

**Evaluación de nisina y grasa en el crecimiento
microbiano y propiedades físico-químicas de
una bebida láctea con sabor a mango
(*Mangifera indica*)**

**Raúl Andrés Alfaro Leiva
Erick Augusto Chang de León**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Evaluación de nisina y grasa en el crecimiento
microbiano y propiedades físico-químicas de
una bebida láctea con sabor a mango
(*Mangifera indica*)**

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

Presentado por

**Raúl Andrés Alfaro Leiva
Erick Augusto Chang de León**

Zamorano. Honduras
Noviembre, 2017

Evaluación de nisina y grasa en el crecimiento microbiano y propiedades físico-químicas de una bebida láctea con sabor a mango (*Mangifera indica*)

Raúl Andrés Alfaro Leiva
Erick Augusto Chang de León

Resumen. Los beneficios nutricionales de la leche y el mango se pueden combinar para lograr una bebida láctea atractiva para el consumidor. El uso de nisina en la bebida es una alternativa para alargar la vida de anaquel. Los objetivos del estudio fueron analizar el efecto de dos niveles de grasa en la leche (0.5 y 2.0%) y cuatro niveles de Nisin Z TM (0, 100, 200 y 300 IU/mL) en propiedades microbiológicas, físico-químicas, y sensoriales en una bebida láctea con sabor a mango. Microbiológicamente se evaluó crecimiento de bacterias mesófilas aerobias (BMA) y coliformes totales. Se evaluaron propiedades físico-químicas de color, viscosidad y pH; y se ejecutó un análisis sensorial de aceptación hedónica y de preferencia para atributos de: apariencia, color, olor, viscosidad, dulzura, sabor y aceptación general. Se implementó un diseño de Bloques Completos al Azar con arreglo factorial 2 × 4 con tres repeticiones y tres medidas repetidas en el tiempo a los días 0, 7 y 15. Todas las concentraciones de nisina evaluadas mostraron acción bacteriostática contra BMA al día 15 pero no contra coliformes totales. El contenido total de grasa no fue un factor que inhibió la acción preservante de la nisina. En tratamientos sin nisina se mostraron valores menores de pH, y no hubo diferencias en viscosidad ni índice de blancura. El tratamiento con 100 IU/mL de nisina y 2.0% de grasa fue el preferido y el atributo que más contribuyó a la aceptación general fue el sabor.

Palabras clave: Bacteriocina, glóbulo graso, IU, lantibiótico, vida de anaquel

Abstract. Combining the nutritional benefits of milk and mango, it can be achieved an attractive beverage for consumers. The use of nisin in the beverage is an alternative to extend shelf life. The objectives of the study were to analyze the effect of two levels of fat (0.5 and 2.0%) and four levels of Nisin Z TM (0, 100, 200 y 300 IU/mL) in microbiological, physical, chemical, and sensory properties in a dairy beverage with mango flavor. Mesophilic aerobic bacteria (MAB) and total coliform counts were evaluated for the microbiological assays. For the physical and chemical analysis, color, viscosity, and pH were evaluated and a sensory analysis of hedonic acceptance and of preference for the attributes: appearance, color, smell, viscosity, sweetness, flavor, and general acceptance was applied. The design used was a Complete Randomized Block Design with a 2×4 factorial arrangement and three replicates with measurements in time at days 0, 7, and 15. All nisin concentrations evaluated demonstrated bacteriostatic effect against APC but not total coliforms. Total fat content did not inhibited nisin action. Treatments without nisin showed lower pH values, and there were no differences in viscosity and whiteness index. The treatment with 100 IU/mL of nisin and 2.0% fat was preferred and the attribute that most contributed to general acceptance was flavor.

Key words: Bacteriocin, fat globule, IU, lantibiotic, shelf life

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.....	7
4. CONCLUSIONES	17
5. RECOMENDACIONES	18
6. LITERATURA CITADA.....	19
7. ANEXOS	23

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Descripción de los ocho tratamientos para el experimento realizado incluyendo cuatro niveles de concentración de nisina y dos de porcentaje de grasa en la leche utilizada.	6
2. Bacterias mesófilas aerobias en bebidas lácteas con sabor a mango y con nisina.	8
3. Coliformes totales en bebidas lácteas con sabor a mango y con nisina.	9
4. pH en bebidas láctea con sabor a mango y con nisina.	10
5. Viscosidad evaluada a 30 °C utilizando acople LV2 a 150 RPM en bebida láctea con sabor a mango expresado en Pa·s.	11
6. Índice de blancura en bebida láctea con sabor a mango y con nisina.	12
7. Análisis sensorial de aceptación en una bebida láctea con sabor a mango y con nisina al día 0.	14
8. Correlación general de análisis sensorial de aceptación hedónica.	14
9. Análisis de costos variables para una bebida láctea con mango usando nisina como su preservante natural a una concentración de 100 IU/mL en presentación 0.95 kg.	16
 Figuras	 Página
1. Flujo de proceso para elaboración de bebida láctea con sabor a mango.	4
2. Muestras preferidas por panelistas evaluadas en porcentaje (Pr Chisq<0.0001).	15
 Anexos	 Página
1. Hoja de evaluación sensorial.	23
2. Modelo de frecuencia para la evaluación sensorial de preferencia.	23
3. Correlación 1N2.0G de análisis sensorial de preferencia.	24
4. Correlación 1N0.5G de análisis sensorial de preferencia.	24
5. Correlación 0N2.0G de análisis sensorial de preferencia.	25
6. Correlación 0N0.5G de análisis sensorial de preferencia.	25

1. INTRODUCCIÓN

En el mercado de bebidas se crea una cantidad alta de productos cada año siguiendo las tendencias del consumidor por productos locales, naturales, y con etiquetas limpias, demostrando la importancia de este rubro dentro de la industria alimentaria (Chambers 2014). Se han desarrollado bebidas con alto valor nutritivo, como las bebidas lácteas con mezclas de frutas que poseen un mejor perfil sensorial y aceptación en comparación a bebidas de suero (Rizzolo y Cortellino 2017). La leche brinda macro y micro nutrientes como el calcio, vitamina D, zinc, potasio y proteína de alta calidad que ayudan a la salud en aspectos como prevención de osteoporosis, control del sobrepeso, mantener una masa muscular saludable y control de la hipertensión (Hess *et al.* 2016). El consumo mundial de leche ha oscilado en 180 billones de toneladas anuales con una tendencia descendente, por lo cual la industria láctea busca alternativas como bebidas lácteas con mezcla de frutas para sostener y aumentar el consumo de leche fluida (SAGARPA 2016).

El mango es una fruta tropical altamente consumida en el mundo y se ha demostrado que posee polifenoles y carotenoides con capacidad antioxidante, inmuno-moduladora y antimutagénica (Ajila y Prasada Rao 2008). La producción de mango en Honduras es de aproximadamente 8,400 toneladas anuales en un área sembrada de 3,500 ha (Fiallos 2014). El mango posee cualidades sensoriales deseables por los consumidores debido a su contenido de azúcares, ácidos, aromas y pigmentos y es altamente disponible en el mercado hondureño haciéndolo una opción atractiva para su incorporación en una bebida láctea (Quintero *et al.* 2013).

La leche, por ser un medio rico en nutrientes y tener condiciones idóneas para el crecimiento bacteriano, posee una vida anaquel de dos a cinco días sin recibir tratamientos de preservación como la pasteurización (Cornell University 2007). La pasteurización es el proceso de calentar todas las partículas de la leche o producto lácteo, en equipo propiamente diseñado y operado, a una temperatura y tiempo específico (United States Public Health Service 2015). Aún después de pasteurizar, la leche posee una vida anaquel aproximada de 11 días en condiciones de refrigeración, debido a altas cargas bacterianas iniciales de la leche cruda y problemas en la cadena de frío. La vida de anaquel se reduce debido al efecto de las bacterias Gram positivas como *Bacillus* spp. y *Microbacterium* spp. que sobreviven el tratamiento de pasteurización o al efecto de bacterias Gram negativas que ingresan a la leche en contaminación post-pasteurización (Fromm y Boor 2004). La corta vida de anaquel de la leche pasteurizada causa pérdidas económicas a la industria lechera y evita disponibilidad de leche en zonas rurales que no pueden sostener una cadena de frío adecuada. Debido a esto se buscan alternativas para alargar la vida anaquel de la leche y bebidas lácteas pasteurizadas con el uso de preservantes naturales como la nisina.

La nisina pertenece al grupo de las bacteriocinas, péptidos cortos producidos por el metabolismo de bacterias, especialmente bacterias ácido lácticas (Peralta 2009). A concentraciones bajas pueden actuar como inhibidores de bacterias patógenas y deterioradoras en muchos alimentos incluyendo carnes, quesos, mariscos y bebidas lácteas. La nisina tiene variantes en su estructura y una de estas es la nisina Z que se diferencia por poseer el aminoácido asparagina en la posición 27. Esto hace que sea más soluble debido a que la asparagina tiene una cadena lateral más polar comparado a otras variaciones de nisina haciéndola más atractiva como preservante. Aparte de su buena solubilidad, la nisina Z es resistente a pH ácidos y tratamientos térmicos como la pasteurización, además de poseer un amplio espectro antimicrobiano (Gharsallaoui *et al.* 2016). La nisina ha sido aceptada por la comitiva FAO/OMS Codex en leche y productos lácteos como aditivo alimentario hasta una concentración límite de 12.5 mg/kg de nisina pura y también añadido a la lista Europea de aditivos alimentarios con el numero E234 (Ross *et al.* 2002).

