que en los análisis realizados, todas las variables muestran una diferencia significativa entre panelistas (<0.0001). Esto se debe a que se eligió para este estudio a los panelistas de manera aleatoria y no fueron entrenados para reconocer las diferencias del producto.

Análisis Sensorial de Apariencia. En este análisis se puede observar que hay una diferencia significativa entre los días ($P=0.0025$) y en la interacción de tratamiento a lo largo del tiempo ($P=0.0188$). Hubo diferencias más que todo en el día 40, esto se debe a que esta variable está ligada al color y a la textura visual del producto (Cuadro 12). A lo largo del tiempo, el producto se vuelve de un amarillo brillante (en los primeros días, cuando no se ha formado una estructura clara y la mayor parte del medio se encuentra líquido) a un amarillo más claro, pero de tonos más opacos (esto se da en el día 40, cuando las estructuras físicas de la grasa se ha cristalizado). Por lo tanto, a lo largo del tiempo, el promedio de aceptación va bajando. Sin embargo, la temperatura de la mantequilla es crucial; debido a que mientras más líquida se encuentre la mantequilla, más intenso se verá su color, por lo que es necesario que para que no haya un sesgo en el reporte, se sirva la mantequilla a una temperatura estándar y además, el vehículo en el cual se extienda se encuentre a la misma temperatura que la mantequilla (en este caso, el pan, pero puede ser en galletas u otros carbohidratos sin saborizantes).

El tratamiento mejor evaluado aparte del control fue en el día 0 el ghee fermentado a 7 minutos (debido a su similitud con el control en cuestión de color) y el día 40 el tratamiento no fermentado de 7 y 10 minutos debido a su consistencia similar al control con respecto al resto de tratamientos.

Cuadro 12. Análisis de apariencia del ghee*.

Tratamientos		Tiempo		
F/NF	Cocción	Día 0	Día 20	Día 40
		Media±DE ^β	Media±DE	Media±DE
Control		5.82±2.00 ^{a(x)}	5.72±2.13 ^{a(x)}	5.65±1.96 ^{a(x)}
F	7	5.86±1.76 ^{a(x)}	5.64±1.97 ^{a(x)}	4.89±1.93 ^{bc(y)}
F	10	5.08±2.47 ^{b(y)}	5.70±1.79 ^{a(x)}	5.48±1.96 ^{ab(xy)}
F	13	5.58±1.96 ^{ab(x)}	5.66±2.17 ^{a(x)}	4.98±1.89 ^{bc(y)}
NF	7	5.66±2.05 ^{ab(x)}	5.69±1.95 ^{a(x)}	5.73±2.06 ^{a(x)}
NF	10	5.56±2.05 ^{ab(x)}	5.80±1.64 ^{a(x)}	5.81±1.95 ^{a(x)}
NF	13	5.54±2.00 ^{ab(x)}	5.76±1.82 ^{a(x)}	4.58±2.14 ^{c(y)}
Coeficiente de Variación (%)		36.21	31.05	36.84

(a - e) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

(x, y) Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

* Datos reportados según escala hedónica de 9 puntos, siendo 1 me desagrada mucho, 5 no me gusta ni me disgusta y 9 me agrada mucho.

Análisis Sensorial de Sabor. En este análisis se hallaron diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.0001), los días (P<0.0001) y la interacción de tratamientos por día (P=0.0027). Esto se debe que a lo largo del almacenamiento se van liberando compuestos como diacetil, ácidos grasos libres y otros productos que provienen de la autooxidación y fotooxidación natural del producto y también aquellos liberados por las temperaturas de cocción. Los ácidos grasos libres son comúnmente no deseados en productos lácteos debido a que las cadenas cortas de ácidos grasos son los principales responsables del desarrollo de sabores rancios (Suwarat y Tungjaroenchai 2013). Además del control, el tratamiento mejor evaluado en el día 20 fue el ghee fermentado con tiempo de cocción 10 y 13 minutos y el ghee no fermentado con tiempo de cocción de 13 minutos; sin embargo en el día 40 el tratamiento mejor aceptado fue el no fermentado de 10 minutos seguido por el de 7 minutos (Cuadro 13).

Cuadro 13. Análisis del sabor del ghee*.

