



Actividad biológica de maíz (*Zea mays*) de color mejorado cultivado en el sur de Sonora*

Biological activity of improved color maize (*Zea mays*) grown in southern Sonora

Francisco Cadena Cadena¹, Joe Luis Arias Moscoso¹, Alejandro García Ramírez¹, Alba Roció Ochoa-Meza¹, Dulce A. Cuevas Acuña²

* Recepción: 13 de julio, 2023. Aceptación: 14 de septiembre, 2023. Este trabajo formó parte del proyecto de investigación titulado Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de híbridos de maíz pigmentado en el sur de Sonora, México”, presentado en el Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui.

¹ Tecnológico Nacional de México, campus Valle del Yaqui, Bácum, Sonora, México. fcadena.cadena@itvy.edu.mx (<https://orcid.org/0000-0001-5409-3909>); jarias.moscoso@itvy.edu.mx (autor para la correspondencia, <https://orcid.org/0000-0002-2548-4625>); agarcia.ramirez@itvy.edu.mx (<https://orcid.org/0000-0002-5719-8412>); aochoa.meza@itvy.edu.mx (<https://orcid.org/0000-0001-8108-9876>).

² Universidad de Sonora, campus Ciudad Obregón, Cajeme, México. dulce.cuevas@unison.mx (<https://orcid.org/0000-0002-6831-9523>).

Resumen

Introducción. En México, el 85 % de las siembras son maíces blancos, el 10 % amarillo blancos y el 5 % de otros colores. Se han realizado estudios bioquímicos de maíces nativos pigmentados, pero existe poca información en maíces mejorados en color. **Objetivo.** Evaluar el contenido de fitoquímicos y capacidad antimicrobiana de dos híbridos de maíz pigmentado cultivados en el Tecnológico Nacional de México, Valle del Yaqui. **Materiales y métodos.** En granos de híbridos de maíz de color rojo y morado se realizaron las extracciones de biocompuestos a partir de una porción del maíz cultivado en el sur de Sonora, México, durante el ciclo verano-invierno 2020. Se utilizó una solución de etanol, ácido acético y agua en una proporción de treinta partes. La composición proximal, contenido de antocianinas, polifenoles y flavonoides se determinaron mediante métodos estandarizados. La capacidad antioxidante se evaluó mediante las metodologías ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) y DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo). Además, se determinó la capacidad antimicrobiana y la concentración mínima inhibitoria. **Resultados.** El maíz morado presentó mayor contenido de antocianinas (340,98±5,21 mg/100 g) y polifenoles (173,68±24,23 mg de ácido gálico/100 g), en comparación con el maíz rojo. Los flavonoides son más abundantes en el maíz morado (575,10±27,88 mg de quercetina/100 g). Ambos híbridos de maíz exhibieron una capacidad antioxidante superior al 50 % frente a los radicales ABTS y DPPH. Respecto a la actividad antimicrobiana, se observó mayor inhibición para *Escherichia coli* y *Salmonella* (18 % y 47 %), y menor para *Staphylococcus aureus* y *Shigella* (19 % y 34 %) en comparación con la gentamicina. **Conclusión.** El maíz morado mostró mayor contenido de antocianinas, polifenoles y flavonoides. Ambos híbridos tuvieron una capacidad antioxidante mayor al 50 %. La actividad antimicrobiana fue mayor contra *E. coli* y *Salmonella*, que contra *S. aureus* y *Shigella*.

Palabras clave: polifenoles, flavonoides, antocianinas, maíces de color.



Abstract

Introduction. In Mexico, 85 % of the crops are white maize, 10 % white yellow and 5 % other colors. Biochemical studies of pigmented native maize have been carried out, but there is little information on colour-improved maize. **Objective.** To evaluate the phytochemical content and antimicrobial capacity of two pigmented maize hybrids grown at the Tecnológico Nacional de México-Valle del Yaqui. **Materials and methods.** Extraction of biocompounds from a portion of the maize grains grown in southern Sonora, Mexico, during the summer-winter 2020 cycle was performed on red and purple maize hybrids. A thirty-part solution of ethanol, acetic acid and water was used. Proximal composition, anthocyanin, polyphenol and flavonoid content were determined by standardized methods. Antioxidant capacity was determined by ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) methodologies. In addition, antimicrobial capacity and minimum inhibitory concentration were determined. **Results.** Purple maize showed higher content of anthocyanins (340.98 ± 5.21 mg/100 g) and polyphenols (173.68 ± 24.23 mg gallic acid/100 g) compared to red maize. Flavonoids are more abundant in purple maize (575.10 ± 27.88 mg quercetin/100 g). Both maize hybrids exhibited more than 50 % antioxidant capacity against ABTS and DPPH radicals. Regarding antimicrobial activity, higher inhibition was observed for *Escherichia coli* and *Salmonella* (18 % and 47 %), and lower for *Staphylococcus aureus* and *Shigella* (19 % and 34 %) compared to gentamicin. **Conclusion.** Purple maize showed higher content of anthocyanins, polyphenols and flavonoids. Both hybrids had an antioxidant capacity higher than 50 %. Antimicrobial activity was higher against *E. coli* and *Salmonella*, than against *S. aureus* and *Shigella*.

