



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DEL SUBPRODUCTO DE LA
DECOCCIÓN DE *Hibiscus sabdariffa* SOBRE LAS
PROPIEDADES FUNCIONALES DEL QUESO FRESCO**

Por:

Cintha Kumiko García Utrera

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Cinthya Kumiko Garcia Utrera la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias.



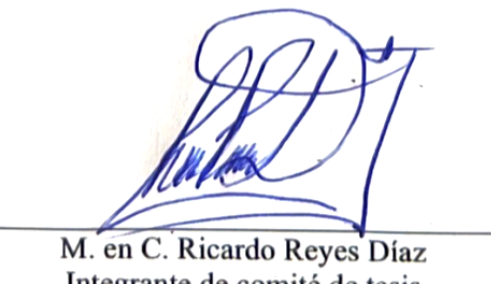
Dr. Aarón Fernando González Córdova
Director de Tesis



Dra. Sonia Guadalupe Sáyago Ayerdi
Co-directora de tesis



Dra. Belinda Vallejo Galland
Integrante de comité de tesis



M. en C. Ricardo Reyes Díaz
Integrante de comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "Efecto de Adición del Subproducto Derivado de la Decocción de *Hibiscus sabdariffa* sobre las Propiedades Funcionales del Queso Fresco" es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Cinthya Kumiko García Utrera, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Graciela Caire Juvera", written over a horizontal line.

Dra. Graciela Caire Juvera
Directora General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (Conahcyt) por el apoyo económico durante el periodo del postgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C, (CIAD) por la oportunidad de poder formar parte de esta gran institución y aprender de ella.

Al Red para el Fomento de la Calidad e Inocuidad en Queserías Artesanales en Iberoamérica (QuesArte) 122RT0126 del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (Cyted) de la cual soy integrante.

Quiero agradecer al Dr. Aaron Fernando González Córdova por haberme dado la oportunidad de poder cumplir otra meta en mi vida académica, por su paciencia y por los consejos otorgados a lo largo de toda esta experiencia, muchas gracias por aceptar ser mi director de tesis.

A la Dra. Sonia Guadalupe Sáyago Ayerdi por su disponibilidad para brindarme asesoramiento y consejos para el mejoramiento de este estudio. Muchas gracias por proporcionarnos la jamaica que fue necesaria para poder llevar a cabo este trabajo. Ha sido un honor para mí que haya aceptado ser codirectora de esta tesis.

A la Dra. Belinda Vallejo Galland por sus aportación y observaciones para poder mejorar este trabajo, también quiero agradecer al M. en C. Ricardo Reyes Díaz por todos esos consejos académicos que fueron muy valiosos para poder concluir este gran proyecto que sin duda alguna sin su experiencia no hubiera sido posible, también quiero agradecerle por su apoyo coordinando los procesos de evaluación sensorial.

Un agradecimiento especial a: M. en C. Arantxa Almada Corral, M. en C. María del Carmen Estrada Montoya, M. en C. Maritza Castro Salomón, la M. en C. María Alejandra Ospina

Romero, M. en C. Miguel Ángel Rendón Rosales, M. en C. Teresita de Jesús Castillo Romero, M. en C. Ildelfonso Guerrero Encinas, Ing. Alejandra López Pérez, Ing. Diana Guadalupe Hernández Aguilar, Dr. Adrián Hernández Mendoza, Dr. Manuel Alejandro Vargas Ortiz, Dr. Joel Said García Romo, Dr. José Isidro Méndez Romero, Dra. Lourdes Santiago López, Dra. Lilia María Beltrán Barrientos, Dra. María de Jesús Torres Llanez, Ing. Jesús Ayala Zavala, Biol. Miguel Enrique Pérez Blanco e Ing. Oscar Espejel Espejel, por su valiosa participación y dedicación como panelistas entrenados en el panel de evaluación sensorial del presente trabajo. Muchas gracias a todos (as) por ser parte fundamental para el desarrollo del presente trabajo.

LCC. Marovi Cortéz Guzman, Lic. Denia Josefina Huez Acuña y CP. Marco Antonio Ruiz Acuña por su apoyo en el cumplimiento de los tramites requeridos para la culminación de la tesis.

Al Dr. Adrián Hernández por su disponibilidad por sus acertados comentarios al presente trabajo. A la Dra. María de Jesús Torres por su apoyo en las determinaciones instrumentales y asesoría técnica. También quiero agradecer a la M. en C. María del Carmen Estrada por instruirme en el trabajo de laboratorio, por su asesoramiento y apoyo técnico.

A la Dra. Lourdes Santiago López, por estar presente cuando necesite sus consejos académicos, pero también personales, gracias por compartirme sus conocimientos que han sido de gran apoyo para el avance de este trabajo.

A mis amigas Alejandra López, Maritza Salomón, Arantxa Almada, Diana Hernández, por brindarme su amistad, sin duda alguna han sido una parte fundamental en toda esta experiencia, gracias por todos los momentos vividos ha sido un placer conocerlas, las quiero mucho.

A mi amigo el M. en C. Miguel Rendon, gracias por tu amistad, por apoyarme y asesorarme con algunas técnicas de laboratorio.

A todos mis compañeros de laboratorio que compartimos muchos momentos agradables juntos: Jesús, Tere, Miriam, Miguel, Oscar, Rodrigo, Dr. Joel, Dr. Isidro, Dr. Manuel, Dra.

Lilia.

Finalmente, pero no menos importante a mi novio Ildfonso Guerrero Encinas que siempre creyó en mí y nunca me ha dejado rendirme, por motivarme a ser mejor persona y por nunca soltarme de la mano.

DEDICATORIA

A mi mamá

Sra. Marina Utrera Viveros

*Por enseñarme el valor de nunca rendirse,
por ser la mujer que me motiva día con día a luchar por mis sueños,
por creer en mí y amarme,
porque solo tú y yo sabemos que la vida no ha sido fácil
y aun así aquí estamos cumpliendo otra meta más juntas.
Te amo con todo mi corazón, este logro también es tuyo.*

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	7
LISTA DE CUADROS	10
LISTA DE FIGURAS	11
RESUMEN	12
ABSTRACT	14
1. INTRODUCCIÓN	16
2. ANTECEDENTES	18
2.1 Subproductos de la Industria Alimentaria	18
2.1.1 Generalidades de los Subproductos	19
2.1.2 Tipos de Subproductos.....	19
2.1.2.1 Origen animal	19
2.1.2.2 Origen vegetal	20
2.1.3 Valorización de los Subproductos de la Industria Alimentaria.....	21
2.2 Jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	21
2.2.1. Producción de Jamaica en México.....	21
2.2.2. Uso de la Jamaica.....	23
2.2.3. Composición Nutricional de la Jamaica	23
2.2.4. Compuestos Bioactivos de la Jamaica	24
2.2.5. Elaboración de Alimentos a base de Jamaica	25
2.2.6. Subproductos del Procesamiento de la Jamaica.....	26
2.3 Uso de la Jamaica como Ingrediente para el Desarrollo de Alimentos Funcionales	27
2.3.1. Alimentos a Base de Plantas	27
2.3.2 Productos Lácteos	28
2.4 Lácteos como Alimentos Funcionales.....	29
2.4.1 Leches Fermentadas.....	30
2.4.2 Quesos.....	31
2.4.3 Uso de Vegetales como Ingredientes Funcionales en los Quesos.....	32
2.4.4 Propiedades Bioactivas de Quesos Adicionados con Ingredientes Vegetales.....	33
3. HIPÓTESIS	35
4. OBJETIVOS	36
4.1 Objetivo General.....	36
4.2 Objetivos Específicos	36

CONTENIDO (continuación)

5. MATERIALES Y MÉTODOS	37
5.1 Obtención del Subproducto de los Cálices de Jamaica.....	37
5.2 Elaboración del Queso Fresco con Cultivo Iniciador Adicionado con Cálices de Jamaica	37
5.3 Evaluación Sensorial	39
5.4 Composición Nutricional del Queso Adicionado con Cálices de Jamaica.....	39
5.5 Determinación de Vida de Anaquel.....	40
5.5.1 Análisis Microbiológico.....	40
5.5.2 Análisis Sensorial.....	40
5.6 Obtención de Extractos Solubles del Queso Fresco	43
5.7 Evaluación de la Capacidad Antioxidante	43
5.7.1 Determinación de la Capacidad Antioxidante por el Método de ABTS.....	43
5.7.2 Determinación de la Capacidad Antioxidante por el Método de ORAC	44
5.7.3 Determinación de la Capacidad Antioxidante por el Método de DPPH.....	44
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
7.1 Conteo Microbiológico en Cultivo Iniciador, Cuajada y Queso Fresco.....	47
7.2 Evaluación Sensorial.....	48
7.3 Composición Nutricional.....	52
7.4 Vida de Anaquel	54
7.4.1 Análisis Microbiológico	54
7.4.2 Análisis Sensorial.....	56
7.5 Determinación de Capacidad Antioxidante	58
7.5.1 Determinación de la capacidad antioxidante por el método de ABTS	58
7.5.2 Determinación de la capacidad antioxidante por el método de ORAC	60
7.5.3 Determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH	62
8. CONCLUSIONES	64
9. RECOMENDACIONES	65
10. REFERENCIAS	66

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Composición nutricional (%) de variedades de jamaica cultivadas en México ..24	
2. Escala de Karlsruhe para la calidad sensorial de alimentos.....42	
3. Cuenta viable de <i>Lactococcus lactis</i>48	
4. Composición nutrimental de quesos adicionados con cálices de jamaica53	
5. Análisis microbiológico de los quesos durante 17 días de almacenamiento a 10 °C..... 56	

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Morfología de la planta de Jamaica.....	22
2. Formato de evaluación sensorial para vida de anaquel del queso Fresco.....	42
3. Aceptación del aroma de los quesos con las diferentes concentraciones del subproducto de jamaica	49
4. Aceptación del sabor de los quesos con las diferentes concentraciones del subproducto de jamaica	50
5. Aceptación de textura de los quesos con las diferentes concentraciones del subproducto de jamaica	50
6. Aceptación de apariencia general de los quesos con las diferentes concentraciones del subproducto de jamaica.....	51
7. Aceptación general de los quesos con las diferentes concentraciones del subproducto de jamaica	51
8. Prueba de ordenamiento de aceptabilidad general de los quesos con las diferentes concentraciones del subproducto de jamaica.....	52
9. Evaluación de los atributos de aroma, sabor y textura de los quesos almacenados durante 17 días de almacenamiento a 10 °C	57
10. Capacidad antioxidante por el método de ABTS.....	60
11. Capacidad antioxidante por el método ORAC	61
12. Capacidad antioxidante por el método de DPPH	62

RESUMEN

Durante el procesamiento de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), los cálices derivados de la decocción representan un subproducto, generalmente tratado como desperdicio, que genera pérdidas económicas y problemas ambientales. Este subproducto se caracteriza por su alto contenido de fibra dietaria y de fenoles que, además de sus propiedades nutricionales ha demostrado ciertos beneficios a la salud, por lo que podría ser considerado ingrediente potencial para la formulación de nuevos alimentos. El queso Fresco contiene compuestos de probada actividad biológica, por lo que la utilización de los cálices como ingrediente en el queso, podría añadirle valor enriqueciéndolo con fibra e incrementando sus componentes bioactivos. Lo anterior contribuiría a evitar el desperdicio y diversificaría las opciones de nuevos alimentos, principalmente para pequeños productores de quesos artesanales. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición del subproducto derivado de la decocción de jamaica en las propiedades funcionales y sensoriales de queso Fresco con cultivo iniciador. Para ello, se elaboró queso con la adición de *Lactococcus lactis* y diferentes concentraciones de cálices de jamaica. Mediante un panel sensorial entrenado, se seleccionó la concentración de mayor aceptabilidad, al cual se le evaluó la composición nutrimental, vida de anaquel (microbiológica y sensorial) y capacidad antioxidante (ABTS, DPPH, ORAC). El queso Fresco adicionado con 2% de cálices mostró mayor aceptabilidad y fue superior ($p < 0.05$) en contenido de fibra y proteína, respecto al queso testigo. Durante su almacenamiento, no se registró presencia de coliformes totales, hongos y levaduras. La calidad sensorial presentó diferencias significativas durante los primeros nueve días de almacenamiento en aroma, sabor y textura con respecto a un queso recién elaborado, manteniéndose la frescura del producto en una calidad excelente-buena de acuerdo con la escala de Karlsruhe. A partir del décimo día, la calidad disminuyó gradualmente hasta los 17 días de almacenamiento sin alcanzar el grado III de calidad que corresponde a un deterioro indeseable; este comportamiento fue significativamente igual entre un queso con cultivo y queso con cultivo y jamaica. El queso con cultivo iniciador y jamaica logró incrementar ($p < 0.05$) la capacidad antioxidante; respecto al queso testigo (DPPH y ORAC), e incrementó hasta 8 veces por ABTS. En este sentido, la adición de cálices mantuvo la inocuidad y calidad sensorial del queso Fresco durante su almacenamiento por 17 días, potencializando sus propiedades nutricionales y

funcionales al incorporarle fibra dietaria y compuestos antioxidantes.

Palabras clave: *Hibiscus sabdariffa*, capacidad antioxidante, fibra, evaluación sensorial, queso Fresco

ABSTRACT

Calyces derived from the decoction of jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) are considered a byproduct, since it becomes waste after being processed, which presents economic loss and environmental issues. This byproduct is characterized by its high content of dietary fiber and phenolic compounds, which in addition to their nutritional properties, it provides beneficial health effects; thus, it may be considered as a potential functional ingredient for the development of new foods. On the other hand, it has been reported that Fresco cheese may provide bioactive compounds; however, the addition of calyces may give added value by enriching with fiber and increasing with other bioactive compounds. This approach may help reduce waste and diversify the options for new functional foods, mainly for the small-scale artisanal cheese producers. Thus, the objective of the present study was to determine the effect of adding calyces derived from the decoction of jamaica on the functional and sensory properties of Fresco cheese added with starter culture. For this purpose, cheese added with *Lactococcus lactis* starter culture was made with three different concentrations of jamaica calyces. Afterwards, a sensory evaluation by a trained panel selected the most acceptable concentration of calyces. Then, the nutritional, compositional, shelf life (microbiological and sensory) and antioxidant capacity (ABTS, DPPH and ORAC) were evaluated. Results showed that Fresco cheese added with 2% of calyces presented the highest acceptability and exhibited a higher ($p<0.05$) content of fiber and protein compared to the control cheese. During storage, total coliforms, molds and yeasts were not detectable. Sensory quality showed significant differences during the first nine days of storage in terms of aroma, flavor and texture, compared to freshly made cheese. Also, this cheese maintained its freshness at an excellent/good quality level according to the Karlsruhe scale. After the tenth day, the quality gradually decreased until the 17th day of storage, without reaching the level III of quality, which corresponds to undesirable deterioration; this behavior was not significantly different between the cheese with a starter culture and the cheese with a starter culture and calyces. Moreover, the cheese added with starter culture and calyces presented an increased ($p<0.05$) antioxidant capacity (DPPH and ORAC) and was 8 times higher by ABTS compared to the control cheese. In this sense, the addition of calyces maintained the safety and sensory quality of Fresco cheese during its 17th-day storage, enhancing its nutritional and functional properties by incorporating dietary fiber and

antioxidant compounds.

Key words: *Hibiscus sabdariffa*, antioxidant capacity, fiber, sensory evaluation, cheese Fresh

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la industria alimentaria es responsable de generar una gran cantidad de subproductos derivados de los alimentos; a su vez, esto representa un problema a nivel mundial, ya que, al ser desechados, pueden causar efectos negativos al ambiente, sociedad y la economía (Ominski *et al.*, 2021). México, es el tercer país con mayor producción de alimentos en América Latina, generando 280 millones de toneladas, de las cuales se estima que cada año, una tercera parte es desechada durante la cadena de suministro (Bolom-Martínez *et al.*, 2017). Por su parte, los subproductos al ser generalmente desechados podrían estarse desaprovechando, puesto que aún podrían poseer valor biológico. Al respecto, se ha reportado que algunos de estos subproductos, tales como cáscara de mango, orujo de uva y cálices de jamaica, poseen compuestos con alta funcionalidad y/o bioactividad, los cuales podrían ser revalorizados para elaborar nuevos productos (Francisco-Ponce *et al.*, 2021).

México se ha destacado en la producción de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), tan solo en 2019 se reportó una producción de 7 mil 889 toneladas (SAGARPA, 2021). Esto último es de gran importancia comercial, ya que la industria alimentaria ha utilizado a los cálices de la jamaica, principalmente para la elaboración de bebidas; sin embargo, los subproductos generados no son aprovechados. Existe evidencia de que estos residuos tienen compuestos fenólicos (3-4%), a los cuales se les ha atribuido diversos efectos benéficos, tales como: anti-obesogénicos, antihipertensivos, antiinflamatorios y antimicrobianos (Riaz y Chopra, 2018). En este sentido, recientemente se ha explorado la posibilidad de incorporar alimentos de origen vegetal a matrices alimentarias de origen animal, observando que en algunos casos esta práctica puede prolongar la vida de anaquel del producto, atribuyendo dicho efecto a sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Villasante *et al.*, 2018). Por otro lado, se ha observado que la incorporación de *H. sabdariffa* en productos lácteos como el yogurt, aumentan significativamente sus propiedades inmunomoduladoras (Homayouni *et al.*, 2021; Mahfudh *et al.*, 2021; Minh, 2021).

Por ejemplo, la incorporación de extractos de jamaica en queso tipo Feta no afectó sus propiedades sensoriales; sin embargo, no se reportó efecto alguno sobre las propiedades funcionales o bioactivas que se puede obtener de dicha combinación (Yikmis *et al.*, 2017). Otro producto lácteo de amplio consumo es el queso Fresco, alimento tradicional en México, al cual se le atribuyen propiedades

benéficas a la salud, debido a su microbiota nativa y sus metabolitos, la cual viene condicionada por el tipo de leche y las técnicas artesanales aplicadas durante su producción (Torres-Llanez *et al.*, 2011). Aunado a lo anterior, los quesos Frescos generalmente son producidos a partir de leche cruda, con una gran diversidad de microorganismos que juegan un papel importante en las características sensoriales del queso (Tadjine *et al.*, 2020).

Algunas propuestas se han desarrollado con el objetivo de adicionar cultivos iniciadores y preservar propiedades sensoriales en los quesos artesanales. Por ejemplo, Reyes-Díaz *et al.* (2020) adicionaron cepas específicas de *Lactococcus lactis* en queso Fresco elaborado a partir de leche pasteurizada y reportaron que el producto final presenta características sensoriales similares a las de un queso Fresco artesanal. Por otro lado, la industria quesera ha tratado de presentar propuestas de nuevos productos, incorporando compuestos de origen vegetal (Gaglio *et al.*, 2021) que han resultado ser exitosas y atractivas para el consumidor. A pesar de lo anterior, no hay estudios que reporten la mezcla de subproductos de jamaica y queso Fresco mexicano, buscando mejorar sus propiedades bioactivas, colocando a los subproductos de la jamaica derivada de su decocción, como una potencial alternativa para mejorar características nutricionales y funcionales en este tipo de queso. Por esta razón, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición del subproducto derivado de la decocción de *Hibiscus sabdariffa* en las propiedades funcionales y sensoriales de queso Fresco adicionado con cultivo iniciador. Con lo anterior, se aprovecharía el uso de un subproducto alimentario para obtener un queso enriquecido con fibra y compuestos bioactivos con potenciales beneficios a la salud de las y los consumidores.