Tratamientos		Tiempo		
F/NF	Cocción	Día 0	Día 20	Día 40
		Media±DE ^β	Media±DE	Media±DE
Control		6.29±1.76 ^{a(x)}	6.37±1.69 ^{a(x)}	6.24±1.85 ^{a(x)}
F	7	5.36±1.99 ^{b(xy)}	5.68±2.05 ^{b(x)}	4.94±1.95 ^{b(y)}
F	10	4.92±2.12 ^{b(y)}	5.90±1.87 ^{ab(x)}	5.36±1.92 ^{b(xy)}
F	13	5.38±2.21 ^{b(xy)}	5.96±2.10 ^{ab(x)}	5.09±2.10 ^{b(y)}
NF	7	5.16±2.13 ^{b(x)}	5.72±1.96 ^{b(x)}	5.49±1.94 ^{ab(x)}
NF	10	5.25±1.95 ^{b(y)}	5.57±2.08 ^{b(xy)}	6.01±1.94 ^{a(x)}
NF	13	5.12±2.01 ^{b(y)}	5.97±1.92 ^{ab(x)}	4.45±2.06 ^{b(z)}
Coeficiente de Variación (%)		34.933	31.380	35.117

(a, b) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

(x, y, z) Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

* Datos reportados según escala hedónica de 9 puntos, siendo 1 me desagrada mucho, 5 no me gusta ni me disgusta y 9 me agrada mucho.

Análisis Sensorial de Aroma. El sabor y aroma de los productos lácteos en general, está determinado por un gran número de compuestos, pudiendo clasificarse en volátiles o no volátiles. Son los últimos los que contribuyen al sabor del lácteo, mientras que los volátiles son los que le proporcionan el aroma. Entre estos compuestos volátiles tenemos a los alcoholes, aldehídos, ésteres, cetonas, lactonas, y por supuesto los ácidos grasos libres de cadena corta y mediana (Urbach 1997). Según lo establecido anteriormente por Aysegul e Issa (2008), los ácidos grasos volátiles se generan durante el almacenamiento a lo largo debido a la oxidación de grasas lo cual coincide con el análisis (P=0.0319); sin embargo, en comparación, la producción de ácido láctico durante la fermentación y además de la temperatura de cocción son los que generan la mayor cantidad de ácidos grasos libres. Por lo tanto se puede establecer que a mayor tiempo de almacenamiento y mayor tiempo de cocción (P=0.0080) se puede percibir un aroma más fuerte (rancio), lo cual baja los valores de aceptación (especialmente en el día 40). Además del control de mantequilla el tratamiento más aceptado fue el no fermentado de 10 minutos en el día 40. En los días anteriores no se encontró diferencias significativas entre tratamiento (Cuadro 14).

Cuadro 14. Análisis del aroma del ghee*.

Tratamientos		Tiempo		
F/NF	Cocción	Día 0	Día 20	Día 40
		Media±DE ^β	Media±DE	Media±DE
Control		6.04±1.89 ^{a(x)}	6.06±1.95 ^{a(x)}	5.94±1.97 ^{ab(x)}
F	7	5.78±1.99 ^{a(x)}	5.72±1.80 ^{a(x)}	5.50±1.65 ^{b(x)}
F	10	5.88±2.19 ^{a(x)}	6.06±1.71 ^{a(x)}	5.72±1.84 ^{b(x)}
F	13	6.13±2.38 ^{a(x)}	5.88±2.12 ^{a(xy)}	5.46±1.69 ^{b(y)}
NF	7	5.72±2.15 ^{a(x)}	5.94±1.77 ^{a(x)}	5.70±1.94 ^{b(x)}
NF	10	6.09±1.86 ^{a(xy)}	5.70±1.92 ^{a(y)}	6.49±1.54 ^{a(x)}
NF	13	5.93±2.13 ^{a(x)}	6.09±1.85 ^{a(x)}	4.82±2.08 ^{c(x)}
Coeficiente de Variación (%)		33.083	31.441	32.703

(a, b, c) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

(x, y) Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

* Datos reportados según escala hedónica de 9 puntos, siendo 1 me desagrada mucho, 5 no me gusta ni me disgusta y 9 me agrada mucho.

Análisis Sensorial de Consistencia. Según lo anteriormente discutido en el análisis físico de consistencia (Cuadro 4), los tratamientos térmicos y fermentación influyen directamente en el tamaño y cantidad de gránulos de grasa cristalizado (P<0.0001); además que la interacción entre los días y los tratamientos son significativamente diferentes (P<0.0001). Sin embargo si se toma en cuenta solamente los días, en general los panelistas no distinguieron diferencias (P=0.1131), esto se puede deber a que se utilizaron personas al azar para evaluar las muestras, por lo cual las personas no llevaron seguimiento del desarrollo de la textura a través del tiempo. Los tratamientos mejor evaluados además del control, fueron en el día 40, el ghee no fermentado durante 10 minutos debido a que según el análisis físico, este tratamiento fue el que tuvo una mayor consistencia lo que lo asemejaba más al control (Cuadro 15).