Keywords: polyphenols, flavonoids, anthocyanins, colored corn.

Introducción

En México, se encuentra la mayor variedad genética de maíz, con un total de 59 razas identificadas (Sánchez et al., 2000). Entre las cuales, se observan diferentes tipos de granos pigmentados con una amplia gama de colores, desde el negro hasta tonos rosados pálidos. Los colores más frecuentes son el azul/morado, negro y rojo (Salinas-Moreno et al., 2012). La tonalidad de los granos de maíz depende de diversos factores como la polinización, la influencia del viento y el flujo de polen debido al transporte por insectos (Giordano et al., 2018). Con el flujo de polen, se entrelazan y generan una amplia variedad de pigmentos en los granos de maíz. Los colores más notables que se pueden observar incluyen tonos amarillos, rojos, morados, cafés, azules y negros (Rangel-Lucio et al., 2021).

Los maíces de colores exhiben una amplia variedad de antocianinas, fenoles y flavonoides, que poseen propiedades únicas y distintivas (Villacrés et al., 2019). Esta característica los convierte en una opción prometedora para la obtención de colorantes naturales y antioxidantes. Sin embargo, existe una escasa correlación entre la investigación realizada en maíces de colores y su actividad biológica, como la capacidad antioxidante y antimicrobiana (Aguilar-Hernández et al., 2019; Furtak et al., 2017). Se han descubierto más de setecientos derivados de antocianinas con estructuras y actividades biológicas distintas que podrían funcionar como colorantes naturales sustituyendo a los pigmentos sintéticos (Wallace & Giusti, 2015). Sin embargo, a pesar de su actividad biológica son sensibles a la luz, el oxígeno, alteración de pH y altas temperaturas lo que dificulta su utilización (Castro-Enríquez et al., 2020).

Los compuestos fenólicos o polifenoles engloban más de 8000 compuestos distintos, los más representativos los ácidos fenólicos y los flavonoides (Patricia-Chaparro et al., 2015). La extracción de fitoquímicos para su aplicación en alimentos se realiza con diferentes solventes. Sin embargo, solo el agua y el etanol están aprobados por la FDA para su uso en alimentos debido a su nula toxicidad para los humanos (Barnes et al., 2009). No obstante,

la acidificación de solventes orgánicos ayuda a la extracción de antocianinas, fenoles y flavonoides, debido a que causan el rompimiento de las membranas celulares y ayudan a disolver los pigmentos (Roy & Rhim, 2021).

La capacidad antioxidante y antimicrobiana es la principal actividad biológica de los fitoquímicos. Esto es de gran relevancia debido a su capacidad para neutralizar los radicales libres y combatir las bacterias responsables de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). La resistencia a los antibióticos está en aumento y ha alcanzado niveles peligrosos en la actualidad, con la aparición y propagación constante de nuevos mecanismos de resistencia que amenazan nuestra capacidad para tratar las ETAs (Iglesias, 2016).