El modo de acción de la nisina es ligarse a receptores en las paredes exteriores de las células bacterianas y esto puede ocurrir agregándose a proteínas o conjugándose con componentes celulares como fosfolípidos. De esta manera logra abrir canales en la membrana citoplasmática causando lisis celular e hidrólisis de ATP llevando a una muerte celular (Arauz *et al.* 2009). La efectividad antimicrobiana de la nisina puede ser afectada por varios factores como pH neutro, cepas resistentes a la nisina e interacción con componentes como proteínas y grasa. La leche bovina posee una cantidad de grasa alrededor de 3.5% en forma de glóbulos en suspensión los cuales están formados por triglicéridos en su interior y tienen en su exterior una membrana del glóbulo graso formada por fosfolípidos (Fox *et al.* 2015). Esta membrana podría causar interacción con la nisina y disminuir su capacidad antimicrobiana especialmente debido a las interacciones con los fosfolípidos presentes en ella.

Este estudio busca introducir al mercado una bebida láctea con sabor a mango con una vida de anaquel prolongada; debido a esto se evaluó la nisina como preservante y se plantearon los siguientes objetivos:

- Analizar el efecto de grasa en la leche y Nisin Z TM en el crecimiento de bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales en una bebida láctea con sabor a mango.
- Analizar el efecto de grasa en la leche y Nisin Z TM en las propiedades fisicoquímicas de una bebida láctea con sabor a mango.
- Determinar la aceptación y preferencia del consumidor por las bebidas lácteas con sabor a mango con Nisin Z TM.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio.

Las bebidas fueron elaboradas en la planta de lácteos Zamorano. Los análisis físicos se analizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ). Los parámetros microbiológicos de bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales y las mediciones de pH se analizaron en el Laboratorio de Microbiología Zamorano (LMAZ). Los análisis sensoriales se evaluaron en el Laboratorio de Análisis Sensorial de Zamorano. Estas instalaciones se encuentran en la Escuela Agrícola Panamericana (EAP) Zamorano, ubicada en el km 30 de la carretera de Tegucigalpa a Danlí en el Departamento de Francisco Morazán, Honduras.

Formulación de las bebidas.

Se elaboraron ocho formulaciones variando dos contenidos de grasa en la leche (2.0 y 0.5%) y cuatro concentraciones de nisina (0, 100, 200 y 300 IU/mL). Para todos los tratamientos se utilizó 78.85% de leche, 16% de pulpa de mango, 5% de azúcar, 0.15% de goma xanthan y 300 mg/kg de sorbato de potasio. La leche utilizada en el estudio se obtuvo de la unidad de ordeño de Zamorano y la pulpa de mango (*Mangifera indica* variedad Haden) de un proveedor de la planta Hortofrutícola Zamorano. La nisina utilizada en el estudio fue Nisin Z TM de la empresa Handary procedente de Bélgica facilitada por la distribuidora Grupo ASEAL de Honduras, con una concentración de nisina pura de 2.5% peso/peso y una potencia hídrica de ≥ 1000 IU/mg. Se establece que un IU (“*International Units*”) es lo equivalente a la cantidad de nisina capaz de inhibir una célula de *Streptococcus agalactiae* en un mililitro de caldo.

Preparación de las bebidas.

El mango se licuó en una licuadora industrial marca Vitamix [®] modelo “Vitamix XL TM Variable Speed” a velocidad tres durante tres minutos para homogenizar la textura de la misma previo a su incorporación a la bebida. Como se muestra en la Figura 1, la leche fue estandarizada para obtener los porcentajes de grasa deseados (2.0 y 0.5%). Los ingredientes fueron pesados en una balanza marca OHAUS [®]. Se mezcló la pulpa de mango y leche a una temperatura de 4 °C en yogos de acero inoxidable de 40 L lavados y desinfectados con cloro a una concentración de 200 mg/kg. Se calentaron ambos ingredientes hasta llegar a una temperatura de 35 °C y se añadió azúcar, goma xanthan y sorbato de potasio. La nisina se diluyó en 5 mL de agua destilada y se añadió a la bebida. Se colocaron todos los yogos en una tina de acero inoxidable y se pasteurizó a 68 °C durante 30 minutos en forma de baño María mientras se aplicaba agitación constante. La pasteurización de los tratamientos se realizó simultáneamente con el objetivo de reducir la variabilidad. Luego se almacenaron

en envases de polietileno de alta densidad (HDPE) en cuartos fríos a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Se almacenó cada tratamiento en tres envases, uno para cada medición en el tiempo.

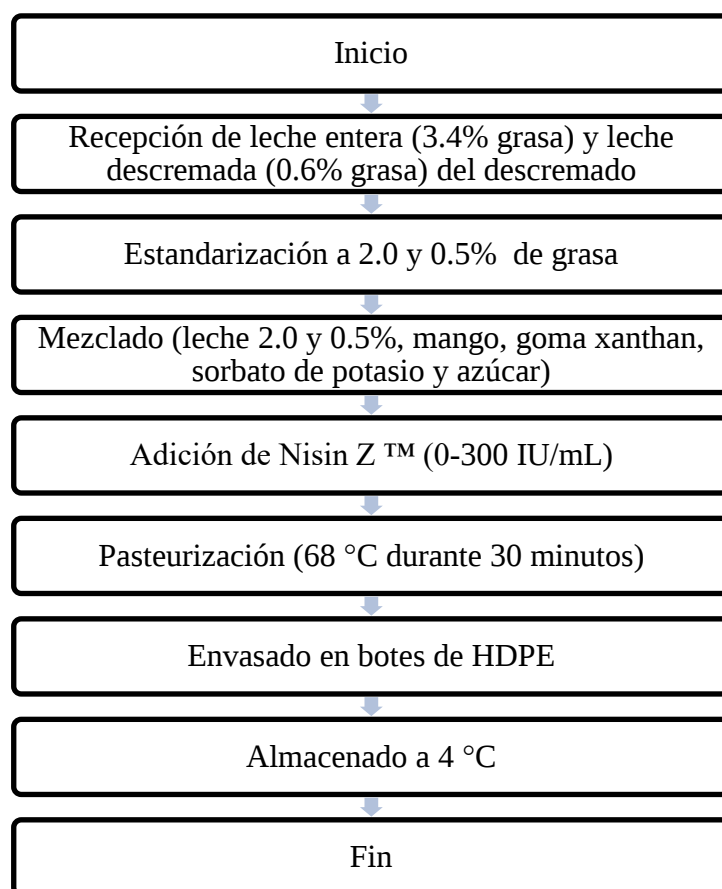


Figura 1. Flujo de proceso para elaboración de bebida láctea con sabor a mango.

Análisis microbiológicos.

Análisis de bacterias mesófilas aerobias. Las muestras se evaluaron en los días 0, 7 y 15. Se tomaron 10 mL de muestra y se diluyeron en 90 mL de buffer fosfato. Se homogenizó durante 1.5 minutos utilizando un stomacher. Se obtuvieron diluciones 10^{-1} y 10^{-2} para los tratamientos con nisina y diluciones 10^{-1} a 10^{-5} para los tratamientos sin nisina. Se utilizó el método de vaciado en placa y se agregó 15 mL de Agar Cuenta Estándar (ACE) como medio de cultivo. Para los tratamientos con nisina se incubaron platos con diluciones 10^{-1} y 10^{-2} y para los controles se incubaron platos con diluciones 10^{-4} y 10^{-5} . Se incubaron de forma invertida a $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas y se reportaron los resultados en UFC/mL.

Análisis de coliformes totales. Las muestras fueron analizadas a los días 0, 7 y 15. Se diluyeron 10 mL de la bebida en 90 mL de buffer fosfato. Las muestras se homogenizaron durante un minuto, se tomó un mililitro para obtener una dilución de 10^{-1} . Se colocó un mililitro de la dilución y se agregaron 15 mL del medio de cultivo Agar Bilis Rojo Violeta (ABRV) utilizando el método de vaciado en placa y posterior a esto una segunda capa de

cinco mililitros de ABRV. Se incubó de forma invertida a 32 °C durante 24 horas y se reportaron los resultados en UFC/mL.

Análisis físico-químicos.

Análisis de pH. Se utilizó el potenciómetro Thermo Scientific Orion 5 Star con un electrodo de llenado de gel. Se evaluaron las muestras a los días 0, 7 y 15 utilizando el método AOAC 981.12.

Análisis de viscosidad. Se evaluó la viscosidad utilizando un reómetro de Brookfield DV-III Ultra V6.1 utilizando el método ISO 1652:2004 (ISO 2011). En un vaso de precipitado se colocaron 400 mL de las muestras a 30 ± 5 °C y se utilizó un acople LV2. Se evaluaron las viscosidades a 150 RPM y se reportaron las mediciones en Pa·s.