Cuadro 15. Análisis de la consistencia del ghee*.

Tratamientos		Tiempo		
F/NF	Cocción	Día 0	Día 20	Día 40
		Media±DE ^β	Media±DE	Media±DE
Control		6.57±1.67 ^{a(x)}	6.61±1.46 ^{a(x)}	6.65±1.56 ^{a(x)}
F	7	5.56±1.96 ^{b(x)}	5.20±1.88 ^{b(xy)}	4.64±2.03 ^{b(y)}
F	10	5.21±2.08 ^{b(x)}	5.58±2.07 ^{b(x)}	5.72±2.10 ^{de(x)}
F	13	5.72±2.08 ^{b(x)}	5.30±2.19 ^{b(x)}	5.02±2.14 ^{de(x)}
NF	7	5.36±2.10 ^{b(x)}	5.16±2.07 ^{b(x)}	5.10±2.14 ^{cd(x)}
NF	10	5.52±1.91 ^{b(y)}	5.25±1.77 ^{b(y)}	6.30±1.78 ^{ab(x)}
NF	13	5.65±1.92 ^{b(x)}	5.36±2.10 ^{b(x)}	4.45±2.29 ^{e(y)}
Coeficiente de Variación (%)		33.294	32.383	36.176

(a - e) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

(x, y) Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

* Datos reportados según escala hedónica de 9 puntos, siendo 1 me desagrada mucho, 5 no me gusta ni me disgusta y 9 me agrada mucho.

Análisis Sensorial de Aceptación General Como se puede observar hay diferencias significativas entre tratamientos (P<0.0001), días (P=0,0028) y la interacción de estas dos variables (P<0.0001). El control fue el mejor evaluado, sin embargo en el día 40 los panelistas prefirieron el tratamiento no fermentado por 10 minutos (Cuadro 16).

Cuadro 16. Análisis de aceptación general del ghee*.

Tratamientos		Tiempo		
F/NF	Cocción	Día 0	Día 20	Día 40
		Media±DE ^β	Media±DE	Media±DE
Control		6.50±1.48 ^{a(x)}	6.36±1.38 ^{a(x)}	6.53±1.49 ^{a(x)}
F	7	5.96±1.87 ^{ab(x)}	5.73±1.89 ^{b(x)}	5.46±1.62 ^{b(x)}
F	10	5.52±1.91 ^{b(x)}	6.04±1.85 ^{ab(x)}	5.58±1.73 ^{b(x)}
F	13	5.84±2.02 ^{b(xy)}	6.18±2.03 ^{ab(x)}	5.61±1.68 ^{b(y)}
NF	7	5.54±2.03 ^{b(x)}	5.96±1.84 ^{ab(x)}	5.56±1.89 ^{b(x)}
NF	10	5.81±1.82 ^{b(y)}	5.84±1.86 ^{ab(y)}	6.46±1.43 ^{a(x)}
NF	13	5.68±1.85 ^{b(y)}	6.28±1.75 ^{ab(x)}	4.60±2.00 ^{c(z)}
Coeficiente de Variación (%)		29.223	28.454	29.529

(a, b, c) Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05).

(x, y) Medias con diferente letra en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

^βDE= Desviación estándar.

* Datos reportados según escala hedónica de 9 puntos, siendo 1 me desagrada mucho, 5 no me gusta ni me disgusta y 9 me agrada mucho.

Análisis de Aceptación Acumulado. En este análisis se encontró diferencias significativas entre tratamiento ($P < 0.0001$) y a lo largo de los días ($P = 0.0031$). Como se puede observar en la figura 3 se muestra que únicamente el control fue el mejor aceptado entre los tratamientos.