2. ANTECEDENTES

2.1 Subproductos de la Industria Alimentaria

2.1.1 Generalidades de los Subproductos

En la producción de alimentos es común que se generen grandes cantidades de residuos biodegradables, los cuales son considerados como pérdidas que se originan durante la cadena de suministro (producción, postcosecha y procesamiento) (Sharma *et al.*, 2019). Se estima que en el mundo se desperdician aproximadamente 1,300 millones de toneladas de alimentos por año que representa un costo de 750 millones de dólares y causa 3.3 millones de toneladas de emisiones de dióxido de carbono (López-Sánchez *et al.*, 2022). Existen reportes que indican que estos desperdicios, al acumularse, pueden convertirse en un medio de cultivo para el desarrollo de microorganismos que pueden ser perjudiciales para la salud humana (Ravindran y Jaiswal, 2016). En el 2015, México ocupó el tercer lugar en Latinoamérica en la producción de alimentos, siendo el décimo segundo lugar en todo el mundo y se estima que se desperdiciaron aproximadamente un 34% de los alimentos que se producen en el país (SAGARPA, 2018).

Los subproductos generados en la industria alimentaria actualmente han llamado la atención, ya que estos pueden ser incorporados como ingredientes o utilizarse para el desarrollo de nuevos alimentos funcionales y sustentables, debido a que estos subproductos pueden contener una gran cantidad de compuestos bioactivos (Lai *et al.*, 2016). Algunos de los más reportados son los compuestos fenólicos, carotenoides, ácidos grasos poliinsaturado y vitaminas, los cuales se pueden considerar de alto valor biológico (Comunian *et al.*, 2021).

Se ha evidenciado que algunos subproductos derivados de los alimentos sufren un importante porcentaje de pérdida. En este sentido, algunos ejemplos de alimentos que generan subproductos son los cereales (20%), raíces y tubérculos (35%), frutos oleaginosos y legumbres (20%), frutas y vegetales (35%), productos cárnicos (10%), pescados y mariscos (15%) y leche (10%) (Trigo *et al.*, 2020). De acuerdo con lo anterior, aunque la industria cárnica genera considerables porcentajes

de subproductos, es evidente que la industria de alimentos de origen vegetal es una de las principales generadoras en la cual se obtienen desde cáscara, semillas y orujo o bagazo (Puértolas y Barba, 2016).

2.1.2 Tipos de Subproductos

2.1.2.1 Origen animal. La industria cárnica genera una gran cantidad de subproductos, (considerados comúnmente como desperdicios) durante el procesamiento de la carne, los cuales representan un impacto ambiental negativo (Pinto *et al.*, 2022). Algunos ejemplos de subproductos generados son: sangre, hueso, piel, tejido graso, cuernos, pezuñas, patas y cráneos. Por otro lado, se ha evidenciado que la piel, hueso y cuerno pueden poseer colágeno, que es una fuente de péptidos bioactivos, a los cuales se le han atribuido propiedades benéficas como antihipertensivas y antitrombóticas (Galali *et al.*, 2020).

Otra de las industrias que genera una gran cantidad de subproductos, es la industria marina destacando la espina dorsal, aletas del vientre, branquias, cabeza, hígado, entre otras. Adicionalmente, estos subproductos se han utilizado como alimento para ganado, debido a que son ricos en proteína, ácidos grasos poliinsaturados y minerales como calcio y fósforo (Pateiro *et al.*, 2020). Por otro lado, el suero que se desecha durante la elaboración de quesos a base de leche de vaca u otras especies contiene numerosos nutrientes como lactosa, proteína, minerales y vitaminas. La proteína presente en este suero es considerada de alta calidad, por lo cual es comúnmente utilizada como suplemento para deportistas (Shanaziya *et al.*, 2018).

En este sentido, procesar algunos subproductos de la industria para su aprovechamiento puede ser costoso, por lo que se terminan desechando y generando un daño ambiental. Por este motivo, se han explorado nuevas estrategias que atiendan esta problemática, tales como el aprovechamiento de estos subproductos para la producción de nuevos alimentos (Toldrá *et al.*, 2016).

Hacer uso de subproductos de origen animal no solo podría representar una alternativa para el desarrollo de nuevos productos, sino que también se atacaría un problema ambiental que año con año ha ido en incremento. Además, estos subproductos no son los únicos que se generan dentro de la industria alimentaria, también existen los de origen vegetal, los cuales podrían ser un importante factor de estudio debido a su potencial uso como ingrediente funcional.

2.1.2.2 Origen vegetal. Los subproductos de las frutas y hortalizas son los residuos más abundantes en la industria de los alimentos, regularmente se utilizan como sustento para el ganado o compostaje (O'shea *et al.*, 2012). Se estima que entre el 40 y el 50% de los desechos totales pertenecen a raíces y tubérculos; mientras que los subproductos de las frutas y verduras representan del 10 al 35%, los cuales son desechados en forma de semilla, pulpa y cáscara (Dilucia *et al.*, 2020). Por ejemplo, el orujo (bagazo) de uva es el principal subproducto procedente de la elaboración del vino, donde la piel, los tallos y la raíz constituyen hasta el 20%, por lo que se estima que una gran parte de este alimento puede terminar en subproducto. Los subproductos de esta fruta se pueden utilizar para la producción de etanol, fibra y para la elaboración de aceite a partir de la semilla, solo por mencionar algunas aplicaciones (Schieber, 2017).

Otro de los subproductos reportados son los derivados del mango que, dependiendo de la variedad y tamaño, se compone principalmente de pulpa (33-85%), cáscara (7-24%) y semilla (9-40%), y se estima que entre 35-60% es desechado (Wall-Medrano *et al.*, 2020). La cáscara de mango es rica en compuestos bioactivos, tales como galolil glucósidos, mangiferina, hexósido de quercetina y gala-taninos (Sayago-Ayerdi *et al.*, 2021). Adicionalmente, la semilla de esta fruta contiene ácidos grasos esenciales como oleico, y linoleico; también contiene compuestos fenólicos, carotenoides, vitamina C y fibra dietética (Jahurul *et al.*, 2015). Otro de los principales frutos que pueden generar subproductos es la naranja, que se utiliza para obtención de jugo a partir de la pulpa, sin dar uso alguno a la cáscara, gabazo y semillas (Delgado y Fleuri, 2015).

Otros subproductos son aquellos derivados de la manzana y semillas de aguacate. Estos subproductos contienen 15% más de fenoles que la pulpa, por lo que en algunos casos han sido utilizados como ingredientes en la formulación de productos lácteos y panadería, con el fin de mejorar sus propiedades bioactivas (Socas-Rodríguez *et al.*, 2021). Ciertos subproductos como bagazo de aceitunas, uva y zanahoria se han utilizado como ingrediente para adicionar compuestos fenólicos en algunos alimentos. La adición de este tipo de compuestos puede brindar beneficios a la salud; por ejemplo, se ha observado que el bagazo de cáscara de tomate y manzana se han incorporado para potenciar propiedades bioactivas en productos lácteos, como los quesos y yogurt (Ueda *et al.*, 2022).

Los subproductos mencionados anteriormente, son algunos ejemplos derivados del procesamiento de alimentos de origen vegetal, y no es arriesgado mencionar que este sector genera una gran cantidad de subproductos no reportados, los cuales pueden ser de gran interés en la industria de

alimentos. En consecuencia, existe una gran oportunidad en el área de investigación para utilizar estos subproductos y diseñar nuevos productos alimenticios buscando conferirles o potenciar sus propiedades benéficas más allá de su aporte nutricional.

2.1.3 Valorización de los Subproductos de la Industria Alimentaria

El impacto del uso de los subproductos generados por el proceso de alimentos puede reflejarse en un aumento de la sostenibilidad en las cadenas productivas, disminuyendo las pérdidas y generando subproductos de gran provecho para la sociedad (Lavelli *et al.*, 2016). En la actualidad, los métodos asociados a la utilización de estos desechos se han vuelto una prioridad ecológica y económica, tomando como punto de partida que el uso de estos subproductos no debe impactar de manera negativa en la salud humana y el entorno ecológico (Galanakis, 2015). En la actualidad, existe un incremento en la demanda de alimentos funcionales, los cuales pueden ejercer efectos positivos en la salud, más allá de sus beneficios nutricionales. En general, los fenoles y flavonoides son algunos de los compuestos responsables de dichos efectos, los cuales, se pueden encontrar en una gran variedad de subproductos de origen vegetal (Helkar *et al.*, 2016).

En este sentido, se puede considerar que los subproductos procedentes del proceso de alimentos son una potencial fuente de compuestos bioactivos, que pueden ser utilizados para elaborar nuevos alimentos en beneficio de la salud. Adicionalmente, esta práctica impacta de manera positiva en aspectos ecológicos, sociales y económicos, transformando a la industria de los alimentos en empresas sustentables (Tapia-Quiroz *et al.*, 2022).

2.2. Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)

2.2.1 Producción de Jamaica en México

Hibiscus sabdariffa es una planta silvestre también conocida como rosa de jamaica, flor de jamaica

o jamaica; pertenece a la familia de *Malvaceae*, se cultiva principalmente en regiones tropicales y subtropicales, como India, Arabia Saudita, China, Malasia, Indonesia, Filipinas, Sudan, Egipto, Nigeria y México (Arslaner *et al.*, 2021). Es una planta de aproximadamente 2.5 metros de altura; su tallo es rojo, sus hojas son verdes y se observan en ella venas de color rojo, las cuales pueden ser largas o cortas. Además, sus flores aparecen de manera individual en los costados de las hojas, suelen ser amarillas, con un centro de color rosa o marrón, y cuando se marchitan, cambian a rosado (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2010). El cáliz es rojo y consta de 5 sépalos grandes con un collar (epicáliz) de 8 o 12 bractéolas alrededor de la base, cuando el cáliz se agranda se vuelve carnososo, crujiente y jugoso, siendo estos últimos los más utilizados de la flor de jamaica. En la figura 1 se puede observar la morfología de la planta de jamaica.

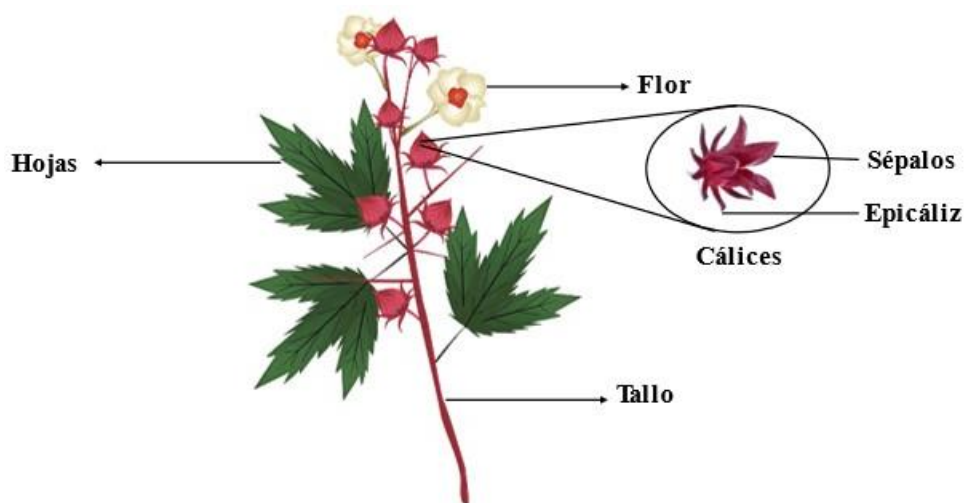


Figura 1. Morfología de la planta de jamaica, adaptada de Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014

México es un importante productor de jamaica en América Latina. Esta planta es cosechada desde el sur hasta el oeste de México. Para el año 2019, el país reportó una producción de 7 mil 889 toneladas de jamaica, destacándose el estado de Guerrero con 5 mil 810 toneladas, seguido de Michoacán con 884 toneladas y Oaxaca con 507 toneladas (SAGARPA, 2023). En este sentido, los cáliz de la jamaica generalmente se someten a un tratamiento térmico para deshidratarlos y posteriormente utilizarlos para la elaboración de distintos productos alimentarios como bebidas refrescantes (Sánchez-Feria *et al.*, 2021).

2.2.2 Uso de la Jamaica

La jamaica tiene una gran variedad de usos, utilizándose desde las hojas, semillas, flores y raíces, siendo los cálices rojos, los más usados en la industria alimentaria para la producción de bebidas, jugos, mermeladas y jarabes (Salami y Afolayan, 2020). Otro de los usos que se le confiere es como colorantes naturales, por contener ciertos pigmentos que le proporcionan un color rojo intenso y característico (Salem *et al.*, 2021). Adicionalmente, los cálices también se usan en infusiones calientes y en bebidas frías, en la elaboración de licores, pasteles, helados, mantequillas y salsas, entre otros (Anomohanran, 2014). Por otro lado, también es utilizada en la alimentación animal, desarrollo de nutraceuticos, cosméticos y en el área farmacéutica (Borrás *et al.*, 2015).

En México, se utilizan principalmente los cálices de jamaica para la elaboración de bebidas refrescantes y bebidas calientes, las cuales se caracterizan por presentar un fuerte color rojo después de la decocción de los cálices; el sabor de este se considera una combinación entre dulce y ácido (Ávalos-Martínez *et al.*, 2019). Sin embargo, en algunos procesos de elaboración, como en las bebidas refrescantes, es necesaria la decocción de los cálices secos de la jamaica y este proceso genera grandes cantidades de residuos que son considerados un problema económico y medioambiental (Esparza-Merino *et al.*, 2019). En contraste a lo anterior, existen muy pocos estudios que reporten el uso de los subproductos de la jamaica como ingrediente para mejorar propiedades bioactivas de otros alimentos.

2.2.3 Composición Nutricional de la Jamaica

La jamaica se caracteriza por su alto valor biológico, así mismo se ha reportado que contiene carbohidratos, fibra dietética, proteínas y minerales. En este sentido, la proporción de estos va a depender de la variedad genética de la planta (Riaz y Chopra, 2018). Por ejemplo, Sáyago *et al.* (2017), realizaron una caracterización nutricional de 20 variedades de jamaica cultivadas en México, las cuales muestran diferencias en su composición química, como se puede apreciar en la Tabla 1. La jamaica tiene una importante cantidad de proteína que va desde 7 a 14%, además de

poseer gran contenido de fibra dietaria soluble (8-10%); sin embargo, las cantidades pueden ser distintas dependiendo de la variedad de la jamaica. De manera complementaria, un estudio realizado por Tareq *et al.* (2021), evidencia que los cálices de la variedad de jamaica BJR mesta-2 cultivada en Bangladesh, son fuente potencial de calcio (1.3%), y potasio (1.9%).

Cuadro 1. Composición nutricional (%) de variedades de jamaica cultivadas en México Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2017

Variedad	Origen	Cenizas	Humedad	Proteína	Carbohidratos Totales	FDS
4Q4	Nayarit	7.87	9.70	14.09	36.17	10.07
Cruza negra	Nayarit	6.14	11.91	14.70	39.74	8.26
UAN 6 Puga	Nayarit	9.24	10.98	14.06	30.43	8.44
Puebla precoz	Colima	8.12	11.88	7.04	36.6	9.04
UAN 13	Oaxaca	6.98	10.08	13.14	36.73	8.96
UAN16	Oaxaca	10.87	9.83	10.61	32.72	9.18

FDS: Fibra dietaria soluble

2.2.4. Compuestos Bioactivos de la Jamaica

Adicional a sus propiedades nutricionales, la jamaica también contiene una gran diversidad de compuestos; entre los que se han documentado, podemos mencionar antocianinas, polisacáridos y flavonoides (quercetina, luteolina y su glucósido), ácido clorogénico, gosipetina, hibiscetina, fenoles y algunos ácidos fenólicos (ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido P-cumárico, ácido lágico, ácido protocatéquico, ácido clorogénico) (Ojulari *et al.*, 2019). De manera particular, diversos estudios han sugerido que las antocianinas que se encuentran en mayor proporción en la jamaica son: delfinidina-3-sambubiósido y la cianidina-3-sambubiósido (Singh *et al.*, 2017). A su vez, los cálices también poseen otros compuestos como aminoácidos esenciales a excepción del triptófano (Cid-Ortega y Guerrero-Beltrán, 2015). Sin embargo, el contenido de estos compuestos bioactivos

puede variar dependiendo del método de extracción, tipo de solvente y el tamaño de partícula del material. En algunos estudios se ha observado que los cálices de la jamaica tienen compuestos fenólicos (13-14 mg de equivalentes de ácido gálico/g), flavonoides (9-10 mg de equivalentes de catequinas/g) y antocianinas (5.3-5.7 mg de equivalentes de cianidina-3-glucósido/g). Así mismo, se reportan contenidos fibra dietaria de entre 39-44%, donde el 12-13% pertenece a la fibra soluble y 27-30% a la fibra insoluble (Amaya-Cruz *et al.*, 2017).

Considerando la información reportada, los cálices de jamaica podrían usarse como ingrediente para mejorar las propiedades bioactivas de matrices alimentarias, ya que basados en la evidencia, tiene nutrientes y compuestos con potenciales beneficios a la salud.

2.2.5. Elaboración de Alimentos a Base de Jamaica

La jamaica es utilizada en la industria de los alimentos como colorantes para gelatinas, refrescos y dulces; sin embargo, su principal uso está basado en la producción de bebidas. En la actualidad, existe una gran demanda de bebidas a base de plantas, en las que se tienen agradables características sensoriales y nutritivas (Pires *et al.*, 2019; Fosado-Quiroz *et al.*, 2021). Al respecto, las bebidas elaboradas a partir de la decocción de cálices de jamaica tienen gran demanda en el mercado, esto debido en parte a su agradable sabor y sus aportes a la salud de los consumidores (Salami y Afolayan, 2020). Estas bebidas refrescantes poseen compuestos como las antocianinas y fenoles con potenciales efectos positivos a la salud. Algunos efectos que se han documentado son antioxidantes, hipocolesterolémicos y antihipertensivos (Barajas-Ramírez *et al.*, 2020). Adicionalmente, las bebidas elaboradas con cálices de jamaica podrían ser un sustituto económico de las bebidas carbonatadas que se encuentran en el mercado con alto contenido de azúcar (Anomohanram, 2014).

La elaboración de licores es otro de los usos que se ha dado a la flor de jamaica, con características fisicoquímicas y sensoriales agradables para los consumidores, además de tener alto contenido de compuestos bioactivos. Esta bebida alcohólica es elaborada a partir de la fermentación del extracto acuoso obtenidos de la decocción de cálices de jamaica y se ha reportado que presentan propiedades antioxidantes (Gutiérrez-Salomón *et al.*, 2021; Ifie *et al.*, 2016).

2.2.6 Subproductos del Procesamiento de la Jamaica

Los cálices de jamaica se utilizan principalmente para la elaboración de bebidas refrescantes o calientes, donde los cálices se someten a una decocción a 100 °C durante 5 min (Riaz y Chopra, 2018). Durante este proceso, el agua utilizada se pigmenta de color rojo debido a compuestos como las antocianinas que se encuentran presentes en los cálices, compuestos que también pueden ejercer actividad antioxidante (Kurtulbaş *et al.*, 2020). Durante el proceso de elaboración de las bebidas se generan subproductos de los cálices procesados, que generalmente son desechados. Al respecto, Sáyago-Ayerdi *et al.* (2013), evaluaron la composición de dichos subproductos, observando que estos contienen altas cantidades de fibra dietaria (407.4 - 457.0 g/kg de materia seca), además de presentar propiedades antioxidantes (50.7 - 121.8 μ mol Trolox equivalente g/de materia seca).