Análisis de color. Se evaluaron las muestras a los días 0, 7 y 15 con el equipo Colorflex Hunter Lab ® utilizando el método de análisis AN 1018.00 (Hunter lab 2008). Se evaluaron los valores L^* a^* b^* . El valor L tiene una escala de 0 a 100, donde 0 es negro y 100 es blanco. El valor a^* tiene una escala donde negativo es verde y positivo es rojo. El valor b^* tiene una escala donde negativo corresponde a azul y positivo a amarillo. Se calculó el índice de blancura utilizando la siguiente ecuación:

$$IB = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad [1]$$

Análisis sensorial. Se evaluaron los tratamientos con la concentración de nisina con menor carga de BMA al día 15 y ambos tratamientos sin nisina utilizando una prueba afectiva de aceptación, para medir los atributos de apariencia, color, olor, viscosidad, dulzura, sabor y aceptación general. También se realizó una prueba afectiva de preferencia donde el panelista colocó el código de su muestra preferida al terminar la evaluación. Participaron del estudio 101 panelistas no entrenados y utilizaron una escala hedónica de nueve puntos, donde uno fue el valor menos aceptado y nueve el más aceptado. El panelista colocó el código de su muestra preferida al terminar la evaluación. El análisis de los datos sensoriales se realizó con una prueba de Chi-cuadrado con un $\alpha = 0.01$ para preferencia y una separación de medias Duncan para aceptación y se establecieron correlaciones entre los atributos evaluados.

Diseño experimental. Se usó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) con un arreglo factorial 4×2 con tres repeticiones. Se evaluaron tres medidas repetidas en el tiempo a los días 0, 7 y 15. Se utilizaron cuatro niveles de nisina: 0, 100, 200 y 300 IU/mL; y dos niveles de grasa en la leche: 2.0 y 0.5%. En total se evaluaron con ocho tratamientos como se muestra en el Cuadro 1. Los datos se analizaron en el programa Statistical Analysis System (SAS versión 9.4 ®). Se realizó un análisis de varianza ANDEVA y una separación de medias de cuadrados mínimos ajustados (LSMeans).

Cuadro 1. Descripción de los ocho tratamientos para el experimento realizado incluyendo cuatro niveles de concentración de nisina y dos de porcentaje de grasa en la leche utilizada.

Tratamiento	Descripción
1N2.0G	100 IU/mL nisina y leche con 2.0% grasa
2N2.0G	200 IU/mL nisina y leche con 2.0% grasa
3N2.0G	300 IU/mL nisina y leche con 2.0% grasa
1N0.5G	100 IU/mL nisina y leche con 0.5% grasa
2N0.5G	200 IU/mL nisina y leche con 0.5% grasa
3N0.5G	300 IU/mL nisina y leche con 0.5% grasa
0N2.0G[∞]	0 IU/mL nisina y leche con 2.0% grasa
0N0.5G[∞]	0 IU/mL nisina y leche con 0.5% grasa

[∞] Tratamientos designados control.

Análisis de costos variables. Se analizaron los costos variables de la bebida preferida en presentación de un litro comercial (946 mL) con y sin nisina. Los valores fueron expresados en lempiras (HNL) y en su equivalente en dólares (USD) con una tasa de conversión de L. 23.38 por cada dólar (Banco Central Honduras 2017).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bacterias mesófilas aerobias.

Al día 0 y 7 los tratamientos sin nisina no son significativamente diferentes ($P > 0.05$) a todos los tratamientos con nisina. Las diferencias iniciales de carga microbiana entre algunos tratamientos se pueden deber al efecto de diferentes eficiencias de pasteurización y no al efecto de la concentración de nisina. Esto debido a que hay tratamientos con nisina y sin nisina estadísticamente iguales ($P > 0.05$) a los días 0 y 7. A los días 0 y 7 todos los tratamientos cumplen con el límite máximo de BMA de 4 log UFC/mL según ley hondureña (Secretaría de Agricultura y Ganadería 2001).

La pasteurización ayuda a que todos los tratamientos se mantengan estables durante 7 días debido a que entre el día 0 y 7 no hay crecimiento significativo ($P > 0.05$) de BMA para todos los tratamientos. Independientemente de la presencia de nisina y el porcentaje de grasa de la leche, los tratamientos se mantuvieron estables en el tiempo durante 7 días. Se observa que, a pesar de diferentes porcentajes de grasa, la nisina actúa similar en ambos tipos de leche en los 15 días en almacenamiento. En el día 0, 7 y 15 los tratamientos con al menos 100 IU/mL de nisina son estadísticamente iguales ($P > 0.05$) (Cuadro 2). A una concentración de 100 IU/mL se logra un efecto bacteriostático deseado para la bebida almacenada durante 15 días. Se ha demostrado en otros estudios que concentraciones de 100 IU/mL y 62.5 IU/mL presentan efectos contra *Listeria* demostrando la buena eficiencia de nisina como preservante a concentraciones bajas (Bajpai *et al.* 2014).

Entre porcentajes de grasa en la leche de 0.5 y 2.0% no hay influencia sobre la acción inhibitoria de la nisina a través de 15 días en almacenamiento. Esto difiere de los resultados obtenidos por Bhatti *et al.* (2004) donde el efecto de nisina sobre *Staphylococcus aureus* sí fue afectado en leche con 2.0 y 3.5% de grasa en comparación a leche descremada. Esto indica que el efecto negativo de la grasa sobre la acción de la nisina puede atribuirse más a la homogenización de la leche que al contenido graso total de la misma ya que los tratamientos no fueron homogenizados. Otros estudios indican que la nisina Z no es afectada por la grasa como la nisina A que se adhiere fácilmente a grasas y glóbulos proteicos por lo cual se obtienen mejores resultados previniendo el deterioro de la leche; lo que podría explicar porque el producto Nisin Z TM no es afectado por la grasa como otras variaciones de nisina comercial (Mitra *et al.* 2011).

Se demuestra un efecto bacteriostático y no bactericida de la nisina durante 15 días en almacenamiento refrigerado ya que no se redujo la carga bacteriana respecto al día 0 para todos los tratamientos con nisina pero no hubo aumento de la misma ($P > 0.05$) a diferencia de los tratamientos sin nisina que si hubo crecimiento bacteriano significativo respecto al

día 0. Al día 15 se observa un crecimiento bacteriano significativo con respecto al día 0 para ambos tratamientos control sin nisina. De igual manera, al día 15 los tratamientos sin nisina son significativamente diferentes ($P < 0.05$) a todos los tratamientos con nisina siendo esta diferencia de hasta 4.7 log UFC/mL (Cuadro 2) y estos tratamientos superan el límite aceptable de 4 log UFC/mL de acuerdo a ley hondureña (Secretaría de Agricultura y Ganadería 2001). La leche luego de 11 días en refrigeración usualmente desarrolla cargas microbianas altas que causan deterioro si no se maneja una cadena de frío adecuada o se evita contaminación post-pasteurización. El crecimiento microbiano en refrigeración también se atribuye a los microorganismos psicrótrofos como *Bacillus*, *Listeria* y *Pseudomonas* que pueden crecer en leche a 4 °C y provocar alteraciones que limitan la vida anaquel de la leche pasteurizada (Petrus *et al.* 2010). Esto concuerda con Radha (2014) donde la adición de nisina a diferentes concentraciones tuvo efecto significativo sobre el crecimiento bacteriano en leche pasteurizada con respecto a los controles sin nisina y el contenido de grasa de la leche no interfirió en su acción.

Cuadro 2. Bacterias mesófilas aerobias en bebidas lácteas con sabor a mango y con nisina.

Tratamiento	Día 0	Día 7	Día 15
	Media $\pm$ DE [¶]	Media $\pm$ DE	Media $\pm$ DE
1N ^{&} 2.0G [§]	1.67 $\pm$ 1.70 ^{AB x}	1.87 $\pm$ 0.81 ^{AB x}	2.17 $\pm$ 0.81 ^{A x}
2N2.0G	1.20 $\pm$ 0.17 ^{A x}	0.70 $\pm$ 0.00 ^{A x}	1.40 $\pm$ 0.97 ^{A x}
3N2.0G	1.40 $\pm$ 0.95 ^{AB x}	0.70 $\pm$ 0.00 ^{A x}	2.23 $\pm$ 1.51 ^{A y}
1N0.5G	0.80 $\pm$ 0.17 ^{A x}	1.37 $\pm$ 1.17 ^{AB x}	3.07 $\pm$ 2.76 ^{A y}
2N0.5G	1.20 $\pm$ 0.44 ^{A x}	1.83 $\pm$ 1.46 ^{AB x}	1.57 $\pm$ 0.49 ^{A x}
3N0.5G	1.57 $\pm$ 0.75 ^{AB x}	2.17 $\pm$ 2.28 ^{AB x}	2.53 $\pm$ 2.90 ^{A x}
0N2.0G	2.37 $\pm$ 0.09 ^{B x}	3.10 $\pm$ 0.96 ^{B x}	6.10 $\pm$ 1.58 ^{B y}
0N0.5G	1.80 $\pm$ 0.18 ^{AB x}	3.17 $\pm$ 2.09 ^{B x}	5.73 $\pm$ 1.72 ^{B y}
CV [¶] (%)	41		
R ² (%)	90		

[¶]Desviación estándar. [&]Nisina. [§]Grasa. [¶]Coeficiente de Variación. Medias con diferentes letras minúsculas en la misma fila (x, y) indican diferencias significativas entre día ($P < 0.05$). Medias con diferentes letras mayúsculas en misma columna (A, B, C) indican diferencias significativas entre tratamiento ($P < 0.05$). 0N, 1N, 2N, 3N equivalen a 0, 100, 200, 300 IU/mL nisina y 0.5, 2.0G equivalen a 0.5 y 2.0% de grasa respectivamente.