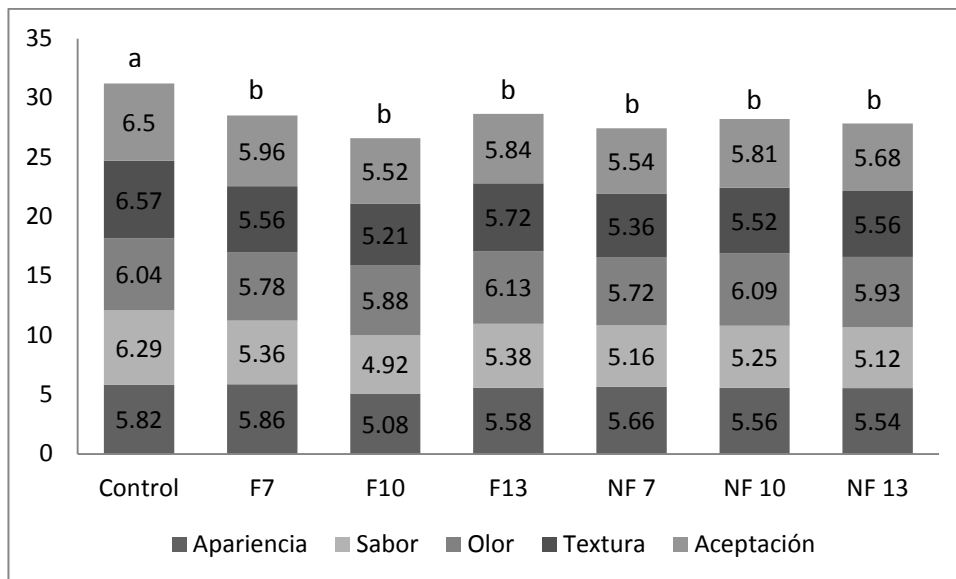


Figura 3. Análisis de Aceptación Acumulado día 0.

Se puede observar que en el día 20 hay una mayor aceptación del control, seguidamente además de los tratamientos fermentados de 10 minutos y 13 minutos y el no fermentado de 13 minutos (figura 4).

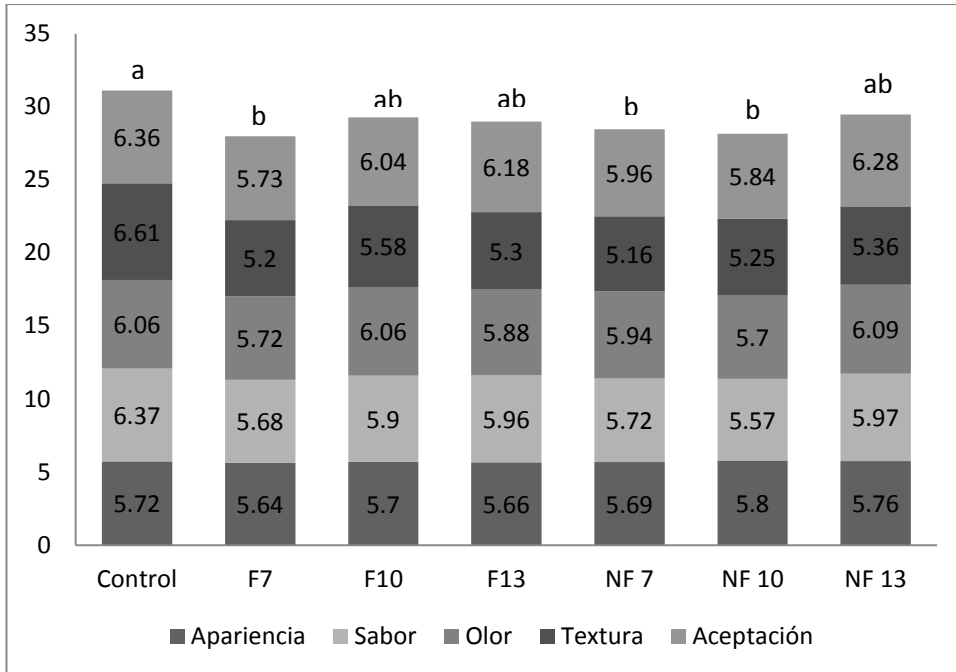


Figura 4. Análisis de Aceptación Acumulado día 20.

Se puede observar que en el día 40 hubo una mayor aceptación del control y del tratamiento no fermentado de 10 minutos (Cuadro 5).