Adicionalmente, Amaya-Cruz *et al.* (2017), realizaron un estudio donde se comparó el contenido de compuestos bioactivos presentes en los cálices secos de jamaica contra su subproducto después de una decocción. Así mismo, estos subproductos presentaron una gran cantidad de fibra dietética (66-67%), y posterior al proceso de decocción, los cálices retuvieron hasta un 50% de flavonoides (5.29- 5.76 equivalente de catequina mg/g), 56% de compuestos fenólicos (6.83-8.05 Eq. de ácido gálico mg/g) y 44% de antocianinas (2.35.2.51 mg/Eq. de cianidina-3-glucósido/g), principalmente delfinidina 3,5-o-diglucósido. Por otro lado, se ha reportado que en los residuos de la decocción se puede encontrar ácido cafeico, gálico y clorogénico (Mercado-Mercado *et al.*, 2015). En un estudio realizado por Esparza-Merino *et al.* (2019), observaron que la pectina extraída del subproducto de la decocción de cálices de jamaica presenta en su estructura altos grupos metoxilo, contenido de ácido galacturónico, viscosidad y capacidad gelificante.

El subproducto obtenido después del procesamiento de jamaica tiene múltiples beneficios, pero han sido poco valorados por la industria alimentaria. Por tal motivo, es importante buscar opciones para que estos subproductos puedan ser incorporados a otras matrices alimentarias, ya que ofrecen buenas propiedades nutricionales y bioactivas, además de contribuir a reducir el porcentaje de desechos de la industria.

2.3. Uso de Jamaica como Ingrediente para el Desarrollo de Alimentos Funcionales

2.3.1. Alimentos a Base de Plantas

Las plantas poseen una gran variedad de compuestos con potenciales efectos biológicos, que pueden ser dirigidos a mejorar la salud humana (Veiga *et al.*, 2020). Existe evidencia de que muchos productos de origen vegetal se han utilizado de forma tradicional para aliviar algunas enfermedades (Armendáriz-Barragán *et al.*, 2016).

Adicionalmente, algunos componentes de origen vegetal han sido utilizados para el desarrollo de nuevos alimentos. Antarkar *et al.* (2019), elaboraron galletas adicionadas con polvo de cálices de jamaica al 25%. Los autores reportaron que las galletas aumentaron su valor nutrimental, contenido de fenoles y capacidad antioxidante, además mejoraron sus propiedades sensoriales. Adicionalmente, se ha evidenciado que galletas saladas adicionadas con subproducto de la decocción de cálices de jamaica en diferentes concentraciones incrementaron el contenido de fibra dietaria y antioxidante, fenoles y flavonoides (Ahmed *et al.*, 2015).

Además, los cálices obtenidos de la decocción de jamaica, también se han incorporado en harina de maíz nixtamalizado para la elaboración de totopos, reportando un incremento en el contenido de fibra dietaria soluble e insoluble, fenoles totales y actividad antioxidante. De manera complementaria, evaluaron sus características sensoriales, y reportaron cambios en color y morfología del producto final (Mayo-Mayo *et al.*, 2020). Aunque son pocos los estudios que se han reportado, se tiene evidencia sobre el potencial uso de cálices de jamaica como ingredientes para la formulación de alimentos ya conocidos por sus propiedades funcionales, y que este subproducto incrementa tanto el valor nutricional como sus propiedades bioactivas. Sin embargo, es limitada la evidencia al momento sobre la incorporación de este subproducto en otras matrices alimentarias de origen animal, tal es el caso de los lácteos, los cuales son variados y de amplio consumo, además de poseer un perfil nutrimental óptimo para el desarrollo y mantenimiento del bienestar de nuestro organismo (Armas *et al.*, 2016).

2.3.2. Productos Lácteos

Diferentes productos lácteos son considerados como funcionales debido a su contenido de calcio, proteínas, esfingolípidos, butirato, ácido linoleico conjugado y bacterias ácido lácticas. Además, se ha evidenciado que algunos de estos productos contienen compuestos bioactivos que pueden ejercer cierta protección contra especies reactivas de oxígeno, modular el sistema inmunológico, entre otras (Khalaf *et al.*, 2021).

En cuanto la incorporación de jamaica a productos lácteos, no se cuentan con muchos estudios que documenten esta posibilidad. Sin embargo, uno de los alimentos al cual se ha incorporado el extracto de jamaica son las leches fermentadas, donde se ha favorecido la reducción de glucosa en sangre, hemoglobina glicosilada, así como también ayuda a reducir las lipoproteínas de baja densidad y a su vez aumentar las de alta densidad en modelos *in vivo* y mejorar sus propiedades antioxidantes, sin afectar su aceptabilidad (Su *et al.*, 2018; Su *et al.*, 2019). Aunado a lo anterior, esta reportado que, al adicionar mermelada a base de cálices de jamaica, en diferentes concentraciones, en yogur se logra observar presencia de compuestos fenólicos, así como un aumento de minerales y una mejora en la viscosidad, además de disminuir el pH y contenido de grasa (Arslaner *et al.*, 2021).

En estudios realizados por Rad *et al.* (2021), se ha evidenciado que la adición de extracto de jamaica en helado, se logró incrementar la actividad antioxidante y antimicrobiana. Por otro lado, un estudio exploró la adición del extracto de jamaica a un queso tipo Feta, y encontraron que no afectó su aceptabilidad. Sin embargo, no se reportó la calidad nutricional y propiedades bioactivas de dicho queso (Yikmis *et al.*, 2017).

En la gama de productos lácteos, el queso Fresco es un alimento tradicional de amplio consumo en México, al cual se le atribuyen propiedades benéficas a la salud, debidas a su microbiota nativa y los metabolitos derivados de esta (Torres-Llenez *et al.*, 2011). A pesar de lo anterior, hasta el momento no hay estudios que reporten la mezcla de subproductos de cálices de jamaica y queso Fresco mexicano, lo cual abre la posibilidad de explorar el mejorar las propiedades bioactivas de este tipo de producto. Basándose en la evidencia del presente escrito, se puede sugerir que los cálices de jamaica obtenidos después de su decocción, podrían ser utilizados como ingrediente para mejorar las propiedades bioactivas de alimentos lácteos, en beneficios de la salud del consumidor,

y dar uso a un subproducto poco valorizado para aumentar el valor nutricional y funcional del queso, tal como el tipo Fresco.

Por esta razón, investigar el efecto de la adición de diferentes niveles del subproducto de la decocción de los cálices de jamaica representa una estrategia prometedora para el diseño de nuevos alimentos funcionales.

2.4. Lácteos como Alimentos Funcionales

La idea de alimentos funcionales se presentó en Japón, alrededor de 1990, estos figuraban como una estrategia para prevenir enfermedades crónicas. Una definición de alimento funcional es aquel alimento que confiere efectos benéficos sobre la salud, más allá de sus componentes nutricionales (Roberfroid, 2002). Este tipo de alimentos deben ser seguros y cumplir determinados lineamientos, además de continuar siendo un alimento y no un suplemento. Estos pueden ser alimentos naturales, fortificados, adicionados, con exclusión de algún componente, o modificación de la biodisponibilidad de algún componente (Butnariu y Sarac, 2019). Adicionalmente, existen productos lácteos adicionados con bacterias probióticas, que aportan efectos benéficos en la salud del consumidor, promoviendo una mejor función gastro-intestinal (Das *et al.*, 2019).

Actualmente, el término leche es utilizado para referirse a la leche de vaca, producida por animales sanos, sin incluir la secreción láctica generada de entre quince a cinco días después del parto e incluso hasta que esté completamente libre de calostro (Pereida *et al.*, 2014). La leche y sus derivados son considerados como alimentos que aportan energía y nutrientes que ayudan al crecimiento y desarrollo del ser humano.

Al respecto, se ha evidenciado que la leche es fuente importante de calcio, proteínas y vitaminas. En este sentido, se estima que su composición es de aproximadamente 3.5% de proteína de las cuales 80% corresponde a la caseína y el 20% de proteína sérica. Aunado a esto, las proteínas como la caseína se consideran de alto valor biológico, ya que poseen en su estructura, todos los aminoácidos esenciales que el cuerpo humano necesita para un desarrollo óptimo (Armas *et al.*, 2016). Por otro lado, se estima que la leche tiene entre 3-4% de lípidos, principalmente triglicéridos, 4.6% de carbohidratos (lactosa) y 1% de minerales como calcio, fósforo, potasio,

magnesio y sodio. Así mismo, la leche contiene vitaminas como B1, B2, B6 (Verduci *et al.*, 2019); además posee una gran cantidad de compuestos beneficios a la salud como proteína, ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas y minerales. Los lácteos son alimentos de consumo frecuente en la sociedad por sus propiedades y por la gran variedad de productos que se pueden generar a partir de ellos, tales como yogurt, leche fermentada, crema y quesos, por mencionar solo algunos (Sukhikh *et al.*, 2019). Estos productos, *e.g.* leches fermentadas, se caracterizan por contener péptidos con diversas bioactividades como antioxidante, antihipertensivos y antitrombóticos (Beltrán-Barrientos *et al.*, 2016; Aguilar-Tóala *et al.*, 2017; Rendón-Rosales *et al.*, 2022), entre otros.

2.4.1 Leches Fermentadas

Las leches fermentadas se elaboran a partir de la adición de cultivos iniciadores que contienen bacterias ácido lácticas (BAL), estas acidifican rápidamente a la leche y por lo general son consideradas como seguras (GRAS) (Leroy y De Vuyst, 2004). Un cultivo iniciador se puede definir como una preparación microbiana con una gran cantidad de células que se utiliza principalmente para producir alimentos fermentados con el fin de acelerar el proceso de fermentación. Las BAL provocan una acidificación de la leche a través de la producción de ácidos orgánicos, principalmente el ácido láctico, además de la producción de ácido acético, etanol, compuestos aromáticos, bacteriocinas, exopolisacáridos y enzimas (Mathur *et al.*, 2020). En este sentido, las leches fermentadas se elaboran principalmente adicionando BAL como *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* o *Lactococcus lactis* (Li *et al.*, 2022). Algunos ejemplos de leches fermentadas son el yogurt y el kéfir (Savaino y Hutkins, 2020).

Se ha reportado que la adición de BAL en la elaboración de productos lácteos podrían generar cierto sabor y textura, modificando la proteína de la leche debido a sus actividades proteolíticas (Widyastuti *et al.*, 2014). Por otro lado, se ha reportado que la adición de ciertas BAL como *Lactococcus lactis* (NRRL B-50571) generan ciertos compuestos volátiles, principalmente ácidos, alcoholes, aldehídos y cetonas, además estas bacterias pueden generar péptidos, con diversas bioactividades (Beltrán-Barrientos *et al.*, 2019; Mendoza-Salazar *et al.*, 2021). Además, se ha reportado que el uso de esta cepa también tiene la capacidad de generar péptidos inhibidores de la

enzima convertidora de angiotensina, antioxidantes y ácido gamma-aminobutírico (GABA) (Rodríguez-Figueroa *et al.*, 2012). En este sentido, se ha reportado que el uso de este tipo de bacterias puede mejorar la vida útil de estos alimentos y, por otro lado, promover un control microbiano. Por tal motivo, la industria ha optado utilizar a las BAL para la elaboración de los productos fermentados, crema ácida, quesos, entre otros (Shiby y Mishra, 2013).

2.4.2 Quesos

El queso es uno de los alimentos derivados de la leche más consumidos a nivel mundial, este puede ser una fuente importante de compuestos bioactivos, como péptidos con capacidad antioxidantes y actividad inhibidora de la ECA. Los péptidos obtenidos de los quesos son liberados a partir de proteínas hidrolizadas por acción de BAL, durante la elaboración y maduración de este producto (Águilar-Toala *et al.*, 2021). Consecutivamente, algunos de los metabolitos de las BAL juegan un papel importante sobre las características sensoriales típicas deseadas en queso (Santiago-López *et al.*, 2018).

Particularmente en México, los quesos más populares y consumidos son elaborados a partir de leche de vaca, tales como el queso tipo Chihuahua, Quesillo y el Fresco. Además, en algunas regiones, también es utilizada la leche de oveja y cabra como materia prima para la elaboración de quesos; sin embargo, esta práctica es menos común (De la Rosa-Alcaraz *et al.*, 2020; González-Córdova *et al.*, 2016).

Aunado a lo anterior, el queso Fresco se caracteriza por un alto contenido de humedad, sabor cremoso y una vida útil corta, además al ser elaborado a partir de leche cruda, su sabor se ve influenciado por el microbiota nativa de la leche (Renyé *et al.*, 2008). De manera particular, se ha reportado que el queso Fresco tiene un contenido de humedad de 63.4%, proteína de 15.63%, grasa (15%) y un pH de 6 (Méndez-Romero *et al.*, 2021).

Adicionalmente, en la mayoría de las regiones, estos quesos, al ser elaborados partir de leche cruda, representan un problema en el sector salud, por no cumplir con las normas oficiales mexicanas (Cuevas-González *et al.*, 2017). Al respecto, se ha reportado que la leche cruda puede contener bacterias patógenas que representan un potencial peligro para la salud humana, por esta razón en

México existe una regulación para el uso de la leche bovina destinada a la elaboración de productos lácteos. Por tal motivo, la NOM-243-SSA1-2010 especifica que la leche que se utiliza para la elaboración de productos lácteos debe ser sometida a un tratamiento térmico que garantice su inocuidad, eliminando microorganismos patógenos que amenacen la salud del consumidor (SSA, 2010). Sin embargo, con esta práctica, se pierde una gran cantidad de BAL, modificando características sensoriales típicas deseadas en estos quesos (Santiago-López *et al.*, 2018).

En la actualidad, existe una preocupación por conservar a los quesos artesanales mexicanos, esto debido a que una buena cantidad de ellos, están en peligro de desaparecer por la falta de procesos estandarizados y por no cumplir con las normas de calidad y seguridad (Cuevas-Gonzales *et al.*, 2017). A pesar de esto, se han explorado alternativas para poder mejorar este desalentador panorama. Reyes-Díaz *et al.* (2021), realizaron un estudio donde agregaron cepas nativas de BAL como cultivos iniciadores. Los autores encontraron que dos cepas de *Lactococcus lactis* presentaron la capacidad de conferir características sensoriales deseables en quesos con leche pasteurizada, similares a un queso Fresco artesanal elaborado a partir de leche cruda.

En relación con lo anterior, añadir BAL como cepas de *Lactococcus lactis* es una estrategia prometedora para la estandarización en el proceso de producción de los quesos como el Fresco, cumpliendo las normas de calidad, además de conferirles características sensoriales similares a los quesos artesanales. Por otro lado, con la finalidad de mejorar las propiedades bioactivas, se ha hecho común la práctica de adicionar elementos de origen vegetal, a productos lácteos como el queso (Sukhikh *et al.*, 2019). Esto podría representar una idea prometedora para el desarrollo de alimentos lácteos funcionales con propiedades bioactivas en beneficio a la salud.

2.4.3 Uso de Vegetales como Ingredientes Funcionales en los Quesos

El uso de vegetales actualmente ha llamado la atención, ya que estos pueden ser incorporados como ingredientes para el desarrollo de nuevos alimentos funcionales debido a que estos contienen una gran cantidad de compuestos bioactivos (Lai *et al.*, 2016). Algunos de los más reportados son los compuestos fenólicos, carotenoides, ácidos grasos poliinsaturados y vitaminas (Comunian *et al.*, 2021). Por tal motivo, es de gran importancia conocer las propiedades bioactivas de los compuestos

presentes en los vegetales, los cuales tienen potenciales aplicaciones en el desarrollo de nuevos alimentos, con propiedades benéficas para los consumidores.

2.4.4 Propiedades Bioactivas de Quesos Adicionados con Ingredientes Vegetales

Actualmente, la industria láctea se ha dado a la tarea de buscar nuevas estrategias que mejoren aspectos sensoriales y bioactivos de los alimentos lácteos (Salehi, 2021). Como resultado de esto, en los últimos años ha ido incrementando el interés por añadir compuestos de origen vegetal a matrices lácteas, como los quesos, con el fin de ofrecer novedosos alimentos funcionales al mercado (Mohamed *et al.*, 2020). Existe evidencia de la adición de extractos de frutos rojos como la cáscara de *Jaboticaba* en quesos, debido a sus compuestos bioactivos como antocianinas y fenoles, aumenta la actividad antioxidante del queso (Martins-Madalão *et al.*, 2017). Acorde con esto, en el mismo estudio observaron que queso petit-suisse adicionado con extracto de cáscara de *Jaboticaba* aumenta la actividad antioxidante del producto final.

En conexión con lo anterior, está reportado que la cáscara de *Jaboticaba* es rica en fenoles y antocianinas, compuestos que son sugeridos para su uso en la industria de alimentos por su capacidad antioxidante y antimicrobiana (Bataglin-Avila *et al.*, 2020). Por otra parte, se ha evidenciado que el uso de aceite de aguacate como ingrediente en la elaboración de un queso Fresco, aumenta hasta el 52% la presencia de ácidos grasos poliinsaturados. Además, en este mismo estudio elaboraron un queso manchego adicionado con aceite de aguacate y se reportó que hubo un incremento de ácidos grasos poliinsaturados (Algarra *et al.*, 2015). Aunado a esto, hay estudios que reportan que este tipo de aceites tienen una compleja composición de ácidos grasos, algunos de los cuales ejercen actividad antiinflamatoria y efectos protectores a nivel cardiovascular (Flores *et al.*, 2019).

Así mismo, en otro estudio se reportó que la adición de 5% de pasta de aguacate en un queso Labneh, mejora la textura y de manera complementaria reportaron que no hubo efectos negativos en cuanto al sabor y apariencia (Mohamed *et al.*, 2020). Por lo tanto, la industria de productos lácteos se ha dado a la tarea de innovar, para ofrecer cada vez mejores productos que beneficien a la salud de los consumidores; por ello, se han buscado nuevas alternativas como adicionar diversos

ingredientes, tales como colorantes vegetales, con la finalidad de dar propiedades sensoriales más atractivas e incrementar su composición en compuestos bioactivos (Ritota *et al.*, 2022). Sin embargo, a pesar de lo anterior, no hay estudios que reporten la mezcla de subproductos como la jamaica y queso Fresco mexicano para potenciar sus propiedades bioactivas, lo cual abre la posibilidad de explorar el enriquecer este tipo de producto con cálices de la flor de jamaica derivada de su decocción. Los cálices podrían ser utilizados como ingrediente para potenciar la funcionalidad de los productos lácteos y así desarrollar alimentos funcionales con mayores propiedades benéficas a la salud del consumidor. A su vez, dar uso a un subproducto no valorizado para aumentar el valor nutricional y funcional de este tipo de queso.

Por esta razón, investigar el efecto de la adición del subproducto de la decocción de cálices de jamaica representa una estrategia prometedora para el diseño de un nuevo producto de queso Fresco como alimento funcional.

3. HIPÓTESIS

La adición del subproducto de la decocción de *Hibiscus sabdariffa* en la elaboración de queso Fresco que contenga cultivo iniciador, mejora las propiedades funcionales sin afectar sus propiedades sensoriales.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la adición del subproducto derivado de la decocción de *Hibiscus sabdariffa* en las propiedades funcionales y sensoriales de queso Fresco adicionado con cultivo iniciador.