La capacidad antioxidante adquiere importancia debido al incremento de enfermedades crónico-degenerativas causadas por la contaminación ambiental. Estas enfermedades no solo se relacionan con sustancias tóxicas presentes en el aire, sino también con productos alimentarios (Villanueva et al., 2013). Además, en los últimos años, la industria alimentaria ha incorporado una gran cantidad de colorantes vegetales debido a las restricciones impuestas en algunos países respecto a los colorantes sintéticos (Vera de Rosso & Zerlotti Mercadante, 2023; Wang et al., 2023). Es por esta razón que en este trabajo tuvo como objetivo evaluar el contenido de antocianinas, polifenoles, flavonoides, capacidad antioxidante y capacidad antimicrobiana de dos híbridos de maíz pigmentado cultivados en el Tecnológico Nacional de México-Valle del Yaqui

Materiales and métodos

Materia prima

Se obtuvieron muestras de granos de híbridos de maíz cosechado durante la temporada de cosecha del ciclo Otoño-Invierno/2022, en el Sur de Sonora, Tecnológico Nacional de México, campus Valle del Yaqui, Bacum, Sonora, México. Las muestras provenían de una primera siembra de maíces morados y rojos. La siembra se realizó a una altitud de 254 m s. n. m. en las coordenadas 27° 24' 55,408" latitud norte y N 110° 7' 52,224" longitud oeste. La ejecución del experimento involucró la siembra de una parcela de 20x20 m para cada tipo de maíz, con un aislamiento de 100 m entre cada lote de cultivo.

El análisis de la capacidad antioxidante y antimicrobiana se realizó en el laboratorio de alimentos del Tecnológico Nacional de México, campus Valle del Yaqui. Se emplearon 1100 semillas de maíz morado y 1430 semillas de maíz rojo. Estas semillas fueron escogidas con base en su tamaño de grano y su color uniforme, evaluado mediante un colorímetro digital. Las determinaciones bioquímicas se calcularon en forma de porcentaje, con base en la cantidad de muestra inicial y la cantidad de muestra final.

Caracterización fisicoquímica

Los análisis proximales fueron realizados por triplicado de acuerdo con la metodología descrita por la AOAC (Association of Official Analytical Chemists [AOAC], 2005), para humedad (925.10), ceniza (923.03), grasa (920.39) y fibra total (962.09); la proteína se determinó por método 46,10 Kjeldahl de la AACC (American Association of Cereal Chemist [AACC], 2009), aceptado a nivel internacional. La composición de carbohidratos se estimó por la diferencia de porcentajes (Mex-Álvarez, 2016).

Extracción de antocianinas de maíz pigmentado

Para extraer las antocianinas, se preparó una solución compuesta por etanol, ácido acético y agua en una proporción de 10:1:9 (v v⁻¹) para ambos tipos de maíz, con una proporción de 1:30 (p v⁻¹). Se ajustó el pH a

uno, se agregó ácido acético al dos molar y se agitó a 65 revoluciones por minuto (rpm) durante 15 días. Luego se realizó una centrifugación a 4000 g y se recolectó el sobrenadante. El extracto obtenido se concentró hasta obtener sequedad con un Rotavapor (60 rpm) a una temperatura de 50 °C. Luego, se almacenó en oscuridad a una temperatura de -20 °C hasta su utilización. El contenido de fenoles totales se expresó en mg 100 g de maíz⁻¹ (Francavilla & Joye, 2020).

Determinación de fenoles totales

Se utilizó el método descrito por Singleton y Rossi (1965). En este método, se agregaron 90 µL de una solución de pigmento con una concentración de 50 mg mL⁻¹ por genotipo. A continuación, se añadieron 1,91 mL de agua desionizada y 200 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 2 min, se agregaron 0,8 mL de carbonato de sodio al 15,9 %. La muestra se incubó a 50 °C durante cinco minutos y se midió la absorbancia a 765 nm. El contenido de fenoles totales se expresó en mg de equivalente de ácido gálico (GAE) por cada 100 g de peso seco del pigmento (Pérez-Pérez et al., 2014; Singleton & Rossi, 1965).

Determinación de flavonoides totales

Para analizar el contenido de flavonoides, se preparó una solución de pigmento con una concentración de 0,5 mg mL⁻¹, se mezcló con 2 mL de agua destilada y 150 µL de nitrito de sodio. La mezcla se dejó reposar durante cinco minutos, luego se añadieron 150 µL de una solución de cloruro de aluminio al 2,5 %. Después de un reposo adicional de seis minutos, se agregaron 1 mL de hidróxido de sodio 0,5 N y 5 mL de agua destilada. La absorbancia se midió a 510 nm. Para determinar el contenido total de flavonoides, se realizó una curva de calibración con quercetina como estándar. El contenido de flavonoides se expresó en mg de quercetina por cada 100 g de peso seco del pigmento (Reyes et al., 2013; Zhishen et al., 1999).