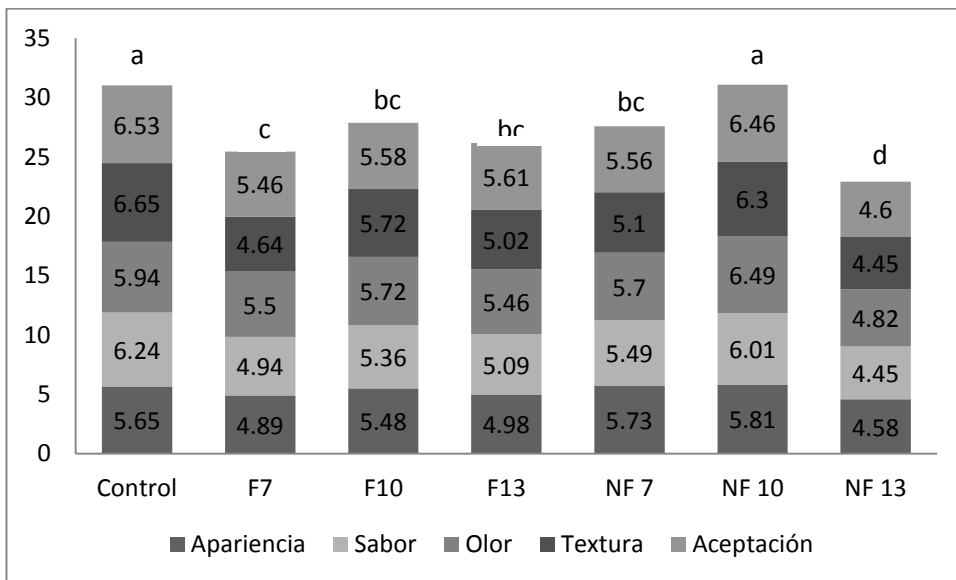


Figura 5. Análisis de Aceptación Acumulada día 40.

Se puede observar que en el promedio final entre los días, hay una igual aceptación de todos los tratamientos excepto del tratamiento no fermentado de 13 minutos.

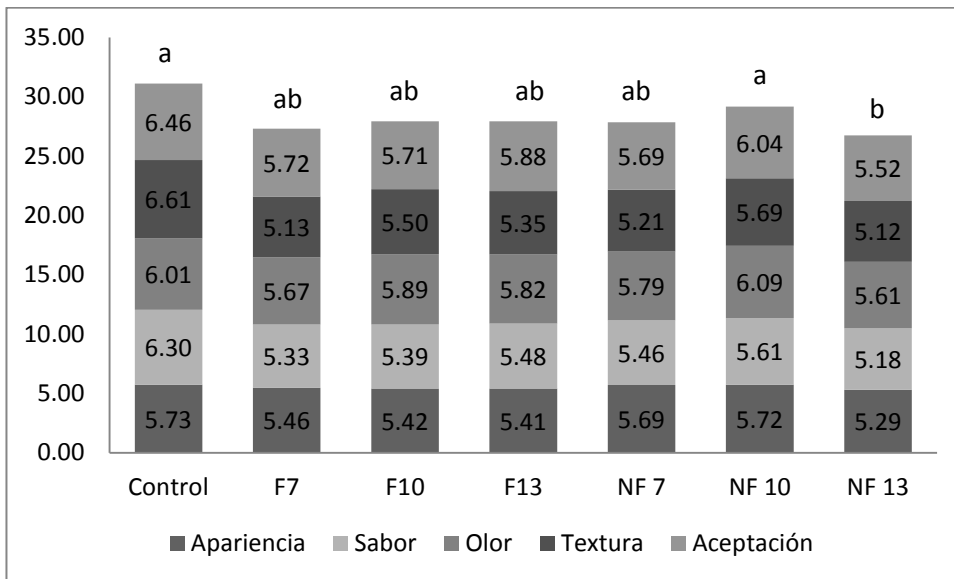


Figura 6. Análisis de Aceptación Acumulada promedio.

Correlación análisis físico-químicos. Como se puede observar en el cuadro 17, hay una clara y alta correlación entre el día y los parámetros de color (L^* a^* b^*) (0.93) indicando que a mayor cantidad de días, mayor valores de luminosidad, rojo y amarillo se registran; también se encuentra una correlación negativa significativa entre día y consistencia (-0.70) significando que mientras más días pasen, menos centímetros recorrerá el producto en el consistómetro, en otras palabras, mayor consistencia tendrá. También hay una correlación negativa (-0.72) pero significativa entre los parámetros de color y la consistencia, significando que a menores valores de parámetros de color, mayor consistencia tendrá el producto. Hay una correlación negativa significativa (-0.89) entre pH y ATECAL indicando que a menor pH mayor cantidad de ATECAL en el producto.

Cuadro 17. Correlación de análisis físico-químicos del ghee.