4.2 Objetivos Específicos

- Determinar el nivel de adición del subproducto derivado de la decocción de la jamaica su efecto en las propiedades sensoriales del queso Fresco con cultivo iniciador.
- Evaluar la composición nutrimental y vida de anaquel del queso Fresco adicionado con el subproducto derivado de la decocción de cálices de jamaica.
- Evaluar la capacidad antioxidante del queso Fresco adicionado con el subproducto derivado de la decocción de la jamaica de mayor aceptabilidad.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Obtención del Subproducto de los Cálices de Jamaica

Los cálices de jamaica fueron proporcionada por el Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Tepic, del estado de Nayarit. La preparación de la muestra se realizó siguiendo la metodología reportada por Amaya-Cruz *et al.* (2019). Los cálices deshidratados se lavaron dos veces con agua destilada, posteriormente, se agregaron en agua purificada al 6% (p/v) y fueron sometidos a un proceso de decocción (100 °C, 10 min). Posteriormente, el líquido fue descartado y los cálices fueron recuperados, por decantación, y estos se dejaron reposar por 2 h a temperatura ambiente. Los cálices obtenidos fueron homogenizados (Osterizer, Blender, 465-42, EE. UU.) hasta obtener partículas de aproximadamente 0.5 x 0.01 cm, los cuales se usaron como ingrediente para su incorporación al queso Fresco.

5.2 Elaboración del Queso Fresco con Cultivo Iniciador Adicionado con Cálices de Jamaica

En esta etapa se utilizó la cepa de *Lactococcus lactis* NRRL-B-50571 como cultivo iniciador, ya que en estudios previos demostró conferir características típicas semejantes a las de un queso Fresco Mexicano artesanal (Reyes-Díaz *et al.*, 2020). La bacteria fue proporcionada por el Laboratorio de Química y Biotecnología de Productos Lácteos, del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD) de Hermosillo, Sonora, México. Para su propagación, la cepa almacenada a -80 °C, se descongeló y se inoculó al 1% (v/v) en caldo M17, suplementado al 5% (v/v) con lactosa (10% p/v), y se incubó por 18 h a 30 °C. seguido de dos subcultivos, uno de 6 h y 5 h con la finalidad de obtener cultivo fresco. Posteriormente, el cultivo bacteriano se centrifugó a 6,000 x g, 10 min, 4 °C, se retiró el sobrenadante, y el paquete celular se lavó 2 veces con 10 mL de una solución amortiguadora de fosfatos (0.32 mM, pH 7.2) (Reyes-Díaz *et al.*, 2021). Después del segundo lavado, el paquete celular se resuspendió al volumen inicial (10 mL). Para la

obtención del cultivo iniciador en leche, la bacteria lavada fue inoculada (1%, v/v) en leche en polvo descremada reconstituida (10%, p/v), previamente esterilizada (110 °C, 10 min), y se incubó por 8 h a 30 °C. El cultivo iniciador se agregó al 2% (v/v) considerando el total de leche a utilizar para la elaboración de queso Fresco.

Para elaborar los quesos Frescos se utilizó leche cruda proveniente del centro de acopio de la Comisión Estatal de la Leche de Sonora, ubicada en la localidad de Pesqueira, Sonora. El queso Fresco se elaboró siguiendo la metodología previamente reportada por Reyes-Díaz *et al.* (2020). Primero, la leche se pasteurizó (65 °C, 30 min), después se disminuyó la temperatura inmediatamente hasta alcanzar los 30 °C, temperatura a la cual se agregó el cultivo iniciador y se mantuvo a esta temperatura por una hora. Seguido a esto, se incrementó la temperatura a 35 °C, se agregó cuajo comercial (Cuajomex, Chr. Hansen, México) al 0.15% (v/v) y se dejó reposar por aproximadamente 90 min, hasta formar un gel firme, representativo de la coagulación de las proteínas de la leche.

Posterior al tiempo de coagulación, se realizó el corte del gel y se dejó reposar por 15 min aproximadamente, y por decantación se retiró el suero. Después de esto, se agregó NaCl al 3% (p/p) a la cuajada obtenida y se amasó manualmente para su incorporación homogénea en la cuajada. En este punto, la cuajada se dividió para elaborar tres quesos Frescos, a los cuales se les incorporó cálices de jamaica a diferentes concentraciones (1, 2, o 3%, p/p) y finalmente proceder con el moldeado que consistió en vaciar a la cuajada sobre una tela de manta en un molde de plástico. Una vez formados los diferentes quesos en molde de plástico, estos se dejaron reposar por 12 h en refrigeración (4 °C), posteriormente fueron desmoldeados y se guardaron en bolsas de plástico cerrados herméticamente, y se mantuvieron en refrigeraron a 4 °C por un día para realizar una evaluación sensorial. A partir de la misma leche, se procesaron un total de dos lotes de queso siguiendo el mismo proceso para contar con dos repeticiones experimentales en todas determinaciones del presente estudio.

Adicionalmente, se realizó el recuento en placa para conocer la concentración inicial y final del cultivo iniciador, así como durante el proceso de elaboración del queso Fresco (cuajada y queso). Para esta parte del estudio se siguió la metodología descrita por Méndez-Romero *et al.* (2021). Primero se tomó 1 mL del cultivo iniciador y se realizaron diluciones seriadas con agua peptonada, seguido a esto, se tomaron 100 µL de las dos últimas diluciones y se colocaron en placas de agar M17 (DifcoTM), previamente preparadas y suplementadas al 5% (v/v) con lactosa preparada a una

concentración de 10% (p/v). Para determinar la concentración celular en el queso, se tomaron 10 mL de leche o 10 g de queso y se mezclaron con 90 mL de agua peptonada estéril, y se siguió el procedimiento mencionado anteriormente. Las placas de M17 se incubaron por 48 h a 30 °C, se hizo el recuento de colonias y se calculó la concentración celular, reportándose como \log_{10} UFC/mL.

5.3 Evaluación Sensorial

Para determinar el porcentaje a adicionar de cálices en queso, se realizó una evaluación sensorial con un panel entrenado (n=9) con experiencia en calidad sensorial de productos lácteos para determinar la aceptabilidad de los quesos con los diferentes porcentajes de cálices. Para ello se empleó una escala hedónica de 9 puntos, donde 1 corresponde a “me disgusta totalmente” y 9 “me gusta totalmente” y se complementó con una prueba de ordenamiento de mayor a menor agrado de preferencia de cada uno de los quesos que se presentaron ante los panelistas.

5.4. Composición Nutricional del Queso Adicionado con Cálices de Jamaica

Una vez obtenido el queso con mayor aceptabilidad se elaboraron tres diferentes quesos; a) queso testigo (QT), (b) queso con cultivo iniciador (QCI), (c) queso con cultivo y jamaica (QCIJ). se realizó un análisis de la composición nutricional de QT, QCI y QCIJ, tomando como referencia las metodologías estándar de la AOAC (2000). Se determinó proteína por el método de micro-Kjeldahl (9910.20), grasa por el método de Babcock (989.04), cenizas por el método gravimétrico (990.19), humedad, sólidos totales utilizando método de secado por estufa (947.05) y fibra dietaria por el método enzimático-gravimétrico (991.42), acidez por titulación (920.124). Además, se registró pH mediante el potenciómetro Orion-modelo 710 (Orion Research InC., USA) y el contenido de NaCl (Sal) por el método de Volhard (935.43).

5.5 Determinación de Vida de Anaquel

5.5.1 Análisis Microbiológico

Se evaluó la vida de anaquel del QCI y QCII en condiciones de refrigeración (10 °C), considerando literatura previa en la que se especifica que un queso pasteurizado puede mantener sus propiedades sensoriales hasta por dos semanas en refrigeración (Saito *et al.*, 2019). Considerando estos antecedentes, se tomaron muestras a los 0, 4, 6, y 17 días de almacenamiento para realizar el conteo microbiológico. Para el análisis microbiológico, se tomaron 10 g de muestra de queso y se homogenizaron con 90 mL en agua peptonada, y se prepararon diluciones seriadas en la misma solución. Para el recuento de hongos y levaduras, estas se hicieron en agar PDA (Potato Dextrosa Agar, por sus siglas en inglés, (DIFCO Sparks, St. Louis Missouri, EE. UU), acidificado a pH de 3.5 con ácido tartárico preparado al 10% (FAGA^{LAB}, México), incubando las placas a 25 °C por 5 días. Los resultados obtenidos se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC/g). Los coliformes totales se determinaron con la técnica del número más probable (NMP). Para ello se utilizó caldo lauril sulfato como medio de cultivo (DIFCO, Spark, EE. UU), y dentro de los tubos se colocaron campanas durham (VWR International, Cherter, EE. UU). Los tubos se incubaron a 37 °C por 48 h. Los resultados obtenidos se expresaron como el NMP/g de muestra. Además, se realizó conteo bacteriano de *Lactococcus lactis* en placas de agar M17 (DIFCOTM), previamente preparadas y suplementadas al 5% (v/v) con lactosa (10% p/v). Las placas se incubaron a 30 °C por 48 h, los datos se reportaron como log₁₀ UFC/mL.

5.5.2 Análisis Sensorial

Se realizó una evaluación sensorial para determinar los cambios en el queso durante 17 días de refrigeración considerando las variables de aroma, sabor, textura y apariencia general (Rad *et al.*, 2020). Para la evaluación sensorial de las muestras, se contó con un panel entrenado conformado

por jueces con experiencia en calidad sensorial de productos lácteos. Previa a la evaluación de la calidad de las muestras, se realizaron diversas sesiones de reentrenamiento para familiarizarse con las muestras de estudio y para validar la precisión de los juicios emitidos por el panel.

La evaluación sensorial se realizó en el Laboratorio de Análisis Sensorial de la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal. A los panelistas se les entregaron muestras de aproximadamente 10 g de queso molido colocados en recipientes de plástico tapados, dichas muestras se codificaron con distintos códigos (tres dígitos) de manera aleatoria. Adicionalmente, se les proporcionaron galletas integrales no saborizadas y un vaso con agua para limpiar el paladar al final de la evaluación de cada muestra.

Bajo luz roja y en cabinas independientes, a los panelistas se les pidió que emitieran su juicio sobre la intensidad de los atributos de sabor, aroma y textura usando una escala semiestructurada de 9 cm, como se muestra en la figura 2, donde un valor de 9 era indicador de excelente calidad y equivalente a la muestra de referencia. En este caso, la muestra de referencia usada fue una muestra de queso (QCI, QCII) recién elaborada, empleada para evaluar cada respectivo tratamiento y que indican la fresca original del producto. Por otro lado, un valor de 0 indicaba una percepción diferente en cada atributo medido.

Los juicios emitidos sobre la escala fueron medidos a partir el valor de cero y promediados para todo el panel de jueces para obtener un valor en cada atributo por muestra. Los datos obtenidos fueron comparados usando la escala de calidad sensorial de Karlsruhe (cuadro 2) para indicar los cambios de la calidad del queso durante los días de almacenamiento bajo refrigeración (Romero-Espina, 2019; Ibarra *et al.*, 2012).

Prueba de aceptabilidad de queso	
Nombre: _____	Fecha: __31/03/2023__
<p style="text-align: center;">Instrucciones:</p> <p>Ante usted se encuentra una muestra de referencia de queso, la cual puede utilizar para recordar sus características. Así mismo se le presenta una muestra de queso problema. Ubique, según su apreciación en cada uno de los atributos, a la muestra problema con una X sobre su respectiva escala estructurada donde un valor de 9 es indicador de excelente calidad y equivalente a la muestra de referencia y 0 indica una percepción diferente de cada atributo. Sobre la X, que indica su juicio, coloque el código de cada muestra correspondiente. Con la finalidad de aclarar el paladar, consuma agua y galletas antes de degustar cada muestra y entre cada una de ellas.</p>	
<p>Muestra A</p> <div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center; gap: 20px;"> <div style="text-align: center;"> <p>Aroma</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>Sabor</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>Textura</p> </div> </div>	

Figura 2. Formato de evaluación sensorial para vida de anaquel del queso

Cuadro 2. Escala de Karlsruhe para la calidad sensorial de alimentos.

	Grados	Clasificación	Calificación
	Grado I	Excelente	9
Características típicas		Muy buena	8
		Buena	7
	Grado II	Satisfactoria	6
Deterioro tolerable		Regular	5
		Suficiente	4
	Grado III	Defectuosa	3
Deterioro indeseable		Mala	2
		Muy mala	1

5.6 Obtención de Extractos Solubles del Queso Fresco

Para la determinación de la actividad antioxidante, se obtuvieron fracciones <3 kDa siguiendo la metodología descrita por Torres-Llañez *et al.* (2011). Para ello, 25 g de muestra se homogenizaron en 50 mL de agua destilada, manteniendo en agitación constante (300 rpm, 30 min). La muestra homogenizada se mantuvo a 4 °C por 1 h. Posteriormente, se centrifugaron a 4600x g durante 35 min (SorvallTM ST 16 R, centrifuga, México) y el sobrenadante se filtró utilizando lana de vidrio. El extracto se ultrafiltró utilizando membranas <3 kDa (0.22 µm, Ultracel Amicon Ultrafiltration Discs: Millipore, Billerica, MA). Las muestras se conservaron en tubos falcon a -20 °C para su posterior análisis.

5.7 Evaluación de la Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó en los quesos QT, QCI, y QCIJ, por tres métodos; ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS, por sus siglas en inglés), Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés), y 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH, por sus siglas en inglés). Las metodologías utilizadas se encuentran descritas en la siguiente sección. Se preparó una solución de Trolox, la cual se utilizó como curva estándar (0-500 µM) y los resultados se expresaron como µM de equivalentes de Trolox/mg de proteína.

5.7.1 Determinación de la Capacidad Antioxidante por el Método de ABTS

Para evaluar la actividad antioxidante por el método ABTS se siguió la metodología descrita por Re *et al.* (1999). Para la formación del radical ABTS* (7 Mm), este se preparó en una solución de persulfato de sodio (2.45 Mm) y se dejó incubar en obscuridad por 16 h, a 30 °C. Posteriormente, el radical ABTS* se ajustó con PBS (0.05 mM, pH 7.2) hasta obtener una densidad óptica (DO₇₃₄

$_{nm}) = 0.70 \pm 0.02$ (SpectraMax M3 multimode microplate reader, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA). Una vez ajustada la solución, se utilizó 200 μL de ABTS* y se mezcló con 5 μL de la fracción <3 kDa, y se incubó por 7 min a temperatura ambiente y se midió la absorbancia.

5.7.2 Determinación de la Capacidad Antioxidante por el Método de ORAC

La capacidad antioxidante de las fracciones <3 kDa por el método de ORAC se determinó siguiendo la metodología establecida por Zulueta *et al.* (2009), con algunas modificaciones. Se mezcló 50 μL de muestra con 40 μL de fluoresceína (70 nM), en una microplaca de 96 pocillos, y se adicionó 30 μL de radical, 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihidro-clorido (AAPH) (221 mM). La pérdida de la fluorescencia se evaluó cada 5 min durante 5 h, 37 °C a una longitud de excitación de 485 nm y de emisión 535 nm (SpectraMax M3 multimode microplate reader, Molecular Devices, unnyvale, CA, USA)). Los datos obtenidos fueron normalizados con respecto a una curva estándar, utilizando PBS (50 mM, pH 7.2) como blanco. Posteriormente, los datos normalizados se utilizaron para determinar el área bajo la curva con la siguiente fórmula:

$$1 + \sum_{i=1}^{i=80} fi/f0$$

Donde $f_0=$ es la lectura de la fluorescencia inicial en tiempo 0 y $f_i=$ es la lectura de fluorescencia después de 5 h (Dávalos *et al.*, 2004; Zulueta *et al.*, 2009).

5.7.3 Determinación de la Capacidad Antioxidante por el Método DPPH

La capacidad antioxidante por el método DPPH se realizó siguiendo la metodología reportada por Herald *et al.*, (2012). El radical de DPPH se preparó en una solución de metanol al 80% y se agitó

por 40 min. Posteriormente, en una microplaca de 96 pocillos, se agregaron 25 μL de muestra y se mezclaron con 200 μL de la solución de DPPH. Las muestras se dejaron incubar por 30 min en oscuridad a temperatura ambiente, y se registró la absorbancia a 517 nm (SpectraMax M3). La actividad antioxidante se calculó en función de la curva estándar.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos de la evaluación sensorial se analizaron utilizando un diseño de mediciones repetidas y se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) al 95% de confianza. Al encontrar diferencias significativas se realizó una comparación de medias, aplicando la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer. Por otro lado, para las pruebas de composición nutrimental, vida de anaquel y capacidad antioxidante se utilizó un diseño completamente al azar de una vía, aplicando un análisis de varianza (ANOVA) al 95% de confianza. El experimento se realizó por duplicado y el análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico NCSS, 2021, versión 21.0.7.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Recientemente, se cuenta con registros de los compuestos presentes en los cálices de la jamaica y sus efectos sobre la salud. En este contexto, la fibra forma parte importante de estos cálices, a su vez, ésta puede ser soluble e insoluble, en las que se pueden encontrar polifenoles unidos a su estructura, lo que también da la clasificación de fibra antioxidante (Duarte-Valenzuela *et al.*,2016). Además, algunos de los compuestos bioactivos presentes en los cálices, como polifenoles extraíbles, no extraíbles y taninos condensados, también están asociados con capacidad antioxidante. Por otro lado, los compuestos fenólicos unidos a la fibra pueden llegar al colon y ser transformados por la microbiota intestinal en metabolitos benéficos para la salud (Sáyago-Ayerdi *et al.*,2021). En este trabajo, los cálices fueron sometidos a un proceso de cocción (100° C, 5 minutos) con agua purificada. Al respecto, algunos autores han reportado que los cálices de la jamaica después de un proceso de cocción conservan el contenido de algunos de sus compuestos bioactivos como fibra dietaria y polifenoles (Sáyago-Ayerdi *et al.*,2013). Por esta razón, es de gran importancia resaltar las ventajas de este tipo de subproducto y su potencial como un ingrediente complementario en queso Fresco para mejorar las características nutricionales, e incrementar su contenido en compuestos con capacidad antioxidante.

En las siguientes secciones se reportan los resultados obtenidos posteriores a la adición del subproducto de cálices de jamaica en queso Fresco con cultivo iniciador, su aceptabilidad con diferentes concentraciones de cálices de jamaica (subproducto), composición nutricional, vida de anaquel (calidad sensorial y microbiológica) y capacidad antioxidante.

7.1. Conteo Microbiológico en Cultivo Iniciador, Cuajada y Queso Fresco

Se monitoreó la viabilidad de la bacteria utilizada como cultivo iniciador (cuadro 3), inoculada en leche e incubada por 8 h a 30 °C donde se encontró una concentración inicial de $7.29 \pm 0.2 \log_{10}$ UFC/mL, y la concentración incrementó hasta dos logaritmos. Este incremento puede deberse a que *Lactococcus lactis* tiene la capacidad de utilizar a la lactosa como fuente de carbono para crecer

(Beltrán-Barrientos *et al.*, 2019). Por otro lado, esta concentración se mantuvo en la cuajada y en el queso después de desmoldarlo, lo que podría estar debido al contenido de lactosa en la leche utilizada como materia prima para la elaboración del queso (Mejorera *et al.*, 2023).

Cuadro 3. Cuenta viable de *Lactococcus lactis* durante el proceso de elaboración del queso Fresco

	<i>Lactococcus lactis</i> NRRL B- 50571 (Log₁₀ UFC/mL)
Concentración inicial del CI	7.29 ± 0. 2 ^a
Concentración del CI en leche pasteurizada	9.26 ± 0.15 ^b
Cuajada	9.43 ± 0. 88 ^b
Queso	9.35 ± 0.03 ^b

CI: cultivo iniciador. Literales diferentes en superíndices indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las diferentes etapas del proceso. Los resultados son expresados en media \pm desviación estándar ($n=2$).