Análisis de coliformes totales.

No se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en todos los tratamientos a los días 0, 7 y 15 para log de UFC/mL de coliformes totales. Esto difiere de los resultados obtenidos de BMA donde al día 15 (Cuadro 3) si hubo diferencias entre tratamientos con y sin nisina. La nisina, por su modo de acción, afecta bacterias Gram positivas y los coliformes son bacterias Gram negativas que debido a su pared celular tienen resistencia contra la nisina. Esto explica porque la adición de nisina no tiene efecto sobre reducción de bacterias coliformes totales en comparación a los tratamientos sin nisina. Una alternativa para que la nisina pudiera reducir coliformes totales sería mediante la adición de ácido

etilendiaminotetraacético (EDTA), un quelante, que aumenta la sensibilidad de bacterias Gram negativas a nisina (Castro *et al.* 2009).

Cuadro 3. Coliformes totales en bebidas lácteas con sabor a mango y con nisina.

Tratamiento	Día 0 Media $\pm$ DE [¶]	Día 7 Media $\pm$ DE	Día 15 Media $\pm$ DE
1N ^{&} 2.0G [§]	0.70 $\pm$ 1.70 ^{A x}	0.80 $\pm$ 0.81 ^{A x}	0.90 $\pm$ 0.81 ^{A x}
2N2.0G	1.00 $\pm$ 0.17 ^{A x}	0.70 $\pm$ 0.00 ^{A x}	0.70 $\pm$ 0.97 ^{A x}
3N2.0G	0.70 $\pm$ 0.95 ^{A x}	0.80 $\pm$ 0.00 ^{A x}	1.13 $\pm$ 1.51 ^{A x}
1N0.5G	0.70 $\pm$ 0.17 ^{A x}	0.70 $\pm$ 1.17 ^{A x}	1.37 $\pm$ 2.76 ^{A x}
2N0.5G	0.70 $\pm$ 0.44 ^{A x}	1.47 $\pm$ 1.46 ^{A x}	0.70 $\pm$ 0.49 ^{A x}
3N0.5G	1.30 $\pm$ 0.75 ^{A x}	2.23 $\pm$ 2.28 ^{A x}	1.40 $\pm$ 2.90 ^{A x}
0N2.0G	0.80 $\pm$ 0.09 ^{A x}	1.15 $\pm$ 0.96 ^{A xy}	1.87 $\pm$ 1.58 ^{A y}
0N0.5G	0.70 $\pm$ 0.18 ^{A x}	1.10 $\pm$ 2.09 ^{A x}	0.70 $\pm$ 1.72 ^{A x}
CV [¶] (%)	50		
R ² (%)	83		

[¶]Desviación estándar. [&]Nisina. [§]Grasa. [¶]Coefficiente de Variación. Medias con diferentes letras minúsculas en la misma fila (x, y) indican diferencias significativas entre día (P < 0.05). Medias con letras mayúsculas iguales en la misma columna (A) no indican diferencias significativas entre tratamiento (P > 0.05). 0N, 1N, 2N, 3N equivalen a 0, 100, 200, 300 IU/mL nisina y 0.5, 2.0G equivalen a 0.5 y 2.0% de grasa respectivamente.

Análisis de pH.

Al día 0 se muestra el efecto del mango en el pH de la bebida donde todos los tratamientos demuestran acidificación inicial comparado a un pH esperado de leche bovina sin sabor de 6.7 ± 0.2 (Ahmad *et al.* 2008). Se observan mediciones en el Cuadro 4 de valores de 6.2 ± 0.1 de pH inicial para los tratamientos lo que demuestra esta acidificación causada por el mango. Esto puede atribuirse a los ácidos orgánicos que posee el mango que, aunque no es una fruta conocida por su acidez, contribuye a un leve descenso de pH en comparación a leche pasteurizada sin adición de fruta. Dentro de los ácidos que contiene el mango se encuentran predominantemente el cítrico y málico al igual que a menores concentraciones tartárico, oxálico y α -ketoglutarico (Singh *et al.* 2013). Se han reportado bebidas lácteas con manzana con un pH de 6.36 al día 0 indicando una reducción similar de pH cuando se agrega fruta a la leche (Hassan *et al.* 2015). Este descenso mejora la acción de la nisina al alejarse del valor de pH 7.0 donde se ha reportado que la nisina tiene una menor actividad y baja solubilidad a valores de pH neutros (Adhikari *et al.* 2012).

Se observa que todos los tratamientos tuvieron descensos de pH al día 7 respecto al día 0 sin embargo, al día 15 respecto al día 7 solo los tratamientos sin nisina tuvieron descenso significativo de pH. Se ha reportado en otros estudios que leche pasteurizada con 200 IU/mL de nisina solamente tuvo una disminución de pH de 0.1 en 14 días de almacenamiento lo cual es similar a los resultados obtenidos en el estudio donde se muestran resultados similares (Cuadro 3) (Tafreshi 2015). De igual manera, Radha (2014)

reporta que aumentar la concentración de nisina no tiene un efecto significativo en valores de pH.

Las tres concentraciones de nisina evaluadas en el estudio fueron significativamente diferentes en los días 7 y 15 ($P < 0.05$) comparado a los tratamientos sin nisina, pero no al día 0. El pH en la leche disminuye usualmente a través del tiempo debido a las bacterias ácido lácticas (BAL) que producen ácido láctico como metabolito de fermentación a partir de lactosa. Dentro de este grupo se encuentran los géneros *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Lactobacillus*, todos Gram positivas (Huertas 2010). Además de las BAL existen otros géneros que pueden producir fermentación láctica como *Micrococcus*, *Microbacterium* y *Bacillus*. También existen especies de *Clostridium* que pueden producir ácido butírico acidificando la leche (Belalcazar 2017). Esto podría explicar porque las diferencias no se observan inicialmente sino hasta el día 7 y 15 donde la fermentación ya pudo haber ocurrido. Los tratamientos con nisina sufrieron disminución de pH en el tiempo, pero no de la misma manera que los tratamientos sin nisina donde este descenso fue significativamente mayor ($P < 0.05$) adjudicando esto al efecto inhibitorio de la nisina sobre BAL dado que son bacterias Gram positivas. Otros estudios demuestran que la leche pasteurizada sin nisina con valores de pH inicial de 6.64 desciende hasta valores de 5.91 en 16 días de almacenamiento (Radha 2014).

Cuadro 4. pH en bebidas láctea con sabor a mango y con nisina.

Tratamientos	Día 0 Media $\pm$ DE [¶]	Día 7 Media $\pm$ DE	Día 15 Media $\pm$ DE
1N ^{&} 2.0G [§]	6.22 $\pm$ 0.04 ^{AB x}	6.17 $\pm$ 0.05 ^{AB y}	6.17 $\pm$ 0.05 ^{B y}
2N2.0G	6.28 $\pm$ 0.06 ^{A x}	6.26 $\pm$ 0.05 ^{A xy}	6.24 $\pm$ 0.06 ^{A y}
3N2.0G	6.21 $\pm$ 0.03 ^{B x}	6.18 $\pm$ 0.05 ^{B xy}	6.15 $\pm$ 0.05 ^{B y}
1N0.5G	6.23 $\pm$ 0.04 ^{AB x}	6.20 $\pm$ 0.04 ^{AB y}	6.19 $\pm$ 0.05 ^{AB y}
2N0.5G	6.23 $\pm$ 0.04 ^{AB x}	6.18 $\pm$ 0.09 ^{B y}	6.15 $\pm$ 0.11 ^{B y}
3N0.5G	6.22 $\pm$ 0.04 ^{AB x}	6.17 $\pm$ 0.08 ^{BC y}	6.16 $\pm$ 0.07 ^{B y}
0N2.0G	6.21 $\pm$ 0.05 ^{B x}	6.11 $\pm$ 0.05 ^{D y}	6.04 $\pm$ 0.03 ^{C z}
0N0.5G	6.21 $\pm$ 0.05 ^{B x}	6.08 $\pm$ 0.06 ^{D y}	6.02 $\pm$ 0.06 ^{C z}
CV [¶] (%)	0.27		
R ² (%)	98		

[¶]Desviación estándar. [&]Nisina. [§]Grasa. [¶]Coefficiente de Variación. Medias con diferentes letras minúsculas en la misma fila (x, y, z) indican diferencias significativas entre día ($P < 0.05$). Medias con diferentes letras mayúsculas en misma columna (A, B, C) indican diferencias significativas entre tratamiento ($P < 0.05$). 0N, 1N, 2N, 3N equivalen a 0, 100, 200, 300 IU/mL nisina y 0.5, 2.0G equivalen a 0.5 y 2.0% de grasa respectivamente.