	Día	L*	a*	b*	pH	Aw	ATEC	Consist
Día	1.000	0.9978 <0.0001	0.9331 <0.0001	0.9948 <0.0001	-0.1038 0.5527	0.2393 0.1662	0.1376 0.4303	-0.7095 <0.0001
L*	0.9978 <0.0001	1.000	0.9422 <0.0001	0.9981 <0.0001	-0.1005 0.5656	0.2168 0.2109	0.1490 0.3927	-0.7204 <0.0001
a*	0.9331 <0.001	0.9422 <0.0001	1.000	0.9501 <0.0001	-0.108 0.5366	0.23022 0.1834	0.1674 0.3364	-0.7308 <0.0001
b*	0.9948 <0.0001	0.9981 <0.0001	0.9501 <0.0001	1.000	-0.1029 0.5564	0.1828 0.2931	0.1501 0.3892	-0.7250 <0.0001
pH	-0.1038 0.5527	-0.1005 0.5656	-0.1080 0.5366	-0.1029 0.5564	1.000	-0.016 0.9269	-0.8993 <0.0001	0.2304 0.1829
Aw	0.2393 0.1662	0.2168 0.2109	0.2302 0.1834	0.1828 0.2931	-0.0160 0.9269	1.000	0.0293 0.8669	-0.2367 0.1708
ATECAL	0.1376 0.4303	0.1490 0.3927	0.1674 0.3364	0.1501 0.3892	-0.8993 <0.0001	0.0293 0.8669	1.000	-0.2953 0.085
Consist	-0.7095 <0.0001	-0.7204 <0.0001	-0.7308 <0.0001	-0.7250 <0.0001	0.2304 0.1829	-0.2367 0.1708	-0.2953 0.0850	1.000

Correlación variables análisis sensorial. Como se puede observar en el cuadro 18, hay diferencias entre todas las variables ($P < 0.0001$) pero en cuestión de correlación significativa, podemos observar que las variables que más influyen en la aceptación del producto es el sabor (0.78) y el aroma (0.72). Esto indica que para los consumidores, lo más importante para aceptar una mantequilla es el sabor y el aroma; la textura (con correlación de 0.69), influye medianamente en la aceptación; pero debido a la diferenciación de capas sólidas y líquidas que se forman naturalmente en el producto, además de la variación de la temperatura del pan utilizado como medio a lo largo del estudio puede haber afectado la percepción del consumidor (Cuadro 18).

Cuadro 18. Correlación de variables de análisis sensorial del ghee.

	Apariencia	Sabor	Aroma	Aceptación	Textura
Apariencia	1.000	0.5463 <0.0001	0.4921 <0.0001	0.6164 <0.0001	0.6319 <0.0001
Sabor	0.5463 <0.0001	1.000	0.6071 <0.0001	0.7851 <0.0001	0.611 <0.0001
Aroma	0.4921 <0.0001	0.6071 <0.0001	1.000	0.7237 <0.0001	0.5169 <0.0001
Aceptación	0.6164 <0.0001	0.7851 <0.0001	0.7237 <0.0001	1.000	0.6984 <0.0001
Textura	0.6319 <0.0001	0.6110 <0.0001	0.51698 <0.0001	0.6984 <0.0001	1.000

Análisis Económico. El análisis económico realizado fue a base de costos variables o insumos. No se tomó en cuenta costos fijos como energía eléctrica, mano de obra, agua, entre otros ya que estos tienden a variar mucho de un lugar a otro, dependiendo donde la mantequilla sea elaborada. Los costos presentados son valores base para la elaboración de este tipo de producto en la planta de lácteos de Zamorano o cualquier otra entidad que desee elaborarlo bajo condiciones similares.

Para elaborar 1 kg de ghee fermentado son necesarios 1.95 kg de crema al 45% de grasa (tomando en cuenta los rendimientos de crema a mantequilla fermentada y de esta mantequilla a ghee). El costo de elaboración de 1 kg de ghee fermentado es de 71.780 lempiras (Cuadro 19).

Cuadro 19. Costo de elaboración de 1 kg de ghee fermentado.

Material	Precio (Lempiras)	Presentación	Cantidad	Total (Lempiras)
Crema al 45%	40	1.0 Kg	1.9500 kg	78.00
Cultivo láctico	303	0.2 Kg/bolsa	0.0003 kg	00.09
Total				78.09

Sin embargo, el costo unitario de este producto, tomando en cuenta que cada frasco de vidrio de 550 g cuesta 13.35 lempiras y el promedio que cada frasco puede contener es 0.6 kg, es de 61.35 lempiras por cada frasco de producto (Cuadro 20).

Cuadro 20. Costo unitario de ghee fermentado.

Material	Precio (Lempiras)	Presentación	Cantidad	Total (Lempiras)
Ghee	78.09	1 kg	0.6 kg	46.85
Frasco (vidrio)	13.35	1 frasco	1 frasco	13.35
Total				60.20

Para elaborar 1 kg de ghee sin fermentar son necesarios 2.04 kg de crema (tomando en cuenta los rendimientos de leche a mantequilla y de esta mantequilla a ghee) (Cuadro 21).