7.2 Evaluación Sensorial

En las figuras 3-7 se observa la aceptabilidad que obtuvieron los quesos adicionados con cada uno de los porcentajes de jamaica. Para el caso de aroma (Figura 3), la incorporación del 2% de cálices mostró el mayor valor de aceptabilidad con 7.0 ± 0.51 , seguido del queso con 3% de cálices 6.53 ± 0.28 , y finalmente el queso con 1% de cálices 6.4 ± 0.15 ; sin embargo, no se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tipos de quesos. Respecto a la aceptación del sabor (Figura 3), se observó el mismo comportamiento, la aceptabilidad fue de 7.6 ± 0.57 , 6.5 ± 0.13 , y 6.0 ± 0.48 ; mientras que para textura (Figura 5) fue de 7.1 ± 0.33 , 5.7 ± 0.30 , 6.0 ± 0.68 , y en apariencia general (Figura 5) con 7.64 ± 0.2 , 5.5 ± 0.22 , 6.3 ± 0.13 , para los quesos adicionados con 1%, 2% y 3% ($p < 0.05$), respectivamente. Considerando los resultados en aceptación general, el queso adicionado con 2% de cálices de jamaica mostró mayor grado de aceptabilidad ($p < 0.05$) con un promedio de 7.35 ± 0.31 comparado con 6.27 ± 0.14 para 1% y 6 ± 0.51 para 3%, tal como se observa en la figura 6.

Además, en la prueba de ordenamiento también se observó que el queso de mayor preferencia fue el adicionado con el 2% de cálices (Figura 8). Basados en los resultados anteriores, el queso con 2% de cálices de jamaica fue el elegido para continuar con las siguientes determinaciones en el presente estudio.

En la literatura ya se ha reportado la adición de 2 a 5 % (p/p) de componentes de origen vegetal en quesos, porcentajes que han mostrado características sensoriales aceptables en este tipo de productos (Granato *et al.*, 2018). Por otro lado, se ha sugerido que la adición de estos componentes en quesos podría mejorar su valor nutrimental (Short *et al.*, 2021).

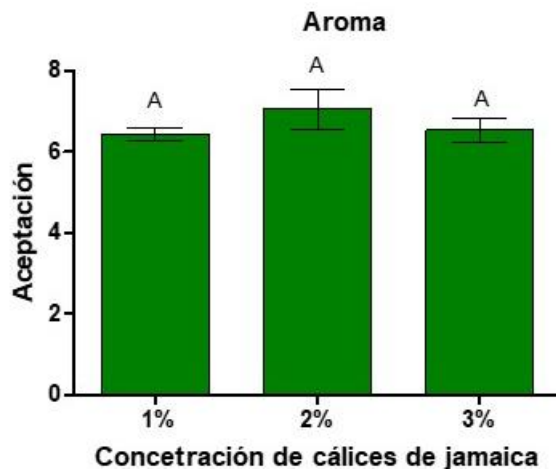


Figura 3. Evaluación del aroma en quesos elaborados con las diferentes concentraciones de cálices de jamaica. Literales iguales sobre la barra, indican diferencias significativas ($p>0.05$) entre quesos. Las barras representan la media \pm desviación estándar ($n=2$).

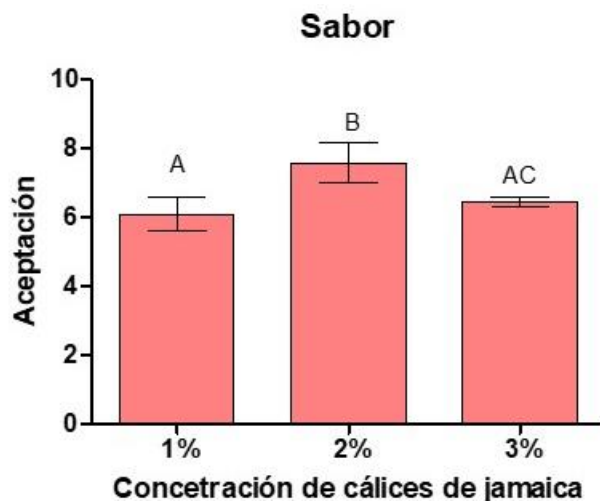


Figura 4. Evaluación del sabor en los quesos elaborados con las diferentes concentraciones de cálices de jamaica. Literales diferentes sobre las barras indican diferencias ($p < 0.05$) entre quesos. Las barras representan la media \pm desviación estándar ($n=2$).

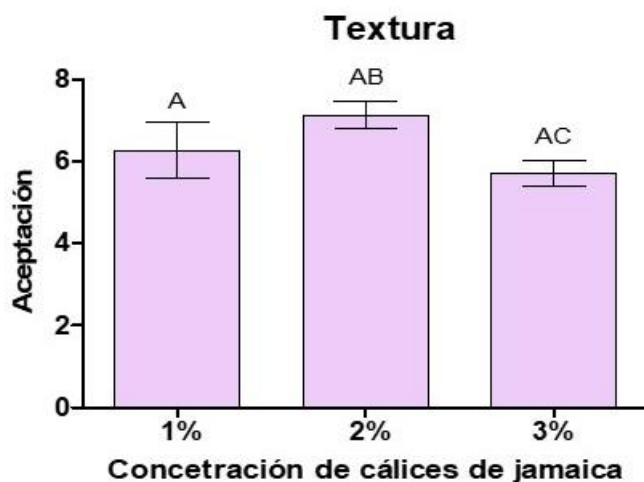


Figura 5. Evaluación de la textura en los quesos elaborados con las diferentes concentraciones cálices de jamaica. Literales diferentes sobre las barras indican diferencias ($p < 0.05$) entre quesos. Las barras representan la media \pm desviación estándar ($n=2$).

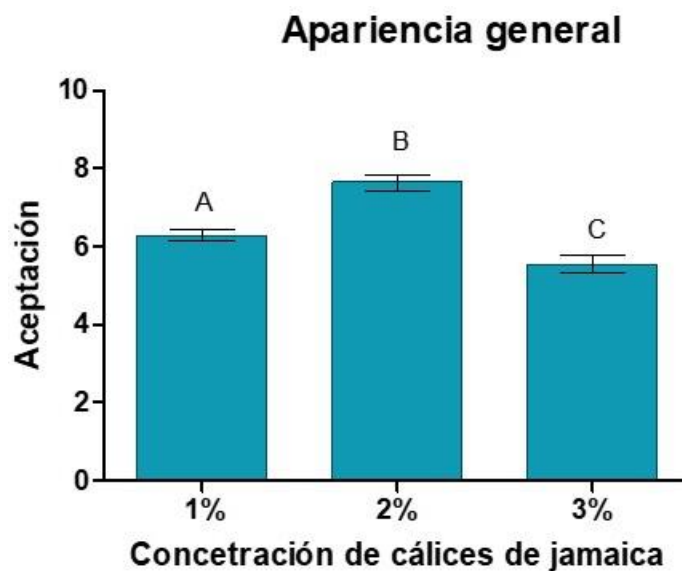


Figura 6. Evaluación de la apariencia general en los quesos elaborados con las diferentes concentraciones cálices de jamaica. Literales diferentes sobre las barras indican diferencias ($p < 0.05$) entre quesos. Las barras representan la media \pm desviación estándar ($n=2$).

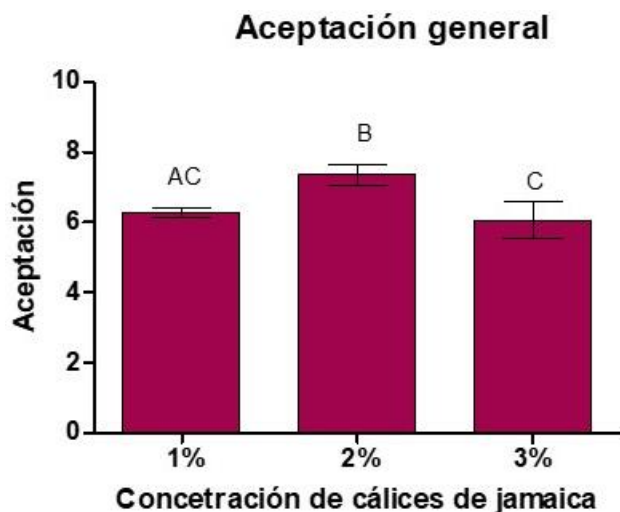


Figura 7. Evaluación general de los quesos elaborados con las diferentes concentraciones cálices de jamaica. Literales diferentes sobre las barras indican diferencias ($p < 0.05$) entre quesos. Las barras representan la media \pm desviación estándar ($n=2$).

Prueba de ordenamiento de aceptabilidad general

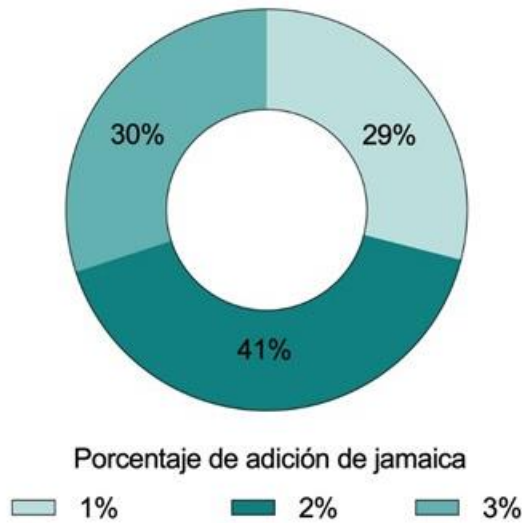


Figura 8. Prueba de ordenamiento de aceptabilidad general de los quesos con las diferentes concentraciones de cálices de jamaica

7.3 Composición Nutricional

En el cuadro 4 se muestran los resultados obtenidos de la composición nutricional de los quesos elaborados. Respecto al contenido de humedad, se observaron diferencias entre todos los quesos, donde QT presentó el mayor porcentaje de humedad. En cuanto a los sólidos totales, el QCI fue *ca.* 1.16 veces mayor a QCII y 1.18 veces mayor que el QT. En estudios previos, se ha reportado que la adición de cultivos iniciadores en la elaboración de quesos disminuye el contenido de humedad y aumenta el contenido de sólidos totales (Husein *et al.*, 2022). Esta disminución de humedad puede deberse a que la bacteria utilizada sea altamente acidificante, promoviendo con ello una mayor sinéresis en la cuajada, generando la separación del suero y provocando una mayor pérdida de humedad. De hecho, se ha reportado que una mayor acidez promueve una mayor sinéresis (Pastorino *et al.*, 2003) y por ende, resulta una mayor concentración de los sólidos totales. Además, se ha reportado que este fenómeno también puede ser consecuencia del proceso de elaboración de los quesos, así como por la presencia de calcio libre, que genera la unión de la caseína en la red de proteínas presentes en la cuajada (Ramírez-López y Vélez-Ruiz, 2012). Asimismo, se ha estimado que, durante la acidificación de la cuajada, se puede perder hasta tres

terceras partes de humedad (De la Rosa-Alcaraz *et al.*, 2019), tal como se observa en el contenido de humedad en los QCI y QCIJ del presente estudio.

Derivado de esta concentración de sólidos totales, el porcentaje de proteína se incrementó en QCI y QCIJ con valores de 16.23 y 14.21%, respectivamente y fueron significativamente diferentes a QT con 12.48%. Adicionalmente, se ha reportado que el uso de cultivos iniciadores en productos lácteos podría promover un ligero aumento en el porcentaje de proteína del producto final, debido a que las bacterias pueden generar una mayor proporción de proteínas solubles, aminoácidos libres y nitrógeno no proteico a partir de la matriz alimentaria (Tenea y Suarez, 2020).

Cuadro 4. Composición nutrimental de quesos QT, QCI, QCIJ

	Quesos		
	QT	QCI	QCIJ
Humedad (%)	61.82 ± 0.56 ^a	54.92 ± 0.45 ^c	56.08 ± 0.52 ^d
Sólidos Totales (%)	38.18 ± 0.56 ^a	45.08 ± 0.45 ^c	43.92 ± 0.5 ^d
Proteína (%)	12.48 ± 0.85 ^a	16.23 ± 0.20 ^b	14.21 ± 1.10 ^a
Grasa (%)	16.00 ± 0.01 ^a	24.00 ± 0.01 ^b	21.00 ± 0.01 ^b
Cenizas (%)	3.04 ± 0.021 ^a	2.67 ± 0.06 ^b	2.54 ± 0.09 ^b
FDT (%)	0	0.52 ± 0.04 ^b	1.40 ± 0.02 ^c
NaCl (%)	1.44 ± 0.05 ^a	1.55 ± 0.54 ^a	1.92 ± 0.13 ^a
Acidez	1.34 ± 0.01 ^a	8.18 ± 0.37 ^b	8.05 ± 0.56 ^b
pH	6.44 ± 0.16 ^a	4.98 ± 0.14 ^b	4.96 ± 0.03 ^b

QT: queso testigo, QCI: queso con cultivo, QCIJ: queso con cultivo más jamaica, Acidez: acidez titulable (% ácido láctico/L), FDT: fibra dietaria total. Los valores se reportan en base húmeda y expresados en medias ± DE (n=2). Literales diferentes en superíndices por renglón indican diferencia entre los quesos evaluados (p<0.05).

En los parámetros de ceniza, grasa, pH y acidez titulable, los quesos QCI y QCIJ mostraron diferencia (p<0.05), siendo estos los que presentaron mayor porcentaje de acidez, NaCl, valores más bajos de pH y menor porcentaje de cenizas en comparación con el QT. En estudios anteriores, se ha evidenciado que el uso de *L. lactis* NRRL-B-50571, generan una disminución del pH en queso Fresco, comparado con quesos sin cultivo iniciador y a sus propiedades acidificantes en leche (Reyes-Diaz *et al.*, 2019; Beltran-Barrientos *et al.*, 2019). En este sentido, una disminución de pH de quesos elaborados con cultivo iniciador puede estar condicionada por la acción del microorganismo sobre los carbohidratos del queso, a partir de los cuales forman ácido láctico, que

explicaría el decremento de pH en los quesos QCI y QCII en comparación con QT (Rodríguez-Oliva *et al.*, 2022).

Por otro lado, se encontró mayor porcentaje de fibra ($p < 0.05$) en el queso adicionado con los cálices de jamaica (QCII), y en QCI respecto a QT ($p < 0.05$). En este sentido, estudios previos han evidenciado que los cálices son fuente importante de fibra dietaria ($370-450 \text{ g/kg}^{-1}$), valores que pueden variar en función del contenido de humedad y variedad de la muestra evaluada (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2013). Convencionalmente, la fibra dietaria puede clasificarse en soluble e insoluble, que desde el punto de vista funcional es de gran importancia debido a que estas tienen efectos benéficos a la salud. Particularmente, la fibra dietaria soluble (FDS), una vez presentes en el tracto gastrointestinal, envía señales de saciedad (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2021). Además, sirve como sustrato fermentativo para el microbiota del colon, el cual puede ser transformado en ácidos grasos de cadena corta con beneficios a la salud. Por otro lado, la fibra insoluble (FDI) favorece a la motilidad intestinal, y es considerada como un sustrato potencial para el microbiota del colon; sin embargo, en menor proporción que la fibra dietaria soluble (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2016).

De manera complementaria, se ha reportado que algunas cepas de *Lactococcus lactis* son capaces de producir exopolisacáridos que pudieron aportar, de manera parcial, al aumento en el contenido de fibra en el QCI y QCII. Por lo anterior, la adición de cultivo y el subproducto de los cálices de jamaica en queso Fresco nos proporciona una potencial estrategia para elaborar un producto con mejores características nutricionales, aportando aproximadamente 0.42 g de fibra por cada 30 g de queso (base húmeda). Considerando que el Q no aporta fibra, la adición del subproducto de jamaica representa una ventaja, considerando que el consumo de fibra ayuda a evitar a prevenir enfermedades metabólicas y promueve una buena salud intestinal (Compaore-Sereme *et al.*, 2022).

7.4 Vida de Anaquel

7.4.1 Análisis Microbiológico

En el cuadro (5) se presentan información referente al análisis microbiológico de los quesos QCI

y QCIJ, durante 17 días de almacenamiento. Esto considerando que un queso Fresco pasteurizado puede durar hasta dos semanas en refrigeración posterior a su elaboración (Bezie, 2019). En el presente estudio solo se tomó en cuenta a los quesos adicionados con cultivo iniciador, debido a que, hasta el momento, no existe evidencia acerca de la vida útil de un queso Fresco adicionado con un cultivo de *L. lactis* NRRL B-50571. Los resultados obtenidos en el análisis microbiológico evidenciaron que la concentración inicial de *L. lactis* fue de 9.34 ± 0.01 para QCI y para QCIJ de $9.37 \pm 0.03 \log_{10}$ UFC/mL, sin encontrar diferencias significativas entre ambos quesos ($p > 0.05$). Sin embargo, los conteos de BAL fueron disminuyendo gradualmente durante el tiempo de almacenamiento sin sobrepasar una disminución de un ciclo logarítmico. Esta disminución podría deberse a la inhibición por sustancias antimicrobianas producidas durante la fermentación o por la disminución de fuente de carbohidratos. Asimismo, se ha reportado que BAL podrían comenzar procesos de autólisis debidos a cambios de temperatura o poca disponibilidad de carbono en el medio (Blaya *et al.*, 2018).

Durante el tiempo de almacenamiento, no se observó crecimiento de hongos y levaduras, ni de coliformes totales. Esto podría estar asociado a la actividad antimicrobiana de *L. lactis*, que en estudios previos ha mostrado capacidad de producir bacteriocinas, en particular nisina (Heredia-Castro *et al.*, 2017). En este sentido, se ha observado que el uso de BAL en alimentos inhibe el crecimiento de hongos y levaduras, debido a que estas bacterias podrían generar péptidos, ácidos grasos, así como a la presencia de ácidos orgánicos y compuestos de bajo peso molecular como péptidos (bacteriocina) con actividad antifúngica (Riesute *et al.*, 2021; Luo *et al.*, 2023).

Convencionalmente, el proceso de pasteurización también ayudo a disminuir la carga microbiana que se ha reportado en la leche cruda. Al respecto, la pasteurización ha sido un tratamiento eficaz para la reducción de microorganismos patógenos y por ende genera un producto inocuo por más tiempo, considerando un correcto manejo del alimento (buenas prácticas de higiene y manufactura) (Abdulstar *et al.*, 2023).

Adicionalmente, se observó que la adición de jamaica en el queso con cultivo iniciador no afectó la viabilidad de la bacteria en los primeros días de refrigeración. Esto es similar a lo que se ha reportado en estudios previos, donde se ha evidenciado que la adición de polvo de orujo (1% p/p) en queso fresco con cultivo iniciador (*L. lactis*) no afecta a su crecimiento y desarrollo durante 31 días de refrigeración (Barbaccia *et al.*, 2021).