Análisis de viscosidad. En el día 0, 7, y 15 los valores de viscosidad para todos los tratamientos son iguales ($P < 0.05$). En el Cuadro 5 se aprecian valores de viscosidad entre 0.05 y 0.10 Pa·s los cuales son similares a los reportados por Bajwa y Mittal (2015) que reportan una viscosidad de 0.08 Pa·s en una bebida de leche y mango con 10% de pulpa. La viscosidad también es similar a los reportados por Hassan *et al.* (2015) en una bebida de

leche y pulpa de manzana. El porcentaje de grasa de la leche no causó diferencias entre tratamientos al igual que las concentraciones de nisina utilizadas. Esto se atribuye a la acción de la goma xanthan como espesante como reporta también Bajwa y Mittal (2015). La goma xanthan es utilizada en la bebida con propósitos estabilizadores. Los estabilizadores previenen separación de los componentes en una matriz alimenticia e igualmente proporcionan una viscosidad consistente y no se muestran viscosidades diferentes a pesar de los diferentes porcentajes de grasa en la leche. La goma xanthan es un polisacárido aniónico el cual interactúa con las cargas positivas en la leche que son las micelas de caseína para estabilizar la matriz y evitar separaciones de componentes dando lugar a una viscosidad homogénea a todos los tratamientos (Msagati 2013).

La viscosidad para los tratamientos con 2.0% de grasa tuvo cambios significativos al día 15 respecto al día 0 ($P < 0.05$). Según Fox *et al.* (2015) cambios de viscosidad en leche pueden ocurrir debido a cambios en pH. Como se muestra en el Cuadro 4, el pH se redujo para las bebidas lo que provocaría el descenso observado de la viscosidad. El descenso de pH debe ser leve para que se muestre este efecto debido a que si desciende hasta valores de 4.6 (punto isoeléctrico de la caseína) la viscosidad aumentaría debido a agregación micelar. Los valores obtenidos en el descenso de pH son superiores a 6.0; nivel al cual la viscosidad disminuiría y no aumentaría.

Cuadro 5. Viscosidad evaluada a 30 °C utilizando acople LV2 a 150 RPM en bebida láctea con sabor a mango expresado en Pa·s.

Tratamientos	Día 0 Media $\pm$ DE [†]	Día 7 Media $\pm$ DE	Día 15 Media $\pm$ DE
1N ^{&} 2.0G [§]	0.10 $\pm$ 0.02 ^{A x}	0.07 $\pm$ 0.01 ^{A y}	0.08 $\pm$ 0.01 ^{A y}
2N2.0G	0.08 $\pm$ 0.04 ^{A x}	0.06 $\pm$ 0.03 ^{A y}	0.06 $\pm$ 0.03 ^{A y}
3N2.0G	0.10 $\pm$ 0.05 ^{A x}	0.06 $\pm$ 0.03 ^{A y}	0.07 $\pm$ 0.02 ^{A y}
1N0.5G	0.06 $\pm$ 0.03 ^{A x}	0.06 $\pm$ 0.01 ^{A x}	0.07 $\pm$ 0.03 ^{A x}
2N0.5G	0.06 $\pm$ 0.02 ^{A x}	0.06 $\pm$ 0.02 ^{A x}	0.07 $\pm$ 0.01 ^{A x}
3N0.5G	0.05 $\pm$ 0.02 ^{A x}	0.06 $\pm$ 0.02 ^{A x}	0.07 $\pm$ 0.01 ^{A x}
0N2.0G	0.06 $\pm$ 0.03 ^{A x}	0.06 $\pm$ 0.02 ^{A x}	0.08 $\pm$ 0.03 ^{A y}
0N0.5G	0.07 $\pm$ 0.05 ^{A x}	0.06 $\pm$ 0.03 ^{A x}	0.06 $\pm$ 0.02 ^{A x}
CV [¶] (%)	22.64		
R ² (%)	87		

[†]Desviación estándar. [&]Nisina. [§]Grasa. [¶]Coefficiente de Variación. Medias con diferentes letras minúsculas en la misma fila (x, y) indican diferencias significativas entre día ($P > 0.05$). Medias con letras mayúsculas iguales en la misma columna (A) no indican diferencias significativas entre tratamiento ($P > 0.05$). 0N, 1N, 2N, 3N equivalen a 0, 100, 200, 300 IU/mL nisina y 0.5, 2.0G equivalen a 0.5 y 2.0% de grasa respectivamente.

Índice de blancura. El índice de blancura (IB) en los tratamientos osciló en un rango entre 65-75 lo cual denota el efecto de los carotenoides del mango en el cambio de color de la

bebida de blanco ideal a blanco amarillento (Cuadro 6). Valores de IB de 100 indican un blanco ideal mientras valores de IB por debajo de 100 indican un color blanco amarillento (Montoya *et al.* 2012). En el día 7 y 15 no hay diferencias significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos. Las concentraciones de nisina y el porcentaje de grasa en la leche no tuvieron efecto en las bebidas. Esto concuerda con lo reportado por Villarroel y Andrés (2006), donde encontraron que diferentes concentraciones de nisina no cambian color en alimentos. Al día 15 todos los tratamientos muestran reducción significativa de IB ($P < 0.05$) respecto al día 0. Fox *et al.* (2015) indica que la homogenización en la leche causa valores más cercanos a 100 IB debido a que los glóbulos grasos, reducidos en tamaño, dispersan más la luz. Esto podría explicar también porque los valores de IB son menor a 100, siendo estos más oscuros y amarillentos debido a que los tratamientos no fueron homogenizados. Diferencias en color también se pueden atribuir a degradación de carotenoides por oxidación.

Cuadro 6. Índice de blancura en bebida láctea con sabor a mango y con nisina.

Tratamientos	Día 0 Media $\pm$ DE [†]	Día 7 Media $\pm$ DE	Día 15 Media $\pm$ DE
1N ^{&} 2.0G [§]	71.26 $\pm$ 1.23 ^{A x}	69.88 $\pm$ 1.61 ^{A y}	68.76 $\pm$ 2.26 ^{A z}
2N2.0G	72.69 $\pm$ 1.38 ^{AB x}	71.81 $\pm$ 2.65 ^{A x}	69.65 $\pm$ 3.19 ^{A y}
3N2.0G	72.04 $\pm$ 0.96 ^{AB x}	70.29 $\pm$ 1.05 ^{A y}	68.67 $\pm$ 1.92 ^{A z}
1N0.5G	72.79 $\pm$ 1.29 ^{AB x}	71.78 $\pm$ 2.08 ^{A x}	69.02 $\pm$ 2.41 ^{A y}
2N0.5G	73.00 $\pm$ 1.02 ^{B x}	71.73 $\pm$ 2.07 ^{A y}	69.78 $\pm$ 3.88 ^{A z}
3N0.5G	72.74 $\pm$ 1.04 ^{AB x}	71.60 $\pm$ 0.91 ^{A x}	69.19 $\pm$ 0.77 ^{A y}
0N2.0G	72.87 $\pm$ 1.16 ^{B x}	71.65 $\pm$ 2.55 ^{A x}	68.57 $\pm$ 3.13 ^{A y}
0N0.5G	73.06 $\pm$ 3.31 ^{B x}	71.83 $\pm$ 3.83 ^{A x}	68.20 $\pm$ 2.49 ^{A y}
CV [‡] (%)	1.18		
R ² (%)	95		

[†]Desviación estándar. [&]Nisina. [§]Grasa. [‡]Coefficiente de Variación. Medias con diferentes letras minúsculas en la misma fila (x, y) indican diferencias significativas entre día ($P < 0.05$). Medias con diferentes letras mayúsculas en misma columna (A, B, C) indican diferencias significativas entre tratamiento ($P < 0.05$). 0N, 1N, 2N, 3N equivalen a 0, 100, 200, 300 IU/mL nisina y 0.5, 2.0G equivalen a 0.5 y 2.0% de grasa respectivamente.

Análisis sensorial de aceptación.

En la evaluación sensorial para los atributos apariencia, color, olor, viscosidad, dulzura, sabor y aceptación general se observó que el tratamiento 1N0.5G fue significativamente diferente ($P < 0.05$) teniendo calificaciones más bajas para estos atributos (Cuadro 7). Aguirre e Iván (2011) reportan en un estudio con queso fresco, que a mayores concentraciones de nisina el sabor tuvo menores calificaciones. De acuerdo al Cuadro 8, el sabor es el atributo que más se relaciona con la aceptación general por lo cual se deduce que la concentración de 100 IU/mL de nisina afectó el sabor de los tratamientos. Sin embargo, estas calificaciones no son iguales para el tratamiento 1N2.0G, lo que indica que

el porcentaje de grasa en la leche puede ser un factor que influya en la detección del sabor de la nisina. El porcentaje de grasa en la leche produce diferencias sensoriales notables en las bebidas lácteas con sabor y es un factor importante para las calificaciones sensoriales altas (Yanes *et al.* 2002).