Cuadro 21. Costo de elaboración de 1 kg de ghee sin fermentar.

Material	Precio (Lempiras)	Presentación	Cantidad (Kg)	Total (Lempiras)
Crema al 45%	40	1 Kg	2.04	81.6
Total				81.6

Sin embargo, el costo unitario de este producto, tomando en cuenta que cada frasco de vidrio de 550 gramos cuesta 13.35 lempiras y el promedio que cada frasco puede contener es 0.6 kg, es de 25.59 lempiras por cada frasco de producto (Cuadro 22).

Cuadro 22. Costo de unitario de ghee sin fermentar.

Material	Precio (Lempiras)	Presentación	Cantidad	Total (Lempiras)
Ghee	81.60	1 kg	0.6 kg	48.96
Frasco de vidrio	13.35	1 frasco	1 frasco	13.35
Total				62.32

4. CONCLUSIONES

- Hubo diferencias físico-químicas significativas entre cada tratamiento, habiendo diferencia entre método fermentativo y el método no fermentativo; en especial en los análisis de pH y ATECAL. Los tiempos de cocción fueron las variables más determinantes en parámetros de color, consistencia y percepción sensorial. Microbiológicamente todos los tratamientos son estables a temperatura ambiente; la actividad de agua y el porcentaje de grasa no varían ni por tratamiento ni a lo largo del tiempo.
- Los tratamientos mejor evaluados por los estudiantes por medio del análisis de aceptación acumulado en el día 0 se concluyó que el control fue el mejor evaluado; en el día 20 hay una mayor aceptación del control y además el tratamiento fermentado de 10 y 13 minutos y no fermentado de 13 minutos; y en el día 40 hubo una mayor aceptación del control y del tratamiento no fermentado de 10 minutos. Finalmente en el promedio entre los días, la aceptación es igual para todos los tratamientos excepto el ghee no fermentado de 13 minutos.
- En cuestión de costos, es más factible elaborar ghee fermentado; sin embargo debido a logística y procesamiento se debe de considerar también el ghee no fermentado.

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar tiempo y condiciones ideales para producir una mantequilla clarificada cremosa; y de sabor, color y aroma aceptados por la población.
- Realizar un análisis sensorial con panel entrenado para poder diferenciar sin mucha variación o sesgo las características del ghee producido.
- Realizar análisis proximal a los mejores tratamientos para establecer las características nutricionales de los mismos.
- Evaluar la aceptación de la mantequilla clarificada con diferentes concentraciones de sal.
- Realizar análisis económicos detallados para establecer la factibilidad de producir mantequilla clarificada en la planta de lácteos Zamorano.

6. LITERATURA CITADA

Aysegul K. y J. Issa, 2008. Some chemical and microbiological properties of ghee. produced in Eastern Anatolia, J. Dairy Technology, vol. 61, pp. 300-306.

Bureau of Indian Standards, 1975. Methods of Sampling and Test for Ghee (Butterfat), Fourth reprint, August 1990. New Delhi, India.

Camacho, A., M. Giles, A. Ortegón, M. Palao, B. Serrano y O. Velázquez. 2009. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México.

Cant P.A.E., K.R. Palfreyman, G.D. Boston and A.K.H MacGibbon, 2008. Milkfat products, III-Dairy-B-Milkfat. New Zealand Institute of Chemistry (NZIC). New Zealand.

Dairy Technology 2014. Market Quality of Ghee (en línea). Consultado el 3 de noviembre 2014. Disponible en: <http://dairy-technology.blogspot.com/2014/01/market-quality-of-ghee-and-regional.html>.

Draft Indian Standard, 2013. Ghee specification ICS No. 67.100.01; 67.100.10; 67.100.99. Doc No.: FAD 19 (2569) C.

Dhurvey Y.R., Kawtikwar P.S., Sakarkar D.M. 2012. Evaluation of Physicochemical Properties of Cow Ghee before and after Hydrogenation. Sudhakar Rao Naik Institute of Pharmacy. International Journal of ChemTech Research. Yavatmal, India.

Englesby, J. 2010. Historical Highlights from the DeForest Area Historical Society (en línea). Consultado el 28 de octubre del 2014. Disponible en: <http://www.deforesthistory.org/TT%20Article%209%2002%2010.pdf> Wisconsin, United States of America.

FAO. Corporate Document Repository. The technology of traditional milk products in developing countries. Available at: <http://www.fao.org/docrep/003/t0251e/t0251e15.htm>.