Cuadro 5. Análisis microbiológico del queso Fresco durante su almacenamiento bajo refrigeración (10°C)

		Microorganismos											
Quesos	Coliformes (NMP)				Hongos y levaduras (UFC/mL)				<i>Lactococcus lactis</i> NRRL B- 50571 (Log ₁₀ UFC/mL)				
	Días de refrigeración												
	0	4	6	17	0	4	6	17	0	4	6	17	
QCI	<3				ND				9.34±0.01a	9.37±0.02a	9.07±0.02b	8.20±0.14c*	
QCIJ	<3				ND				9.37±0.03a	9.27±0.05a	9.44±0.12a	7.37±0.57b	

QCI (queso con cultivo), (QCIJ: queso con cultivo y jamaica) expresados en media ± DE (n=2). ND: no detectado. NPM (número más probable) por cada 10 mL. *Indica diferencias (p<0.05) entre muestras para el mismo tiempo de almacenamiento. Literales diferentes en subíndices indican diferencias significativas (p<0.05) entre tiempo de almacenamiento.

7.4.2 Análisis Sensorial

En la figura (9) se observan los puntajes promedio de la calidad sensorial en las variables de aroma (Figura A9), sabor (Figura B9) y textura (Figura C9) entre el queso con bacteria (QCI) y un queso con cálices de jamaica (QCIJ) durante el tiempo de almacenamiento. Los resultados muestran diferencia (p<0.05) hasta el día 9 de refrigeración para cada queso. Esto sugiere que a partir del noveno día de almacenamiento, la calidad de los atributos sensoriales de los quesos, tales como aroma, sabor y textura, comenzaron a disminuir gradualmente disminuyendo su aceptabilidad hasta alcanzar valores de 6 o inferior que equivale a una calidad de grado II en la escala de Karlsruhe (cuadro 2). Lo cual, si bien podría considerarse una calidad regular de deterioró tolerable, ya sería una característica de la pérdida de la frescura del producto. A partir de este día no se encontraron diferencias significativas con respecto a los días 13 y 17, lo que sugiere que dicha calidad se mantiene estable durante estos días de almacenamiento en refrigeración. Por otro lado, QCI y QCIJ mostraron tendencias semejantes en cuanto a los cambios sensoriales, en este contexto, no mostraron diferencias significativas (p>0.05) entre los quesos comparando los días de refrigeración. Lo que nos sugeriría que la adición de jamaica no afecta a la aceptabilidad del queso Fresco.

De manera general, la característica sensorial que tuvo mayor impacto en la calidad del queso fue la textura (Figura 9C) ya que durante los días 9, 13 y 17 de almacenamiento obtuvo puntajes por debajo de 5 como se puede observar en la figura 8C. Sin embargo, es importante destacar que la

presencia de cambios en las características sensoriales del queso no implica necesariamente que no sea agradable al paladar del consumidor. De hecho, aunque el queso ya no mantenga las características frescas en comparación con un queso recién elaborado, aún se puede consumir hasta 17 días después de su almacenamiento, esto basado en la escala de pérdida de la calidad propuesta por Karlsruhe que define diferentes grados de calidad de un alimento. Cabe mencionar, que cuando se trata de alimentos como el queso, existen variedades que sufren procesos de maduración que les permiten adquirir características sensoriales deseables (Kajak-Siemaszko *et al.*, 2022). Por lo tanto, el queso Fresco del presente estudio pudo presentar un proceso involuntario de maduración, que proporcionó cambios sensoriales, detectados durante el periodo de evaluación.

En este sentido y tomando en cuenta dicha escala, los panelistas proporcionaron puntajes en un rango de 5 a 6, indicando que el queso evaluado aún es considerado de calidad grado II en cuanto al aroma y sabor en comparación a un queso Fresco recién elaborado. En consecuencia, los resultados de este estudio sugieren que la adición del subproducto de jamaica no afecta las características sensoriales, las cuales se mantuvieron estables con referencia a un queso testigo durante el periodo de evaluación.

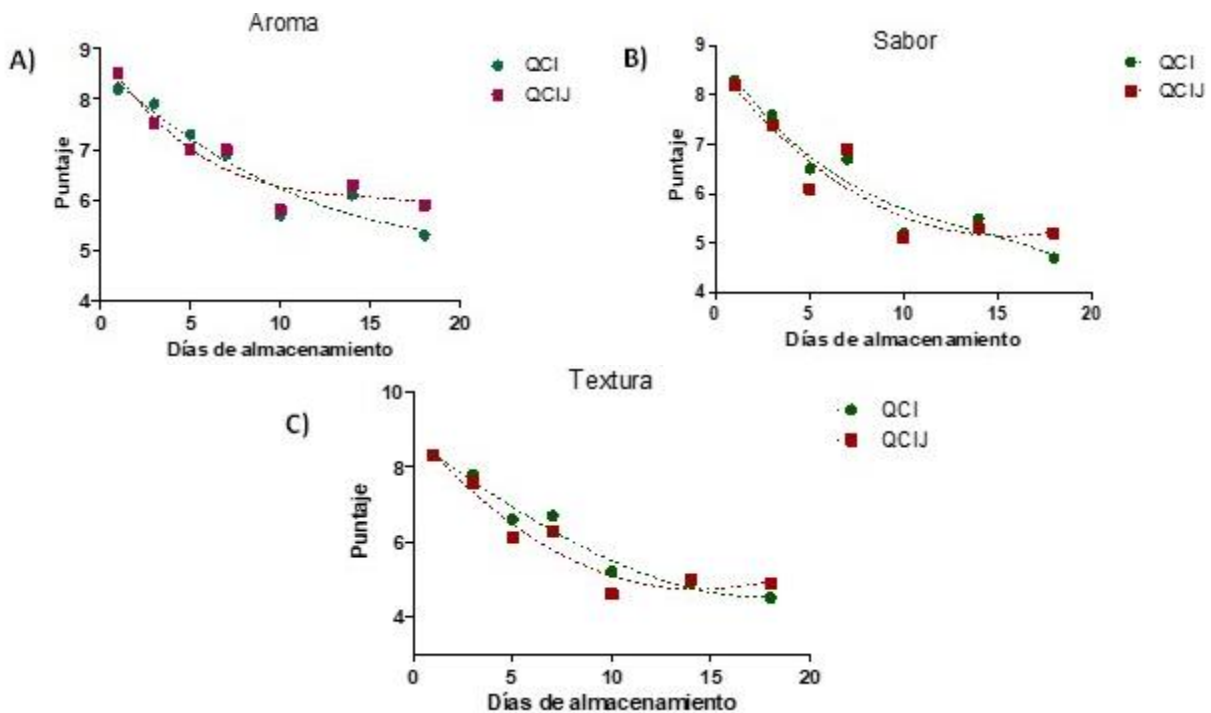


Figura 9. Evaluación de los atributos de aroma, sabor y textura de los quesos almacenados en refrigeración (10 °C). QCIJ: queso con cultivo y jamaica. QCI: queso con cultivo iniciador.

En general, el contenido de proteína, grasa y acidez encontrada en los quesos con cultivo iniciador y jamaica pueden contribuir al sabor y aroma característicos de estos productos lácteos. Las bacterias del género *Lactococcus* son responsables de la fermentación de la lactosa, lo que permite la producción de ácido láctico y otros metabolitos como compuestos volátiles y péptidos que influyen en las características sensoriales del queso (Torres-Llanes *et al.*, 2006). Se ha reportado que cepas específicas de *L. lactis* a partir de su proteólisis generan compuestos volátiles como ácidos, alcoholes, aldehídos y cetonas que confieren características de olor semejantes a las de un queso artesanal (Reyes-Días *et al.*, 2019). Por lo que los resultados de la aceptabilidad de QCI y QCIJ pudieron verse influenciados por producción de compuestos volátiles generados a partir de la adición del cultivo iniciador utilizado en este estudio.

7.5 Determinación de la Capacidad Antioxidante

7.5.1. Determinación de la Capacidad Antioxidante por el Método de ABTS

Para la determinación de la capacidad antioxidante se consideraron los tratamientos iniciales (QT, QCI, QCIJ) y se midió la capacidad a los 0, 9, y 17 días de almacenamiento.

En la figura (10) se puede observar la capacidad antioxidante por el método ABTS de los extractos completos (10A) y fracciones < 3 kDa (10B). En los extractos solubles se registró mayor capacidad antioxidante en los quesos QCI y QCIJ ($p < 0.05$) en comparación con el QT, pero después de 9 y 17 días de almacenamiento los quesos QCI y QCIJ presentaron un aumento de dicha capacidad a los 17 días de refrigeración (10 °C). Por otro lado, para las fracciones < 3 kDa obtenidas de los quesos QCI y QCIJ también presentaron mayor capacidad antioxidante en comparación con el QT ($p < 0.05$) durante su almacenamiento, observando un incremento significativo a los 9 y 17 días de almacenamiento ($p < 0.05$).

En general, los QCI y QCIJ presentaron mayor capacidad antioxidante en los extractos completos y fracciones < 3 kDa. Sin embargo, las fracciones < 3 kDa presentaron dos veces más capacidad antioxidante en comparación con los extractos completos. Esto se puede deber a que péptidos

generados por *L. lactis*, pueden tener en su estructura aminoácidos como tirosina, triptófano, metionina, cisteína, fenilalanina e histidina los cuales se han reportado como responsables de la actividad antioxidante (Srivastava *et al.*, 2022). En este sentido, se ha evidenciado que la secuencia y longitud de aminoácidos que conforman diferentes péptidos puede influir en su funcionalidad, por ejemplo, péptidos de menor tamaño tiene una tasa de absorción más alta, favoreciendo sus probabilidades de ejercer su efecto de manera sistémica en modelos vivos (Kleerebezem *et al.*, 2020; Beltrán-Barrientos *et al.*, 2018). Lo anterior nos podría indicar que los QCI y QCIJ tienen la capacidad de estabilizar el radical ABTS el cual se forma previamente por su oxidación con meta mioglobina y peróxido de hidrógeno (Aguilar-Toala *et al.*, 2019).

Por otro lado, en QCIJ también se puede encontrar polifenoles conferidos por la jamaica, los cuales, también contribuyen a la capacidad antioxidante observada en el queso (Shahidi y Dissanayaka, 2023). Particularmente, los cálices de la jamaica han sido asociados a capacidad antioxidante debida a su contenido de polifenoles extraíbles como antocianinas y polifenoles hidrolizables formados por galotaninos y elagitaninos, así como taninos condensados como las catequinas (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2016). A su vez, estos compuestos pueden ser parcialmente responsables del incremento de la capacidad antioxidante de QCIJ.

Estudios previos han reportado que la adición de compuestos fenólicos en la cuajada de quesos incrementa la capacidad antioxidante y la composición nutrimental del producto final (Han *et al.*, 2019). Así mismo, estudios realizados por Martins *et al.* (2019) reportaron que la adición de cáscara de Jabuticaba en queso petite-suite aumentó la capacidad antioxidante. Por su parte, en queso Ras, adicionado con chile jalapeño rojo, se observó el mismo efecto, atribuido principalmente a los compuestos fenólicos presentes en el chile (El sayed *et al.*, 2019). Trabajos de este tipo, sugieren que la adición de compuestos vegetales favorece la capacidad antioxidante del producto final.

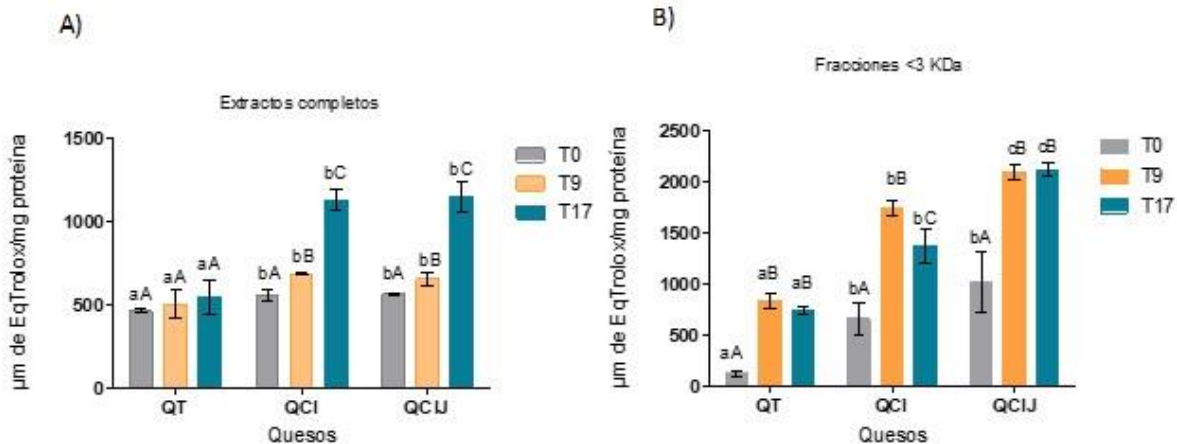


Figura 10. Capacidad antioxidante por el método de ABTS de QT (queso testigo), QCI (queso con cultivo iniciador), QCIJ (queso con cultivo y jamaica 2%). Resultados son expresados en medias \pm DE (n=2). Literales minúsculas indican diferencia ($p < 0.05$) entre quesos para cada tiempo de almacenamiento. Literales mayúsculas indican diferencia entre tiempos de almacenamiento para un cada queso.

7.5.2 Determinación de la Capacidad Antioxidante por el Método de ORAC

En la figura (11) se presenta la capacidad antioxidante por el método de ORAC. Los resultados muestran mayor capacidad en los quesos QCI y QCIJ (figura 11A). Sin embargo, durante el almacenamiento, la actividad de QCI disminuyó, pero en QCIJ aumentó dos veces comparado con QT, siendo el valor más alto con $1188.21 \mu\text{mol Eq. Trolox/mg proteína}$. Por otro lado, en las fracciones $< 3 \text{ kDa}$ (figura 11B), a los 0 días, los quesos QCI y QCIJ aumentaron la actividad 1.4 veces comparado con el QT. Al final del periodo de almacenamiento, el QCI y QCIJ fueron los que presentaron mayor actividad con 1490 ± 398.13 y $1869.44 \pm 323.67 \mu\text{mol Eq. Trolox/ mg proteína}$, respectivamente ($p < 0.05$).

Por su parte, algunos taninos $> 3 \text{ kDa}$ como el ácido siríntrico, los cuales permanecen en los cálices después de su decocción (Mercado-Mercado *et al.*, 2015) presentan capacidad antioxidante por el método de ORAC (Skroza *et al.*, 2022). A su vez, estos compuestos con capacidad de estabilizar radicales peroxilo, tienen más probabilidades de ejercer su efecto en organismos vivos (Prior y Cao *et al.*, 1999).

Adicionalmente, se ha reportado que puede existir una interacción entre compuestos fenólicos y proteína de la leche, dichas interacciones pueden darse por enlaces no covalentes, como

interacciones hidrofóbicas, enlaces de hidrógeno, atracción electrostática y fuerzas de Van der Waals (Yildirim-Elikoglu *et al.*, 2018). Lo que nos sugiere que compuestos fenólicos presentes en la jamaica pudieran interactuar con la proteína de la leche y ejercer efectos positivos en cuanto a la capacidad antioxidante reportada en este estudio. Adicionalmente, en estudios previos se reportó que flavonoides como las antocianinas pueden interactuar con la proteína de la leche y mejorar la estabilidad de dichos compuestos y aumentar la capacidad antioxidante (Ma *et al.*, 2022).

Los resultados de capacidad antioxidante por el método de ORAC nos sugiere que los péptidos derivados de QCI y QCIJ tienen mayor capacidad para inhibir la oxidación de radicales peróxidos.

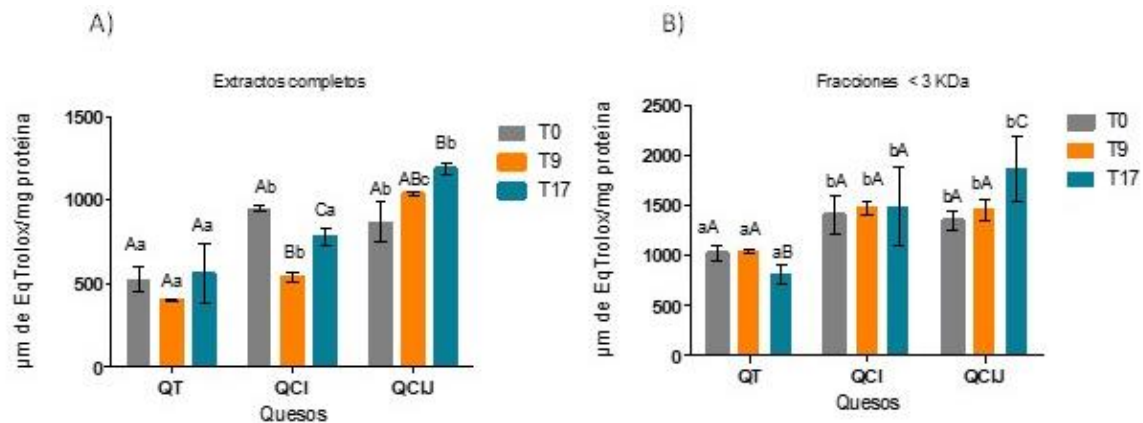


Figura 11. Capacidad antioxidante por el método de ORAC durante el período de almacenamiento (17 días) de QT (queso testigo), QCI (queso con cultivo iniciador), QCIJ (queso con cultivo y jamaica 2%). Resultados son expresados en media \pm DE (n=2). Literales minúsculas indican diferencia ($p < 0.05$) entre quesos para cada tiempo de almacenamiento. Literales mayúsculas indican diferencia entre tiempos de almacenamiento para un cada queso.

7.5.3 Determinación de la Capacidad Antioxidante por el Método DPPH

La actividad antioxidante por el método DPPH se pueden observar en la figura (12). En este caso, únicamente las fracciones < 3 KDa, mostraron capacidad. la fracción derivada del queso QCIJ presentaron mayor capacidad. Sin embargo, dicha capacidad antioxidante disminuyó significativamente a través del tiempo.

Se ha reportado, que cálices de jamaica antes y después de pasar por un proceso de decocción mantienen la misma capacidad antioxidante por el método de DPPH (Mercado-Mercado *et al.*, 2015). En este sentido, se ha evidenciado que metabolitos < 3 KDa presentes en las platas ejercen mayor capacidad de estabilizar el radical DPPH, comparado con moléculas de mayor tamaño (Arizmendi-Cotero *et al.*, 2017). Así mismo, algunos metabolitos presentes en los cálices como las antocianinas (de bajo peso molecular), pueden ser responsables de conferir mayor capacidad para estabilizar radicales como el DPPH (Tan *et al.*, 2022). Por otro lado, esta reportado que algunos compuestos antioxidantes presentes en los alimentos podrían perder su efectividad después de un tiempo de almacenamiento, lo que explicaría el decremento de dicha capacidad (Galani *et al.*, 2017). En este contexto, se ha reportado que la adición 2% de yerba de mate en queso tipo Fresco aumenta la capacidad antioxidante (Saraiva *et al.*, 2019), así como al agregar albahaca debido a los polifenoles presentes. Sin embargo, esta capacidad se disminuye durante el almacenamiento (Ribas *et al.*, 2019).

En resumen, la presencia de compuestos antioxidantes en el queso podría retrasar la oxidación del producto, favoreciendo con ello la calidad del alimento a través del tiempo (Choe y Min, 2009).