Se encontró una alta correlación entre los atributos de sabor y aceptación general ($P = 0.83$) como se muestra en el Cuadro 8 explicando que el sabor percibido por los panelistas es el que tiene mayor impacto en la aceptación general de la bebida. Así mismo el atributo mayor correlacionado al sabor es la dulzura ($P = 0.86$) siendo esta determinante para un buen sabor de la bebida. Esto muestra la importancia de la cantidad de azúcar y pulpa de mango usados en la bebida ya que son los dos ingredientes que aportan sólidos solubles, azúcares y compuestos responsables del sabor y dulzura de la bebida. Se podría evaluar usar más azúcar o mango en la bebida para tener un valor más alto para aceptación general. La apariencia está estrechamente relacionada con el color ($P = 0.76$) también demostrando la importancia de un buen color en la bebida.

Cuadro 7. Análisis sensorial de aceptación en una bebida láctea con sabor a mango y con nisina al día 0.

Tratamiento	Apariencia Media $\pm$ DE	Color Media $\pm$ DE	Olor Media $\pm$ DE	Viscosidad Media $\pm$ DE	Dulzura Media $\pm$ DE	Sabor Media $\pm$ DE	Aceptación General $\pm$ DE
1N2.0G	6.15 $\pm$ 1.49 ^A	6.38 $\pm$ 1.32 ^A	6.04 $\pm$ 1.68 ^A	6.05 $\pm$ 1.84 ^A	6.43 $\pm$ 1.72 ^A	6.62 $\pm$ 1.62 ^A	6.45 $\pm$ 1.43 ^A
1N0.5G	5.70 $\pm$ 1.89 ^B	5.57 $\pm$ 1.80 ^B	5.43 $\pm$ 1.60 ^B	4.57 $\pm$ 1.92 ^B	3.65 $\pm$ 1.79 ^B	3.73 $\pm$ 1.85 ^B	4.41 $\pm$ 1.51 ^B
0N2.0G	6.13 $\pm$ 1.65 ^A	6.31 $\pm$ 1.29 ^A	6.05 $\pm$ 1.44 ^A	6.10 $\pm$ 1.94 ^A	6.42 $\pm$ 1.66 ^A	6.58 $\pm$ 1.59 ^A	6.46 $\pm$ 1.54 ^A
0N0.5G	6.03 $\pm$ 1.66 ^{AB}	6.00 $\pm$ 1.68 ^A	6.22 $\pm$ 1.57 ^A	6.21 $\pm$ 1.78 ^A	6.52 $\pm$ 1.79 ^A	6.82 $\pm$ 1.55 ^A	6.54 $\pm$ 1.58 ^A
CV ^h (%)	23.35	21.69	19.68	28.01	24.45	26.93	20.17

^hCoeficiente de Variación. Medias con diferentes letras en misma columna (A, B, C) indican diferencias significativas (P < 0.05). 0N y 1N equivalen a 0 y 100 IU/mL nisina y 0.5, 2G equivalen a 0.5 y 2.0% de grasa respectivamente

Cuadro 8. Correlación general de análisis sensorial de aceptación hedónica.

	Apariencia	Color	Olor	Viscosidad	Sabor	Dulzura	AG
Apariencia	1	0.7646	0.5053	0.4697	0.3549	0.3497	0.4713
		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Color	0.76459	1	0.5743	0.4493	0.3911	0.3791	0.5081
	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Olor	0.50527	0.5743	1	0.4843	0.4819	0.4476	0.5601
	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Viscosidad	0.46969	0.4493	0.4843	1	0.6535	0.5742	0.7211
	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001
Sabor	0.35488	0.3911	0.4819	0.6535	1	0.8599	0.875
	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001
Dulzura	0.34969	0.3791	0.4476	0.5742	0.8599	1	0.8313
	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001
AG[£]	0.47129	0.5081	0.5601	0.7211	0.875	0.8313	1
	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	

[£] Aceptación General

Análisis sensorial de preferencia.

Se muestra en la Figura 2 que la bebida con 100 IU/mL de nisina y 2.0% de grasa láctea fue el preferido con 35.64% con una probabilidad del 0.1% y un Chi calculado de 22.92. El segundo tratamiento con mayor preferencia fue el de 0 IU/mL de nisina y 2.0% de grasa láctea con 31.68%. Ambos tratamientos con leche con 2.0% de grasa tuvieron las mejores preferencias lo cual indica que la leche semidescremada fue preferida sobre la descremada por los panelistas para una bebida láctea con sabor a mango. A pesar que no se reportó un cambio significativo en la viscosidad de ambos tratamientos debido al efecto de la grasa, se puede atribuir esta preferencia a otros aspectos sensoriales de la grasa láctea como la palatabilidad, que influye en la percepción sensorial de los panelistas.

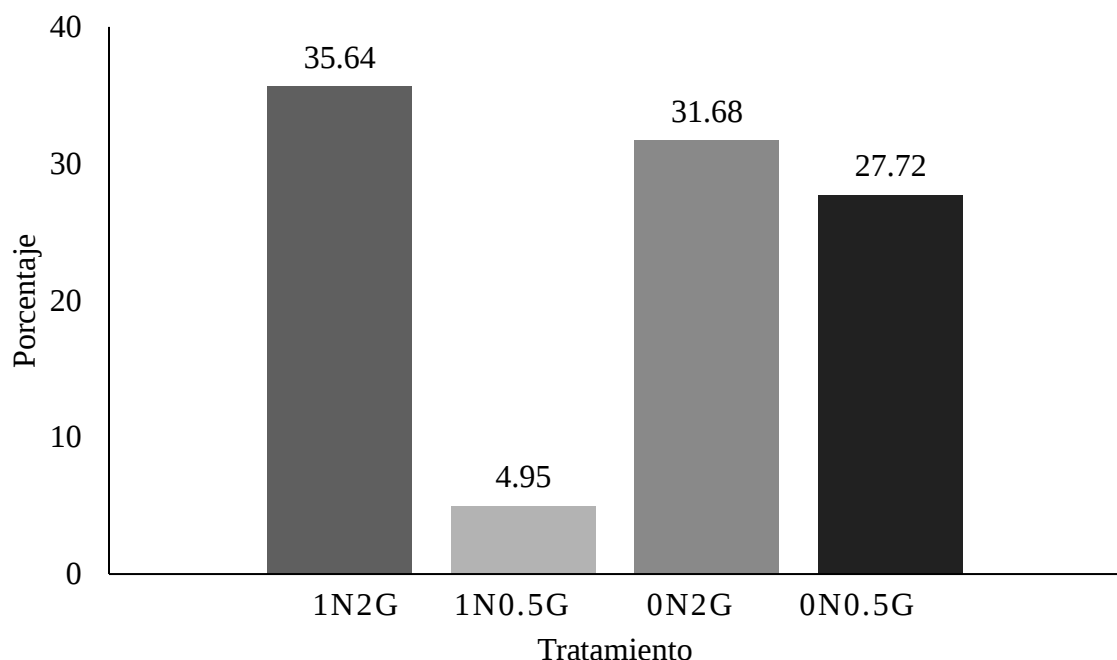


Figura 2. Muestras preferidas por panelistas evaluadas en porcentaje (Pr Chisq < 0.0001). 0N y 1N equivalen a 0 y 100 IU/mL nisina y 0.5, 2G equivalen a 0.5 y 2.0% de grasa respectivamente

Análisis de costos variables.

Se determinaron los costos variables para la bebida láctea con sabor a mango utilizando nisina a 100 IU/mL debido a que este tratamiento presentó similares efectos preservantes que las concentraciones más altas de 200 IU/mL y 300 IU/mL. Debido a esto se eligió la concentración más baja con propósitos de reducir costos de producción de la bebida. Se comparó está al costo de producir la bebida sin nisina y se determinó que la diferencia es mínima por lo cual se recomienda y es viable la producción de la bebida con 100 IU/mL de nisina a un costo de producción solamente USD 0.01 mayor a la bebida sin nisina.

Cuadro 9. Análisis de costos variables para una bebida láctea con mango usando nisina como su preservante natural a una concentración de 100 IU/mL en presentación 0.95 kg.

Ingredientes	Cantidad	Costo [§]	
Empaque		Con	Sin
Envase y Tapa	1	5.15	5.15
Etiqueta	1	1.17	1.17
Materia Prima			
Leche	0.75 kg	8.39	8.39
Mango	0.15 kg	2.90	2.90
Azúcar	0.05 kg	0.78	0.78
Goma xanthan	1.42 g	0.10	0.10
Sorbato de potasio	0.28 g	0.05	0.05
Nisina	0.09 g	0.22	0.00
	HNL	18.76	18.54
	USD	0.80	0.79

[§] Con o sin nisina.