Ganguli C. and M. K. Jain. 1973. Ghee: It's Chemistry, Processing and Technology. Journal Of Dairy Science Vol. 56, No. 1. National Dairy Research Institute, Karnal, India,

Gösta Bylund. 2003. Manual de las Industrias Lácteas. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 234 p.

Hailu, Simon. 2012. Evaluation of Ghee processing methods on shelf stability and yield. Addis Ababa University Institute of Technology. Ethiopia. Tesis Ing. Disponible en: <http://etd.aau.edu.et/dspace/bitstream/123456789/3579/1/Simon%20hailu.pdf>.

Illingworth, D., G. R. Patil & A. Y Tamime. 2009. Anhydrous Milk Fat Manufacture and Fractionation. In A. Y. Tamime, Dairy Fats and Related Products (pp. 108 - 157). Chichester: John Wiley & Sons Ltd.

Institute for Dynamic Educational Advancement (en línea). Consultado el 5 de junio de 2014. Disponible en: <http://www.webexhibits.org/butter/clarified.html>.

Lebenswert-leben. Ghee – The Gold of Ayurvedic Medicine (En línea) Disponible en: <http://www.lebenswert-leben.com/en/wissenswertes/mittel-fuers-leben/ghee.html>.

Milford Daily News December 27, 2007. Recuperado 11 de noviembre 2014: "The Department of Public Health (DPH) has issued a warning to consumers not to drink any milk products from Whittier Farms in Shrewsbury because of listeria bacteria contamination, which has contributed to the death of two people".

Nissen, B.H. 1931. The pH of Butter and Its Relation to Titratable Acidity. Ind. Eng. Chem. Analytical Edition, Vol. 3, No. 4. Page 374-376. DOI: 10.1021/ac50076a018 Chicago, Illinois.

O'Mahony, F. 1988. Rural dairy technology Experiences in Ethiopia. ILCA Manual No. 4. Addis Ababa, Ethiopia: International Livestock Centre for Africa.

Revilla, A. 2000. Tecnología de la Leche. 3 ed. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Sadler, G. D. & P. A Murphy. (2010). pH and Titratable Acidity. In S. S. Nielsen, Food Analysis (pp. 219 - 234). New York: Springer Science+Business Media, LLC.

Stanley, G. 1998. Microbiología de los productos lácteos fermentados. En: R. Early; Tecnología de los productos lácteos. Segunda edición. Editorial Acirbia Zaragoza-España.

Suwarat N. y W. Tungjaroenchai. 2013. Characteristic of Ghees obtained from different post-clarification temperatures. International Journal Of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics, Vol. 3, No. 4. 332-334 p.

Tamime, A. Y. 2009 Dairy Fats and Related Products. Society of Dairy Technology. Ed. Blackwell Publishing. Oxford, United Kingdom.

Unnikrishnan V. y M. Bhimasena. 1977. Copper and Iron in Ghee and their Influence on Oxidative Deterioration. Journal of Food Science and Technology, Vol.14, No.4. p 164-169. National Dairy Research Institute, Bangalore, India.

Urbach G. 1997. The flavour of milk and dairy products: Cheese contribution of volatile compounds. *International Dairy Journal* 50: 79-89.

USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 20 (2007).

Universidad Pública de Navarra (UPNA). Microbiología Clínica, Tema 2 (en línea). Consultado el 3 de octubre del 2014. Disponible en: <http://www.unavarra.es/genmic/microclinica/tema02.pdf>.

World's healthiest foods. What are the advantages and disadvantages of butter and ghee when it comes to cooking? Consultado septiembre 2013. Disponible en: <http://www.whfoods.org/genpage.php?tname=newtip&dbid=9>.

Wisconsin Milk Marketing Board, Inc. 2013. Wisconsin, United States. Consultado septiembre, 2013. Disponible en: http://www.agroalimentacion.coop/catalogo/lacteos_hablamos_de.

7. ANEXOS

Boleta de respuestas. Prueba hedónica de aceptación

Nombre: _____

Instrucciones: Pruebe las muestras de izquierda a derecha, en el orden que se le presenten. Evalúe la apariencia antes de probar cada muestra. Marque con una X el cuadrado indicando su grado de aceptación.

Muestra _____

	Me disgusta extremadamente				ng/nd				Me gusta extremadamente
Apariencia	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9
Sabor	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9
Aroma	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9
Aceptación General	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9
Textura	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9

Muestra _____

	Me disgusta extremadamente				ng/nd				Me gusta extremadamente
Apariencia	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9
Sabor	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9
Aroma	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9
Aceptación General	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9
Textura	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> 9

Anexo 1. Hoja de evaluación sensorial usada en análisis de aceptación.