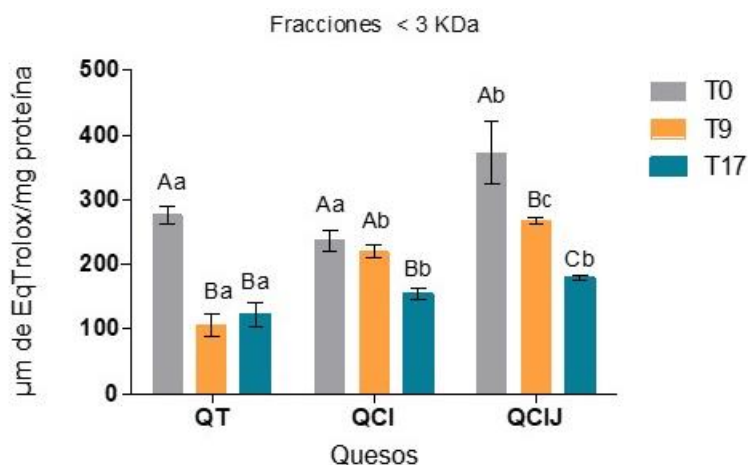


Figura 12. Capacidad antioxidante por el método de DPPH de QT (queso testigo), QCI (queso con cultivo iniciador), QCIJ (queso con cultivo y jamaica 2%). Resultados son expresados en media \pm DE (n=2). Literales minúsculas indican diferencia ($p < 0.05$) entre quesos para cada tiempo de almacenamiento. Literales mayúsculas indican diferencia entre tiempos de almacenamiento para un cada queso.

Como resultados generales de la actividad antioxidantes se puede destacar que la adición de

jamaica en queso Fresco incrementa hasta dos veces en comparación con un queso testigo. Adicionalmente, la adición de fibra podría jugar un papel importante en la capacidad antioxidante, ya que esta puede contener polifenoles que pueden interactuar química y físicamente con otras matrices alimentarias (González-Aguilar *et al.*, 2017). Así mismo, algunas bacterias tienen la capacidad de interactuar con esta fibra, generando algunos ácidos grasos de cadena corta con potencial capacidad antioxidante (Aravind *et al.*, 2020).

Es importante resaltar la importancia de los alimentos que poseen compuestos con capacidad antioxidante, que brindan protección contra el daño provocado por radicales libres en el organismo, que pueden ser generados por funciones fisiológicas o por factores externos, como la contaminación ambiental, tabaquismo, fármacos y aditivos químicos en los alimentos (Aguilar-Tóala *et al.*, 2019). Estos radicales, son causantes del envejecimiento y algunas enfermedades degenerativas como cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares, las cuales representan un problema a la salud a nivel mundial. Por esta razón, es necesario el consumo de alimentos antioxidantes, dirigidos a prevenir enfermedades crónicas degenerativas (Su *et al.*, 2018). En este contexto, un queso Fresco con fibra dietaria y mayor contenido de capacidad antioxidante puede proporcionarnos un alimento funcional con beneficios a la salud. Sin embargo, son necesarios más estudios para corroborar que dicha capacidad antioxidante se puede presentar en modelos *in vivo*, comprobando así los beneficios del consumo de este tipo de alimentos.

8. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se encontró que la adición del cultivo iniciador *L. lactis* NRRLB 505-71 en queso Fresco, resultó en una concentración de proteína en QCI y QCIJ, que fueron significativamente superiores al queso testigo (QT, sin cultivo y sin jamaica). Por otro lado, el uso de cálices de jamaica, subproducto del proceso de su decocción, como ingrediente complementario en queso Fresco con un cultivo iniciador, enriqueció al producto en su contenido de fibra dietaria total e incrementó significativamente su capacidad antioxidante. La calidad sensorial del producto, respecto a aroma, sabor y textura, se mantuvo en un grado excelente-buena durante 9 días de almacenamiento, de acuerdo con la escala de Karlsruhe. A partir del décimo día el queso Fresco con jamaica cambió gradualmente su calidad, sin llegar al deterioro indeseable, hasta 17 días de almacenamiento; en este periodo, el producto mantuvo su inocuidad, al no encontrarse presencia de coliformes totales, hongos y levaduras. Adicionalmente, los conteos de BAL se mantuvieron constantes con una reducción gradual mínima de un ciclo logarítmico al final del periodo de almacenamiento.

9. RECOMENDACIONES

Los hallazgos obtenidos en este estudio demuestran que, además de la factibilidad de aprovechar un subproducto de la industria alimentaria, la elaboración de queso Fresco adicionado con cálices de jamaica, representa una estrategia prometedora para el diseño de nuevos alimentos funcionales. Sin embargo, será necesario realizar estudios adicionales, que corroboren los resultados obtenidos y que evalúen los posibles beneficios a la salud por el consumo de queso Fresco adicionados con jamaica. Además, sería importante evaluar los efectos o posibles beneficios respecto a la calidad sensorial, nutricional y bioactividad en queso Fresco adicionado con mayores proporciones de cálices de jamaica como ingrediente.

10. REFERENCIAS

- Abdulstar, A., Altemimi, A., Al-Hilphy, A, R. 2023. Exploring the power of thermosonication: A comprehensive review of Its applications and impact in the food industry. *Foods*, 12(7):14-59.
- Águilar-Toalá, J, E., Torres-Llenez, M, J., Hernandez-Mendoza, A., Reyes-Díaz, R., Vallejo-Cordoba, B., González-Córdova, A, F. 2021. Antioxidant capacity and identification of radical scavenging peptides from Crema de Chiapas, Fresco and Cocido cheeses. *Journal of Food Science and Technology*, 59(2022): 2705-2713.
- Algarra, M., Sánchez, C., Joaquim, C, G., Da Silva, E., Jimenez-Jimenez, J. 2015. Fatty Acid and Cholestrol Content of Manchego Type Cheese Prepared with Incorporated Avocado Oil. *Food Properties*, 19(24):37-41.
- Amaya-Cruz, D, M., Pérez-Ramírez, I, F., Ortega-Diaz, D., Rodríguez-Garcia, M, E., Reynoso-Camacho, R. 2017. Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) by-product as functional ingredient: effect of thermal processing and particle size reduction on bioactive constituents and functional, morphological, and structural properties. *Food Measure*, 12 (2018):135-144.
- Amaya-Cruz, D, M., Perez-Ramirez, I, F., Pérez-Jiménez, J., Nava, G, M., Reynoso-Camacho. 2019. Comparison of the bioactive potential of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyx and its by-product: phenolic characterization by UPLC-QTOF MS and their anti-obesity. *Food Research International*, 126 (2018): 4-27.
- Anomohanram, E, E. 2014. Evaluating the viability of lactic acid bacteria and nutritional quality of *Hibiscus sabdariffa* stored under natural condition. *International Journal of Biology*, 7(2015): 1916-9671.
- Antarkar, S., Sharma, A., Bhargava, A., Gupta, H., Tomar, R., Srivastava, S. 2019. Physico chemical and Nutritional Evaluation of Cookies with Different Levels of Rosehip and *Hibiscus* Powder Substitution. *Archives of Current Research International*, 17(3):1-10.
- Armendáriz-Barragán, B., Zafar, N., Badri, W., Arturo, S., Kabbaj, D., Fessi, H., Elaissari, A., Zafar, N., Badri, W., Arturo, S., Armendáriz-barragán, B., Zafar, N., Badri, W., Galindo-rodríguez, S. A., & Kabbaj, D. 2016. Plant extracts: from encapsulation to application. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 13(8):1165–1175.
- Armas, L, A, A., Frye, C, P., Heaney, P, R. 2016. Effect of cow’s milk on human healthy. *International Dairy Foods Association*, 65(3): 53-63.
- Arslaner, A., Salik, M, A., Bakirci, I. 2021. The effects of adding *Hibiscus sabdariffa* L. Flower marmalade on some queality properties, mineral content, and antioxidant activities of yogurt. *Journal of Food Science and Technology*, 58(1): 223-233.
- Aravind, S, M., Wichienchot, S., Tsao, R., Ramakrishnan, S., Chakkaravarthi, S. 2021. Role of fietary polyphenols on gut microbiota, their metabolites and health benefits. *Food Res Int.* 142(2021): 110-189.
- Ávalos-Martínez, E., Pino, J, A., Sáyago-Ayerdi, S., Sosa-Monguel, O., Cuevas-Glory, L, C. 2019. Assessment of volatile compounds and sensory characteristics of Mexican *hibiscus* (*Hibiscus*

sabdariffa L.) calyces hot beverages. Journal of Food Science and Technology, 51(1): 360-366.

- Ahmed, Z., Abozed, S, S. Functional and antioxidant properties of novel snack crackers incorporated with *Hibiscus sabdaridda* by product. 2014. Journal of Advanced Research, 6(2015): 79-87.
- Arizmendi-Cotero, D., Villanueva-Carvajal, A., Gomez-Espinoza, R, M., Dublan-Garcia, O. 2017. Radical scavenging activity o fan inulin-gallic acid graft and its prebiotic effect on *Lactobacillus acidophilus* *In vitro* growth. Journal of Functional Foods, 29(2017), 135-142
- Bataglin-Avila, L., Vaz-Fontes, M, R., Rosa-ZAvareze, E., Costa-Moraes, C., Machado.Moraes, M., Silveira-Da Rosa., G. 2020. Recovery of Bioactive Compounds from Jaboticaba Peels and Application into Zein Ultrafine Fibers Produced by Electrospinning. Polymers, 12(2020), 1-19.
- Barbaccia, P., Busetta, G., Matraxia, ', Sutura, A, M., Craparo, V., Moschetti, G., Francesca, N., Settazzi, L., Gaglio, R. 2021. Monitoring commercial starter culture development in presence of red grape pomace powder to produce polyphenol-enriched Fresh ovine cheeses at industrial scale level. Fermentation, 7(35):1-12.
- Beltrán-Barrientos, L, M., Garcia, H,S., Reyes-Díaz, R., Estrada-Montoya, M.C., Torres-Llenez, M, J., Hernandez-Mendoza, A., González-Córdova, A, F., Vallejo-Cordoba, B. 2019. Cooperation between *Lactococcus lactis* NRRL B-50571 and NRRL B-50572 for Aroma Formation in Fermented Milk. Foods, 8(12): 645.
- Beltrán-Barrientos, L, M., Hernández-Mendoza, A., Torres-Llenez, M, J., González-Córdova, A, F., Vallejo-Cordoba, B. 2016. *Invited review*: Fermented milk as antihypertensive functional food. Journal of Dairy Science, 99(6):4099-4110.
- Barajas-Ramírez, J, A., Gutiérrez-Salomón, A, L., Sáyago-Ayerdi, S, G. 2020. Concentration of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L) and sucrose in beverages: Effects on physicochemical characteristics and acceptance. Food Science and Technology Internantional, 0(0), 1-9.
- Borrás-Linares, I., Fernández-Arroyo, S., Arráez-Roman, D., Palmeros-Suárez, P, A., Del val-Díaz, R., Andrade-González, I., Fernández-Gutiérrez, A., Gómez-Leyva, J, F., Segura-Carreto, A. 2015. Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). Industrial Crops and Products, 69(2015):385-394.
- Bolom-Martínez, S, C., Aidar-Ramos, P., Camboa-Luna, W, R. 2017. Aprovechamiento de sobrantes en subproducto alimentarios. *Lacandonia*, 11(1):75-80.
- Blaya, J., Barzieh,Z., Lapointe, G. 2018. Symposium review: Interaction of starter cultures and nonstarter lactic acid bacteria in the cheese environment. Journal of Dairy Science, 101 (4): 3611-3629.
- Cid-Ortega, S., Guerrero-Beltrán, J, A. (2015). Roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa*), an alternative to the food and beverages industries: a review. Journal of Food Science and Technology, 55 (2015): 6859-6869.
- Compaore-Sereme, D., Tapsoba, F., Zoenabo, D., Compaore, C., Sawadogo-Lingani, H. 2022. A review on dietary fiber: definitions, classification, importance and advantages for human diet and guidelines to promote consumption. International Journal of Biological and Chemical

Scientia, 16(6): 2916-2929.

- Comunian, T, A., Silva, M, P., Souza, C, J, F. (2021). The use of food by-products as a novel for functional foods: Their use as ingredients and for the encapsulation process. *Trends Food Science & Technology*, 108 (2021): 260-280.
- Cuevas-González, P. F., Heredia-Castro, P. Y., Méndez-Romero, J. I., Hernández-Mendoza, A., Reyes-Díaz, R., Vallejo-Cordoba, B., González-Córdova, A. F. (2017). Artisanal Sonoran cheese (Cocido cheese): an exploration of its production process, chemical composition and microbiological quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(13), 4459–4466.
- Choe, E., Min, D, B. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(4), 345-358.
- Das, K., Choudhary, R., Thompson-Witrick, K. A. 2019. Effects of new technology on the current manufacturing process of yogurt-to increase the overall marketability of yogurt. *LWT*, 108: 69–80.
- Da-Costa, Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., Heinrich, M. 2014. Hibiscus sabdariffa L. A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, 165(2014): 424-443.
- De la Rosa-Alcaraz, M, A., Ortiz-Estrada, A, M., Heredia-Castro, P, Y., Hernandez-Mendoza, A., Reyes-Díaz, R., Vallejo-Córdoba, B., González-Córdova, A, F. 2019. Poro de Tabasco cheese: Chemical composition and microbiological quality during its artisanal manufacturing process. *Journal of Dairy Science*, 103(4): 3025-3037.
- Delgado, C, H, O., Fleuri, L, F. 2015. Orange and mango byproducts: agro-industrial waste as source of bioactive compounds and botanical versus commercial description, a review. *Food Reviews International*, 32(1): 1-14.
- Dilucia, F., Lacivita, V., Conte, A., Del Nobile, M, A. 2020. Sustainable use of fruit and vegetable by-products to enhance food packaging performance. *Foods*, 9(857): 1-19.
- Duarte-Valenzuela, Z., Zamora-Gasga, V, M., Montalvo-González, E., Sáyago-Ayerdi, S, G. 2016. Caracterización nutricional de 20 variedades de mejoradas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) cultivadas en México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 39(3): 199-206.
- Drame, I., Lafforgue, C., Formosa-Dague, C., Chapot-Chartier, M, P., Piard, J, C., Castelain, M., Dague, E. 2021. Pili and other surface proteins influence the structure and the nanomechanical properties of *Lactococcus lactis* biofilms. *Nature*, 11(2021):1-13.
- Esparza-Merino, R, M., Macías-Rodríguez, M, E., Cabrera-Díaz, E., Valencia-Botín, A, J., Estrada-Girón, Y. 2019. Utilization of by-products of *Hibiscus sabdariffa* L. as alternative sources for the extraction of high-quality pectin. *Food Science Biotechnology*, 28 (2019): 1003-1011.
- Fosado-Quiroz, R, E. 2021. Producción, composición y usos de la jamaica. *Universitarios Potosinos*, 263(2021): 20-25.
- Flores, M., Saravia, C., Vergara, C, E., Avila, F., Valdés, H., Ortiz-Viedma, J. 2019. Avocado oil: Characteristics, properties, and applications. *Molecules*, 24(11): 21-72.
- Francisco-Ponce, B, A., Vida-Silva, I, M., Maldonado-Astudillo, Y, I., Jimenes- Hernández, J., Flores-Casamayor, V, Arámbula-Villa, G., Salazar, R. 2021. Efecto de la adición de subproductos agroindustriales en las propiedades físicas de un bioplástico almidón-gelatina.

Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, 23(1): 52-61.

- Gaglio, R., Barbaccia, P., Barbera, M., Restivo, I., Attanzio, A., Maniaci, G., Di Grigoli, A., Francesca, N., Tesoriere, L., Bonano, A., Moschetti, G., Senttanni, L. 2021. The use of winery by-products to enhance the functional aspects of the Fresh ovine "Primosale" cheese. *Food*, 10(2): 461.
- Galanakis C.M. 2015. *Food waste recovery: Processing technologies and Industrial Techniques*. Elsevier, Inc. Primera edición. London. 392 pp.
- Galali, Y., Omar, Z, A., Sajadi, S, M. 2020. Biologically active components in by-products of food processing. *Food Science & Nutrition*, 8(7): 3004-3022.
- Galani, J, H., Patel, J, S., Talati, J. (2017). Storage of fruits and vegetables in refrigerator increases their phenolic acids but decreases the total phenolics, anthocyanins and vitamin C with subsequent loss of their antioxidant capacity. *Antioxidants*, 6(3):59-60.
- González-Córdova, A, F., Yesca, C., Ortiz-Estrada, A, M., De la Rosa-Alcaraz, M, D., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B. 2016. Invited review: Artisanal Mexican cheeses. *Journal of Dairy Science*, 99(5), 3250-3262.
- Gutiérrez-Salomón, A, L., Barajas-Ramírez, J, A., Aguilar-Raymundo, G, V., Castañeda-Ovando, A. 2022. Influence of keeping the calyces during fermentation on physicochemical and sensory properties of Hibiscus sabdariffa wines. *Journal of Food Science and Technology*, 59 (2022): 655–665.
- Granato-Janio, D., Santos, R, D, S., Salem-Amir, M. 2018. Effects of herbal extracts on quality traits of yogurts, cheeses, fermented milks, and ice creams: a technological perspective. *Food Science*, 19(2018):1-7.
- Herald, T. J., Gadgil, P., Tilley, M., & Wiley, J. 2012. High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in sorghum bran and flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(6): 2326–2331.
- Helkar, P, B., Sahoo, AK., Patil, NJ. 2016. Review: Foo industry by-products used as a functional food ingredient. *International journal of Waste Resources*, 6(248):1-6.
- Heredia-Castro, P, Y., Hernández-Mendoza, A., González-Córdova, A, F., Vallejo-Cordoba, B. (2017). Bacteriocins of lactic acid bacteria: mechanisms of action and antimicrobial activity against pathogens in cheese. *Interciencia*, 42(6), 340-346.
- Homayouni, R, A., Karbalaee, F., Torbati, M, A., Moslemi A., Farzaneh, S., Rana, B., Mina, J. 2020. Effect of Hibiscus sabdariffa and Camellia synensis extracts on microbial, antioxidant and sensory properties of ice cream. *Association of Food Scientists & Technologists*, 59(2022): 735–744.
- Husein, Z, R. Al-Bedrani, D, I. 2022. Studying the effect of adding different starter cultures to the milk on chemical, sensory properties, and yield of soft cheese. *Natura Volatiles & Essential Oils*, 9(2): 572-586.
- Ibarra, A., Acha, R., Calleja, M., Chiralt-Boix, A., Wittig, E. 2012. Optimization and shelf life of a low-lactose yogurt with *Lactobacillus rhamnosus* HN001. *Journal Dairy Science*, 95(7):3536-3548.
- Ifie, I., Marshall, L, J., Ho, P., Williamson, G. 2016. *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) extracts and

wine: phytochemical Profile, Physicochemical Properties, and Carbohydrase Inhibition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(2016): 4921-4931.