4. CONCLUSIONES

- El producto Nisin Z TM tiene similar acción bacteriostática contra crecimiento de bacterias mesófilas aerobias en las tres concentraciones evaluadas y mantiene el conteo por debajo del máximo permisible al día 15 a diferencia de los tratamientos sin nisina que lo superan. Este efecto no es similar para crecimiento de coliformes totales.
- El contenido de grasa total de la bebida láctea con sabor a mango no interfirió con la acción preservante de la nisina durante 15 días en almacenamiento.
- Los tratamientos sin contenido de nisina presentaron menores valores de pH. La concentración de nisina y el porcentaje de grasa en la leche no mostraron diferencias en índice de blancura y viscosidad.
- La bebida con 2.0% de grasa y 100 IU/mL de nisina fue preferida por los panelistas siendo el sabor el atributo determinante en la aceptación de las bebidas.

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar concentraciones menores a 100 IU/mL de nisina en bebidas lácteas con sabor a mango para comprobar efectos preservantes a menores concentraciones.
- Comprobar si la homogenización de la leche tiene un efecto en la acción de la nisina (Nisin Z TM).
- Comprobar si el efecto preservante de la nisina es similar en bebidas lácteas con otras frutas de la región.
- Evaluar el experimento por más días para determinar en cuanto tiempo el crecimiento de BMA supera el límite máximo permisible de acuerdo a ley hondureña.

6. LITERATURA CITADA

Adhikari, Manab D, Gopal R, Aiyagari. 2012: Retention of nisin activity at elevated pH in an organic acid complex and gold nanoparticle composite. *Chemical Communications* (Cambridge, England). 48(71): 8928–8930. DOI: 10.1039/c2cc34653b.

Aguirre E, Iván C. 2011. Utilización de niveles de nisina como antibiotico en la elaboración de queso fresco [Tesis]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Chimborazo. Disponible en línea en <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/808>, Última comprobación el 03/11/2017.

Ahmad S, Gaucher I, Rousseau F, Beaucher E, Piot M, Grongnet JF, Gaucheron F. 2008. Effects of acidification on physico-chemical characteristics of buffalo milk. A comparison with cow's milk. *Food Chemistry*. 106(1): 11–17. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.04.021.

Ajila CM, Prasada R. 2008. Protection against hydrogen peroxide induced oxidative damage in rat erythrocytes by *Mangifera indica* L. peel extract. *Food and chemical Toxicology*. 46(1): 303–309. DOI: 10.1016/j.fct.2007.08.024.

AOAC (Official Methods of Analysis of AOAC International). 1995. 16th ed. Arlington, VA: AOAC International.

Arauz L, Jozala A, Mazzola PG, Vessoni TC. 2009. Nisin biotechnological production and application. *Trends in Food Science & Technology*. 20(3-4): 146–154. DOI: 10.1016/j.tifs.2009.01.056.

Bajpai V, Yoon J, Bhardwaj M, Kang S. 2014. Anti-listerial synergism of leaf essential oil of *Metasequoia glyptostroboides* with nisin in whole, low and skim milks. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 7(8): 602–608. DOI: 10.1016/S1995-7645(14)60102-4.

Bajwa U, Mittal S. 2015. Quality characteristics of no added sugar ready to drink milk supplemented with mango pulp. *Journal of Food Science and Technology*. 52(4): 2112–2120. DOI: 10.1007/s13197-013-1184-7.

Banco Central Honduras. 2017. Precio promedio de venta del dólar promedio del sistema financiero. Tegucigalpa (Honduras). BCH; [accessed 2017 oct 9]. <http://www.bch.hn/esteco/ianalisis/proint.pdf>.

Bhatti M, Veeramachaneni A, Shelef L. 2004. Factors affecting the antilisterial effects of nisin in milk. *International Journal of Food Microbiology*. 97(2): 215–219. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.06.010.

Castro G, Valbuena E, Briñez W, Sánchez E, Vera H, Tovar A. 2009. Comparación del empleo de nisina y cultivos de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* para la biopreservación de queso blanco. Facultad de Ciencias Veterinarias- Universidad Zulia FCV-LUZ. [accessed 2017 nov 4]; 19(2): 201–209. Disponible en línea en <https://www.saber.ula.ve/handle/123456789/28229>, Última comprobación el 04/11/2017.

Chambers IV E. 2014. Beverages a requirement for life and an opportunity to impact upon the way we live it. *Beverages*. 1(1): 1–2. DOI: 10.3390/beverages1010001.

Cornell University. 2007. Pasteurized versus ultra-pasteurized milk - why such long sell-by dates? dairy foods science notes. Ithaca, New York: Cornell University; [accessed 2017 jun 10]. <https://foodsafety.foodscience.cornell.edu/sites/foodsafety.foodscience.cornell.edu/files/shared/documents/CU-DFSscience-Notes-Milk-Pasteurization-UltraP-10-10.pdf>, Última actualización el 10/10/2007, Última comprobación el 19/09/2017.

Fiallos Sonia. 2014. Opciones de procesamiento de mango para los pequeños productores del municipio de Comayagua [Tesis]. Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Tegucigalpa. Facultad de Ciencias Económicas. Disponible en línea en <https://tzibalnaah.unah.edu.hn/bitstream/handle/123456789/6456/TMSc00183.pdf?sequence=2&isAllowed=y>, Última comprobación el 28/09/2017.

Fox P, Uniacke-Lowe T, McSweeney P, O'Mahony J. 2015. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. 2nd ed. Switzerland: Springer; [accessed 2017 jun 22]. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-3-319-14892-2.pdf>

Fromm HI, Boor KJ. 2004. Characterization of Pasteurized Fluid Milk shelf-life attributes. *Journal of Food Science*. 69(8): M207-M214. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb09889.x.

Gharsallaoui A, Oulahal Nadia; Joly C, Degraeve P. 2016. Nisin as a Food Preservative. Part 1: Physicochemical Properties, Antimicrobial Activity, and Main Uses. *Food Science and Nutrition*. 56(8): 1262-1274. DOI: 10.1080/10408398.2013.763765.

Hassan M, Dar B, Rather S, Akhter R, Huda A. 2015. Physico-chemical, sensory and microbial characteristics of fruit flavoured milk based beverages during refrigerated storage. *Advances in Biomedicine and Pharmacy*. [accessed 2017 nov 4]; 2(1): 32–39. Disponible en línea en: https://www.researchgate.net/publication/273218827_Physico-chemical_sensory_and_microbial_characteristics_of_fruit_flavoured_milk_based_beverages_during_refrigerated_storage

Hess JM, Jonnalagadda S, Slavin J. 2016. Dairy Foods. Current Evidence of their Effects on Bone, Cardiometabolic, Cognitive, and Digestive Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 15(2): 251–268. DOI: 10.1111/1541-4337.12183.

Huertas R. 2010. Review bacterias ácido lácticas. Papel funcional en los alimentos. Facultad de Ciencias Agropecuarias. [accessed 2017 jun 29]; 8(1): 93–105. Disponible en línea en <http://revistabioteecnologia.unicauca.edu.co/revista/index.php/bioteecnologia/article/download/129/108>.

Hunter lab. 2008. Application Note 1018.00: Using hitch standardization on a series of color measuring instruments. USA. [accessed 2017 nov 1]. <https://support.hunterlab.com/hc/en-us/articles/204138175-Using-Hitch-Standardization-on-a-Series-of-Color-Measuring-Instruments-AN-1018b>

ISO (International Standard). 2011. Rubber latex-determination of apparent viscosity by the Brookfield test method [Internet]. 4. TISI library; [accessed 2017 ago 16]. Disponible en línea en: http://www.tla-latex.org/activity_pic/20160727121655.pdf

Mitra S, Mukhopadhyay BC, Biswas SR. 2011. Potential application of the nisin Z preparation of *Lactococcus lactis* W8 in preservation of milk. Letters in Applied Microbiology. 53(1): 98–105. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2011.03075.x.

Montoya J, Giraldo G, Lucas J. 2012. Determinación del índice de blancura en harina de trigo comercial. Vitae. 19(1): 415–416. Disponible en línea en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169823914130>.

Msagati A. 2013. Chemistry of Food Additives and Preservatives. Stabilisers, Gums, Thickeners and Gelling Agents as Food Additives. 1 ed. South Africa: John Wiley & Sons, Ltd; [accessed 2017 jun 22]. <http://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-1118274148,subjectCd-FOZ0.html>.

Peralta I et. al. 2009. Impacto de las bacteriocinas importancia como preservante. Teoría y Praxis Investigativa. [accessed 2017 jun 26]; 4 (2): 28–30. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3726666.pdf>.

Petrus R, Loiola C, Oliveira C. 2010. Microbiological shelf life of pasteurized milk in bottle and pouch. Journal of Food Science. 75(1): M36-40. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2009.01443.x.

Quintero V, Giraldo G, Lucas J, Vasco J. 2013. Caracterización fisicoquímica del mango comun (*Mangifera indica* L.) durante su proceso de maduración. Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial. [accessed 2017 jun 12]; 11 (1):10–18. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6117807.pdf>.

Radha K. 2014. Nisin as a biopreservative for pasteurized milk. Indian Journal Veterinary and Animal Sciences. [accessed 2017 sep 15]; 43(6): 436–444. [http://www.tanuvass.in/ijvasr/vol43\(6\)/436-444.pdf](http://www.tanuvass.in/ijvasr/vol43(6)/436-444.pdf).

Rizzolo A, Cortellino G. 2017. Ricotta Cheese Whey-Fruit-Based Beverages. Pasteurization Effects on Antioxidant Composition and Color. Beverages. 3(1): 15. DOI: 10.3390/beverages3010015.

Ross P, Morgan S, Hill C. 2002. Preservation and Fermentation: past, present, and future. *International Journal of Food Microbiology*. 79:3–16. DOI: 10.1016/S0168-1605(02)001745.

SAGARPA. 2016. Boletín de Leche. SAGARPA. Mexico. SAGARPA; [accessed 2017 sep 26]. <https://www.gob.mx/siap/>.

Secretaria de Agricultura y Ganadería. 2001. Reglamento para la inspección y certificación sanitaria de la leche y los productos lácteos [internet]. Tegucigalpa: Secretaría de Agricultura y Ganadería. [accessed 2017 sep 14]. <https://honduras.eregulations.org/media/Reglamento%20para%20la%20inspeccion%20y%20certificacion%20sanitaria%20de%20la%20leche%20y%20los%20productos%20lacteos.pdf>.

Singh Z, Singh R, Sane V, Nath P. 2013. Mango - Postharvest Biology and Biotechnology. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 32(4): 217–236. DOI: 10.1080/07352689.2012.743399.

Tafreshi. 2015. Survey study of lipid effect on nisin nanoliposome formation. *Applied Food Biotechnology*. [accessed 2017 sep 10]; 2(2): 7–14. <http://journals.sbm.ac.ir/afb/article/view/8012>.

United States Public Health Service. 2015. Grade "A" pasteurized milk ordinance. pmo, del 2015. fuente: pasteurized milk ordinance 2015 Revisión. [internet]. EE.UU: FDA. [accessed 2017 jun 12]. <https://www.fda.gov/downloads/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/milk/ucm513508.pdf>.

Villarroel Morales A. 2006. Evaluación de tres tratamientos post-pasteurización en salchichas tipo hot dog Marca zamorano [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Zamorano-San Antonio de Oriente. Disponible en línea en <http://hdl.handle.net/11036/784>, Última comprobación el 04/11/2017.

Yanes M, Durán L, Costell E. 2002. Rheological and optical properties of commercial chocolate milk beverages. *Journal of Food Engineering*. 51(3): 229–234. DOI: 10.1016/S0260-8774(01)00061-9.

7. ANEXOS

Anexos 1. Hoja de evaluación sensorial.

Boleta de respuestas, Prueba de Aceptación

Código: _____

Sexo: M ☐ F ☐

Fecha: _____

Instrucciones: Se le presentará 4 muestras de bebida láctea con mango, galleta de soda y un vaso de agua.

Antes y después de cada muestra tomada limpiar su paladar con agua y galleta.

Evalúe la apariencia antes de probar cada muestra.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Me disgusta extremadamente	Me disgusta mucho	Me disgusta moderadamente	Me disgusta poco	Ni me gusta/ni me disgusta	Me gusta poco	Me gusta moderadamente	Me gusta mucho	Me gusta extremadamente

Coloque el número en el cuadro, indicando su grado de aceptación.

Muestra _____

Muestra _____

Muestra _____

Muestra _____

Atributos	Calificación	Atributos	Calificación	Atributos	Calificación	Atributos	Calificación
Apariencia		Apariencia		Apariencia		Apariencia	
Color		Color		Color		Color	
Olor		Olor		Olor		Olor	
Viscosidad		Viscosidad		Viscosidad		Viscosidad	
Sabor		Sabor		Sabor		Sabor	
Dulzura		Dulzura		Dulzura		Dulzura	
Aceptación General		Aceptación General		Aceptación General		Aceptación General	

Por último, por favor indicar la muestra de su preferencia: _____

COMENTARIOS:

Anexos 2. Modelo de frecuencia para la evaluación sensorial de preferencia.

TRT	Frequency	Percent	Cumulative Frequency	Cumulative Percent
1N2.0G	36	35.64	36	35.64
1N0.5G	5	4.95	41	40.59
0N2.0G	32	31.68	73	72.28
0N0.5G	28	27.72	101	100.00

Anexos 3. Correlación 1N2.0G de análisis sensorial de preferencia.

	Apariencia	Color	Olor	Viscosidad	Sabor	Dulzura	AG
Apariencia	1	0.7321	0.5749	0.2944	0.2681	0.2398	0.3917
		<.0001	<.0001	0.0028	0.0067	0.0157	<.0001
Color	0.73205	1	0.5536	0.3271	0.3296	0.4141	0.4986
	<.0001		<.0001	0.0008	0.0008	<.0001	<.0001
Olor	0.5749	0.5536	1	0.3954	0.4471	0.3701	0.5959
	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	0.0001	<.0001
Viscosidad	0.29435	0.3271	0.3954	1	0.6102	0.4813	0.6843
	0.0028	0.0008	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001
Sabor	0.26809	0.3296	0.4471	0.6102	1	0.7758	0.8266
	0.0067	0.0008	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001
Dulzura	0.23981	0.4141	0.3701	0.4813	0.7758	1	0.7899
	0.0157	<.0001	0.0001	<.0001	<.0001		<.0001
AG[£]	0.39168	0.4986	0.5959	0.6843	0.8266	0.7899	1
	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	

[£] Aceptación General

Anexos 4. Correlación 1N0.5G de análisis sensorial de preferencia.

	Apariencia	Color	Olor	Viscosidad	Sabor	Dulzura	AG
Apariencia	1	0.7645	0.4472	0.4803	0.3387	0.371	0.4127
		<.0001	<.0001	<.0001	0.0005	0.0001	<.0001
Color	0.76447	1	0.5466	0.4299	0.2497	0.2454	0.3737
	<.0001		<.0001	<.0001	0.0118	0.0134	0.0001
Olor	0.4472	0.5466	1	0.4354	0.3876	0.3393	0.4235
	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	0.0005	<.0001
Viscosidad	0.48028	0.4299	0.4354	1	0.5878	0.4088	0.6477
	<.0001	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001	<.0001
Sabor	0.33868	0.2497	0.3876	0.5878	1	0.8198	0.8086
	0.0005	0.0118	<.0001	<.0001		<.0001	<.0001
Dulzura	0.37102	0.2454	0.3393	0.4088	0.8198	1	0.6979
	0.0001	0.0134	0.0005	<.0001	<.0001		<.0001
AG[£]	0.4127	0.3737	0.4235	0.6477	0.8086	0.6979	1
	<.0001	0.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	

[£] Aceptación General

Anexos 5. Correlación 0N2.0G de análisis sensorial de preferencia.

	Apariencia	Color	Olor	Viscosidad	Sabor	Dulzura	AG
Apariencia	1	0.8086 <.0001	0.4997 <.0001	0.5676 <.0001	0.4621 <.0001	0.4545 <.0001	0.5537 <.0001
Color	0.80861 <.0001	1	0.4945 <.0001	0.4626 <.0001	0.4202 <.0001	0.4176 <.0001	0.4997 <.0001
Olor	0.49968 <.0001	0.4945 <.0001	1	0.4807 <.0001	0.6012 <.0001	0.5578 <.0001	0.6188 <.0001
Viscosidad	0.56758 <.0001	0.4626 <.0001	0.4807 <.0001	1	0.6135 <.0001	0.5887 <.0001	0.7154 <.0001
Sabor	0.46214 <.0001	0.4202 <.0001	0.6012 <.0001	0.6135 <.0001	1	0.8183 <.0001	0.8601 <.0001
Dulzura	0.45449 <.0001	0.4176 <.0001	0.5578 <.0001	0.5887 <.0001	0.8183 <.0001	1	0.8645 <.0001
AG[£]	0.55365 <.0001	0.4997 <.0001	0.6188 <.0001	0.7154 <.0001	0.8601 <.0001	0.8645 <.0001	1

[£] Aceptación General

Anexos 6. Correlación 0N0.5G de análisis sensorial de preferencia.

	Apariencia	Color	Olor	Viscosidad	Sabor	Dulzura	AG
Apariencia	1	0.7623 <.0001	0.5 <.0001	0.5013 <.0001	0.3897 <.0001	0.3908 <.0001	0.6014 <.0001
Color	0.7623 <.0001	1	0.6718 <.0001	0.482 <.0001	0.4683 <.0001	0.3939 <.0001	0.6316 <.0001
Olor	0.5 <.0001	0.6718 <.0001	1	0.5253 <.0001	0.4573 <.0001	0.4915 <.0001	0.5812 <.0001
Viscosidad	0.50133 <.0001	0.482 <.0001	0.5253 <.0001	1	0.5769 <.0001	0.5117 <.0001	0.6665 <.0001
Sabor	0.38966 <.0001	0.4683 <.0001	0.4573 <.0001	0.5769 <.0001	1	0.7302 <.0001	0.8144 <.0001
Dulzura	0.39075 <.0001	0.3939 <.0001	0.4915 <.0001	0.5117 <.0001	0.7302 <.0001	1	0.7211 <.0001
AG[£]	0.60143 <.0001	0.6316 <.0001	0.5812 <.0001	0.6665 <.0001	0.8144 <.0001	0.7211 <.0001	1

[£] Aceptación General