- Jahurul, M, H, A., Zaidul, I. S, M., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F, Y., Nyam, K-L., Norulaini, N, A, N., Sahena, F., Mohd, A, K. 2015. Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: a review. *Food Chemistry*, 183 (2015): 173-180.
- Kajak-Siemaszko, K., Zielinska, D., Lepecka, A., Jawarka, D. 2022. Effect of lactic acid bacteria on nutritional and sensory quality of goat organic acid-rennet cheeses. *Applied Sciences*, 12(17): 88-55.
- Kleerebezem, M., Bachmann, H., Pelt-KleinJan, E, V., Douwengan,S., Smid, E., Teusik, B., Mastriqt, O. 2020. Lifestyle, metabolism, and environmental adaptation in *Lactococcus lactis*. *Microbiology Reviews*, 44(6): 804-820.
- Khalaf, A. T., Wei, Y., Alneamah, S. J. A., Al-Shawi, S- G., Kadir, S. Y. A., Zainol, J., & Liu, X. 2021. What is new preventive and therapeutic role of dairy products as nutraceuticals and functional foods. *BioMed Research International*, 2021: 1-9.
- Lai, W, T., Khong, N, M, H., Lim, S, S., Hee, Y, Y., Sim, B, I., Lau, Y, H., Lai, O, M. 2016. A review: modified agricultural by-products for the development and fortification of food products and nutraceuticals. *Trends in Food Science & Technology*, 59 (9): 148-160.
- Lavelli, V., Torri, L., Zeppa, G., Fiori, L., Spigno, G. 2016. Recovey of winemaking by-products for innovative food applications. *Italian Journal of Food Science*, 28(2016): 542-564.
- Leroy, F., De Vuist, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2004), 67-78.
- Li, D., Peng, J., Kwok, L., Zhang, W., Sun, T. 2022. Metabolomic analysis of streptococcus thermophilus S10-fermented milk. *Food Science and Technology*, 161(2022): 1-10.
- López-Sánchez, A., Luque-Badillo, A, C., Orozco-Nunnelly, D., Alencastro-Larios, N, S., Ruiz-Gómez, J, A., García-Cayuela, T., Gradilla-Hernández, M, S. 2021. Food loss in the agricultural sector of a developing country: Transitioning to a more sustainable approach. The case of Jalisco, Mexico. *Environmental Challenges*, 5(2021):1-16.
- Lou, J., Wang, J., Wang, J., Wang., Cai, Y., Hu, W. 2023. The metabolite profiling and microbial community dynamics during Pineapple By-Product fermentation using co-inoculation of lactic acid bacteria and yeast. *Fermentation*, 9(79):1-15.
- Ma, Z., Guo, A., Jing, P. 2022. Advances in dietary proteins binding with co-existed anthocyanins in foods. Driving forces, structure-affinity relationship, and functional and nutritional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Mathur, H., Beresfird, T, P., Cotter, P, d. 2020. Health benefits of lactic acid bacteria (LAB) fermentates. *Nutrients*, 12(6):1679.
- Mahfudh, N., Hadi, A., Solechan, R. A. Z. 2020. Immunomodulatory activity of yogurt fortified with roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *International Food Research Journal*, 28(2): 255 -261.
- Mayo-Mayo, G., Navarrete-Garcia, A., Maldonado-Astudillo, Y, I., Jiménez-Hernández, J., Santiago-Ramos, D., Arámbula-Villa, G., Álvarez-Fitz, P., Ramírez, M., Salazar, R. 2020. Addition of roselle and mango peel powder in tortilla chips: as strategy for increasing their functionality. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14 (2020): 1511-1519.

- Mercado-Mercado, G., Blancas-Benítez, F. J., Velderrain-Rodríguez, G. R., Montalvo-González, E. M., González-Aguilar, G. A., Alvarez-Parrilla, E., Sáyago-Ayerdi, S. G. 2015. Bioaccessibility of polyphenols released and associated to dietary fibre in calyces and decoction residues of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Journal of Functional Foods*, 18(2015):171-181.
- Mendoza-Salazar., Santiago-López, L., Torres-Llanez, M. J., Hernandez-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B., Liceaga, A. M., González-Córdova, A. F. 2021. In Vitro Antioxidant and Antihypertensive Activity of Edible Insects Flours (Mealworm and Grasshopper) Fermented with *Lactococcus lactis* Strains. *Fermentation*, 7(3):153.
- Mendez-Romero, J. I., Reye-Díaz, R., Santiago-López, L., Hernandez-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B., Sáyago-Ayerdi., S. G., Gómez-Gil, B., González-Córdova, A. F. 2021. Artisanal Fresco cheese from Sonora: Physicochemical composition, microbial quality, and bacterial characterization by high-throughput sequencing. *Dairy Technology*, 74(2): 339-370,
- Minh, P. N. 2021. Physicochemical characteristics, viability of starters, total phenolics and antioxidant activities of functional yoghurt supplemented with extracts from *Hylocereus polyrhizus*, *Hibiscus sabdariffa* and *Peristrophe bivalvis*. *Plant Science Today*, 8(1): 149-154.
- Mohamed, M. A. 2020. Comparative study on Labneh cheese made from milk fat and avocado paste. *Journal of Agricultural Research*, 45(2): 86-90
- Ominski, K., McAllister, T., Stanford, K., Mengistu, G., Kebebe, E. G., Omojion, F., Cordeiro, M., Legesse, G., Wittenberg, K. 2021. Utilization of by-products and food waste in livestock production systems: a Canadian perspective. *Animal Frontiers*, 11(2): 55-63.
- Ojulari, O. V., Seul, G. L., Ju-Ock, N. 2019. Beneficial effects of natural bioactive compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. on obesity. *Molecules*, 24(2019): 1-14.
- O'shea, N., Arendt, E. K., Gallagher, E. 2012. Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16(2012): 1-10.
- Pateiro, M., Munekata, P. E. S., Dominguez, R., Wang, M., Barba, F. J., Bermúdez, B., Lorenzo, J. M. 2020. Nutritional profiling and the value of processing by-products from Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). *Marine Drugs*, 18(101): 1-18.
- Pires T. C. S. P., L. Barros., C. Santos-Buelga., I. C. F. R. Ferreira. Edible flowers: emerging components in the diet. 2019. *Trends in Food Science & Technology*, 93(2019): 244–258.
- Pinto, J., Boavida-Dias, R., Matos, H. A., Azevedo, J. 2022. Analysis of the food loss and waste valorization of animal by-products from the retail sector. *Sustainability*, 14(2830): 1-27.
- Puértolas, E., Barba, F. J. 2016. Electrotechnologies applied to valorization of by-products from food industry: Main findings, energy, and economic cost of their industrialization. *Food and Bioprocess Technology*, 100(2016): 172-184.
- Prior, R. L., Cao, G. 1999. In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology & Medicine*, 27(12): 1173-1181.
- Rad, A. H., Karbalaeei, F., Torbati, M. A., Moslemi, M., Shahraz, F., Babadi, R., Javadi, M. 2020. Effect of *Hibiscus sabdariffa* and *Camellia sinensis* extracts on microbial, antioxidant and sensory properties of ice cream. *Journal of Food Scientist and Technologists*, 59(2): 735-744.

- Ramírez-López, C., Vélez-Ruiz, J, F. 2012. Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 2(2012): 131-148.
- Ribas, J, C, R., Matumoto-Pintro, P., Vital, A, C, P., Saraiva, Anjo, F, A., Alves,R,L,B. Santos, N,W., Machado,E., Agostinho, B., Zeoula, L, M. 2019. Influence of basil (*Ocimum basilicum Lamieaceae*) addition on functional, technological, and sensorial characteristics of fresh cheeses made with oeganic buffalo milk. *Journal of Food Sciencie and Technology* 56(2019): 5214-5224.
- Ravindran, R., Jaiswal, A, K. 2016. Exploitation of food Industry waste for high-value products. *Trends in Biotechnology*, 34(1): 58-69.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M & Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10): 1231-1237
- Rendón-Rosales, M, Á., Torres-Llanez, M, J., Mazorra-Manzano, M, A., González-Córdova, A, F., Hernandez-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B. 2022. In vitro and in silico evaluation of multifunctional properties of bioactive synthetic peptides identified in milk fermented with *Lactococcus lactis* NRRL B-50571 and NRRL B-50572. *Food Science and Technology*, 154(2022): 112-581.
- Renye, J, A., Somkuti, G.A., Vallejo-Cordoba, B., Van Hekken., D, L., González-Córdova, A, F. 2008. Characterization of the microflora isolated from queso fresco made from raw and pasteurized milk. *Journal of Food Safety*, 28(1), 59-75.
- Reyes-Díaz, R., González- Córdova, A, F., Estrada-Montoya, M, C., Méndez-Romero, J, I., Mazorra- Manzano, M, A., Soto-Valdez, H., Vallejo-Córdova, B. 2020. Volatile and sensory evaluation of Mexican Fresco cheese. *Journal of Dairy Science*, 103 (1):242-251.
- Riaz, G., Chopra, R. 2018. A review on phytochemistry and therapeutic uses of Hibiscus sabdariffa L. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102(2018): 575-586.
- Ritota, M., Comitato, R., Manzi, P. 2022. Cow and Ewe Cheeses Made with Saffron: Characterization of Bioactive Compounds and Their Antiproliferative Effect in Cervical Adenocarcinoma (HeLa) and Breast Cancer (MDA-MB-231) Cells. *Molecules*, 27(2022): 2-13.
- Riesute, R., Salomskiene, J., Moreno, D, S., Gustiene, S. 2021. Effect of yeasts on food quality and safety and possibilities of their inhibition. *Trends in Food Science & Technology*, 108(2021): 1-10.
- Roberfroid, M. B. 2002. Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(2): 139–143.
- Rodriguez-Figueroa, J, C., González-Córdova, A, F., Torres-Llanez, M, J., Garcia, H, S., Vallejo-Cordoba, B. 2012. Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides produced in fermented milk by specific wild *Lactococcus lactis* strains. *Journal of Dairy Science*, 95(10): 5536-5543.
- Rodríguez-Oliva, M., Ojeda-García, F., Pozo-pérez, Y., Rondón-Castillo, A, J., Milián-Florido, G. (2022). Evaluación de inóculos microbianos como activadores de la fermentación en ensilajes de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. *Pastos y Forrajes*,42 (2022): 64-94.
- Saito, T., Martins-Madalao, M, C., Bernades, P.C., Bosi, M, G., Della Lucia, S, M., Saraiva, S, H.,

- Silva, H, P. 2019. Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) peel extract increases bioactive compounds in petit-suisse cheese. *International Food Research Journal*, 26(1): 277-285.
- Santiago-López, L., Águilar-Toala, J, E., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Córdoba, B., Liceaga, A, M., González-Córdova, A, F. 2018. Invited review: Bioactive compounds produced during cheese ripening and health effects associated with aged cheese consumption. *Journal of Dairy Science*, 101(5): 3742-3757.
- Sánchez-Feria, C., Salinas-Moreno, Y., Ybarra-Moncada, M, C., González-Hernández, V, A., Machuca-Sánchez, M, L. 2021. Effect of the dehydration method of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces on the quality of their aqueous extracts. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 33(2): 159-170.
- Salami, S, O., Afolayan, A, J. 2020. Suitability of Roselle-Hibiscus sabdariffa L. as raw material for soft drink production. *Journal of Food Quality*, 11: 1-26.
- Saraiva, B, R., Vital, A, C, P., Anjo, F, A., Tibas, J, C., Pinyto, P, T. 2019. Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) addition on the functional and technological characteristics of fresh cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2019): 1256-1265.
- Sáyago-Ayerdi, S, G., Velázquez-López, C., Montalvo-González, E., Goñi, I. 2013. By-product from decoction process of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces as a source of polyphenols and dietary fiber. *Science of Food and Agriculture*, 94(2014): 898-904.
- Sáyago-Ayerdi, S, G., Carcía-Martínez, D, L., Ramírez-Castillo, A, C., Ramírez-Concepcion, H, R., Viuda-Martos, M., (2021). Tropical fruits and their coproducts as bioactive compounds and their health effects: A review. *Foods*, 10(1952), 1-26.
- Sáyago-Ayerdi, S, G., Venema, K., Tabernero, M., Sarriá, B., Bravo, L., Mateos, R. 2021. Bioconversion of polyphenols and organic acids by gut microbiota of predigested *Hibiscus sabdariffa* L. calyces and *Agave* (*A. tequilana* Weber) fructans assessed in a dynamic in vitro model (TIM-2) of the human colon. *Food Research International*, 143(2021), 110-301.
- Savaino, D, A., Hutkins, R, W. (2020). Yogurt cultured fermented milk, and health: a systematic review. *Nutrition Reviews*, 79(5), 599-614.
- Salem, M, A., Zayed, A., Beshay, M, E., Mesih, M, M., Ben Khayal, R, F., George, F, A., Ezzat, S, M. 2021. *Hibiscus sabdariffa* L.: phytoconstituents, nutritive, and pharmacological applications. *Advances in Traditional Medicine*, 7: 3-11.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2021. Refrescante y nutritivo sabor de la Jamaica. Recuperado de: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/refrescante-y-nutritivo-sabor-de-la-jamaica>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2018. México prepara lineamientos para atender la pérdida y desperdicios de alimentos. Recuperado de: <https://www.gob.mx/semarnat/prensa/mexico-prepara-lineamientos-para-atender-la-perdida-y-desperdicios-de-alimentos>
- Secretaria de Salud (SSA). 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-243–SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, formula Láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5160755

- Singh, P., Khan, M., Hailemariam, H. 2017. Nutritional and health importance of *Hibiscus sabdariffa*: A review and indication for research needs. *Journal of Nutritional Health and Food Engineering*, 6(5): 1-4.
- Short, E., Kinchla, A. J., Nolden, A. A. 2021. Plant-based cheeses: A systematic review of sensory evaluation studies and strategies to increase consumer acceptance. *Foods*, 10(4):700-725.
- Su, N., Li, J., Yang, L., Hou, G., Ye, M. 2018. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fermented milks with added roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Journal of Functional Foods*, 43(2018): 234-241.
- Su, N., Ye, Z., Li, J., Yang, L., Hou, G., Ye, Ming. 2019. Effect of the addition of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts on the rheological, textural, and antioxidant activity of fermented milks. *Flavour and Fragrance Journal*, 35(4): 1-9.
- Sukhikh, S. A., Astakhova, L. A., Golubcova, Y. V., Luki, A. A., Prosekova, E. A., Kostina, N. G., Rasshchepkin, A. N. 2019. Functional dairy products enriched with plant ingredients. *Foods and Raw Materials*, 7(2): 428-438
- Schieber, A. 2017. Side streams of plant food processing as source of valuable compounds: selected examples. *The Annual Review of Food Science and Technology*, 8(5): 1-16.
- Sharma, P., Gaur, V. K., Kim, S-H., Pandey, A. 2019. Microbial strategies for bio-transforming food waste into resource. *Bioresource Technology*, 299:2-51.
- Shanaziya, A. S. F., Mangalika, U. L. P., Nayananjalie, W. A. D. 2018. Effect of different coagulants on the quality of paneer made from cow milk. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 8(4): 2250-3153.
- Shiby, V. K., Mishra, H. N. 2013. Fermented Milks and Milk Products as Functional Foods—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(3): 482-496.
- Srivastava, U., Basavaprabhu, H. N., Kumari, M., Kadyan, S., K. Puniya, A., V. Behare, P., Nagpal, R. 2022. Antioxidant and immunomodulatory potency of Lactococcus rhamnosus fermented milk-derived peptides: A computationally guided in-vitro and ex-vivo investigation. *Peptides*, 155(2022): 170-843.
- Skroza, D., Šimat, O. V., Vrdolija, O. L., Jolić, N., Skelin, A., Čagalj, M., Frleta, O. R. 2022. Investigation of Antioxidant Synergisms and Antagonisms among Phenolic Acids in the Model Matrices Using FRAP and ORAC Methods. *Antioxidant*, 11(9), 1784.
- Shahidi, F., Dissanayaka, C. S. 2023. Phenolic-Protein interactions: insight from in-silico analyses—a review. *Food production, Processing and Nutrition*, 5(2): 2661-8974.
- Tapia-Quiroz, P., Montenegro-Landivar, M. F., Reig, M., Vecino, X., Cortina, J. L., Saurina, J., Granados, M. 2022. Recovery of polyphenols from agri-food by-products: the olive oil and winery industries cases. *Food Security and Sustainability*, 11(3): 1-26.
- Tan, J., Han, Y., Han, B., Qi, X., Cai, X., Ge, S., Xue, H. 2022. Extraction and purification of anthocyanins: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 8(2022): 100-306.
- Tenea, G. N., Suárez, J. 2020. Probiotic potential and technological properties of bacteriocinogenic Lactococcus lactis Subsp. Lactis UTNGt28 from a native Amazonian Fruit as a yogurt. Starter culture. *Microorganism*, 8(5): 1-13.

- Tareq., Z, Mollah., S, A, Sarker., K, K, Bashar., D, H, Sarker, Moniruzzaman, S, N., Islam., Z, A., Rafiq., A, Sadat. 2020. Nutritive value of BJRI Mesta-2 (*Hibiscus sabdariffa* L.) Leaves. *Acta Agrobotanica*, 74(1): 1-8.
- Tadjine, D., Boudalia, S., Bousbia, A., Gueroui, Y., Symoen, G., Mebirouk-Boudechiche, L., Tadjine, A., Chemmam, M. 2021. Milk heat treatment affects microbial characteristics of cows' and goats' "Jben" traditional fresh cheeses. *Food Science and Technology*, 41(1): 136-143.
- Toldrá, F., Mora, L., Rey, Milagro. 2016. New insights into meat by-product utilization. *Meat Science*, 120(2016): 54-59.
- Torrez- Llanez, M.J., González-Córdova, A, F., Hernández- Mendoza, A., Garcia, H, S., Vallejo-Córdova, B. 2011. Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in Mexican fresco cheese. *American Dairy Science Association*, 94(8): 3794-3800.
- Trigo, J, P., E, M., Alexandre., Saraiva, J, A., Pintado, M, E. 2020. High value-added compounds from fruit and vegetable by-products- characterization, bioactivities, and application in the development of novel food products. *Critical Reviewa in Food Science and Nutrition*, 60(8): 1388-1416.
- Ueda, J, M., Pedrosa, M, C., Heleco, S, A., Caroch, M., Ferreira, I., Barros, L. 2022. Food additives from fruit and vegetable by-products and bio-residues: a comprehensive review focused on sustainability. *Sustainability*, 14(9): 1-18.
- Veiga, M., Costa, E. M., Silva, S., Pintado, M., Veiga, M., Costa, E. M., Silva, S. M. P., Costa, E. M., & Silva, S. 2020. Impact of plant extracts upon human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(5): 873–886.
- Verduci, E., D'Elis, S., Cerrato, L., Comberiat, P., Calvani, M., Palazzo, S., Martelli, A., Landi, M., Trikamjee, T., Peroni. 2019. Cow's Milk Substitutes for Children: Nutritional Aspects of Milk from Different Mammalian Species, Special Formula and Plant-Based Beverages. *Nutrients*, 11(8): 1-16.
- Villasante, J., Girbal, M., Méton, I., Almajano, M, P. 2018. Effects of pecan nut (*Carya illinoensis*) and roselle flower (*Hibiscus sabdariffa*) as antioxidant and antimicrobial Agents for Sardines (*Sardina pilchardus*). *Molecules*, 24(1): 320-326.
- Wall-Medrano, A., Olivas-Aguirre, F, J., Ayala-Zavala, J, F., Domínguez – Ávila, J, H., González – Aguilar, G, A., Herrera-Cázares, L, A., Gaytán-Martínez, M. 2019. Health benefits of Mango by-products. En: Campos-Vega, R., Dave Oomah, B., Vergara-Castañeda, A (Eds). *Food wastes and by products: nutraceutical and health potential*. John Wiley & Sons Ltd, New Jersey, 159-161 pp.
- Yildirim-Elikoglu, S., Erdem, K, Y. 2018. Interactions between milk protein and polyphenols: Binding mechanisms, related changes, and the future trends in the dairy industry. *Food Reviews International*, 34(7): 665-697.
- Yikmiş, S. Gülüm, L., Aksu., & H. Alpaslan, M. 2017. Hibiscus (*Hibiscus sabdariffa* L.) Cheese Production and Sensory Analysis.
- Zulueta, A., Esteve, M. J., & Frígola, A. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114(1): 310–316.