Cuantificación de compuestos fenólicos mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)

La determinación de los compuestos fenólicos presentes en el extracto etanólico se realizó de acuerdo con Santos et al. (2014). La separación de los compuestos fenólicos se llevó a cabo con una columna Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 (5 µm, 100 mm × 3 mm). La fase móvil consistió en una mezcla de agua con un gradiente de ácido clorhídrico al 1 % (solvente A) y metanol con ácido clorhídrico al 1 % (solvente B). El gradiente utilizado fue el siguiente: 0 min, 95 % A; 4 min, 95 % A; 20 min, 73 % A; 50 min, 5 % A; 57 min, 99 % A; 58 min, 99 % A; 60 min, 95 % A (Santos et al., 2014; Tian et al., 2019).

La velocidad de flujo utilizada fue de 0,7 mL min⁻¹, y se inyectaron 10 µL de muestra en cada análisis. La detección de los compuestos fenólicos se realizó a una longitud de onda de 280 nm, y se registraron los espectros de cada compuesto en el rango de 200 a 400 nm con un arreglo de diodos. Todas las corridas se llevaron a cabo a una temperatura de 25 °C (Caccya Caccya et al., 2019).

Para determinar la concentración de los compuestos fenólicos, se utilizó una curva de calibración obtenida con estándares de cianidina 3 glucósido, catequina, ácido clorogénico, ácido málico, ácido ferúlico, ácido gálico y quercetina en concentraciones que variaban de 0 a 200 mg L⁻¹. Los resultados se expresaron en miligramos por cien gramos de muestra (mg/100 g) para cada compuesto fenólico (Santos et al., 2014).

Capacidad antioxidante por ABTS y DPPH

La actividad antioxidante ABTS (2,2'-azino-bis-(3 etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) se llevó a cabo de acuerdo con Re et al. (1999). Se solubilizaron 50 mg del pigmento en 1 mL de solución buffer Tris-HCl pH 6,8, luego se mezclaron 270 μL de solución de ABTS con 20 μL de la solución de pigmento, la lectura se realizó a 734 nm después de un periodo de incubación de 30 min, los resultados se expresaron como % de inhibición (Re et al., 1999).

La capacidad de captar al radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) se basa en la reducción de la absorbancia a 517 nm por acción de los antioxidantes. La realización de este experimento consistió en mezclar 3,9 mL de 100 μM del radical DPPH disueltos en metanol al 80 % con 0,1 mL de la muestra o patrón, se mantiene en la oscuridad durante 30 min, la lectura se realizó a 517 nm después de un periodo de incubación de 30 min, los resultados se expresaron en % de inhibición (Molyneux, 2004).

Actividad antimicrobiana por difusión en disco

El análisis cualitativo de la actividad antimicrobiana se realizó con el método de difusión por discos, las bacterias utilizadas fueron las siguientes: *Staphylococcus aureus* (ATCC 8532), *Escherichia coli* (ATCC 12210), *Salmonella* (ATCC 8230) y *Shigella* (ATCC 4837). Las bacterias fueron replicadas en caldo tripticasa de soya (TSB) 2 % (p v^{-1}). Se utilizaron ensayos de control de pureza para verificar el estado de las bacterias. Las cepas se preservaron en caldo TSB con un 20 % de glicerol estéril (v v^{-1}) a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Ma et al., 2019).

El procedimiento se realizó al impregnar discos estériles de papel filtro Whatman No. 1 de 6 mm de diámetro con una concentración de 10 mg/disco de pigmento, se usó Gentamicina como control positivo (30 μg /disco) y agua destilada estéril como control negativo. El halo de inhibición fue medido después de 24 h de incubación a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para el criterio de interpretación se tomó como referencia a la Gentamicina (450 μg /disco). Los halos de inhibición fueron medidos del centro de los discos al final del halo de inhibición (Riverón-Rodríguez et al., 2012).

Concentración inhibitoria mínima (MIC)

Para la prueba de concentración inhibitoria mínima (MIC), se emplearon diferentes concentraciones del pigmento (0, 20, 40, 60, 80 y 100 mg mL^{-1}), así como controles positivos (20 mg mL^{-1} de gentamicina) y negativos (agua destilada estéril). Cada concentración se analizó en triplicado.

El inóculo de las cepas se ajustó a una absorbancia de 0,1 a 595 nm con solución salina estéril. Se prepararon soluciones madre de los pigmentos de cada genotipo de maíz (100 mg mL^{-1}) y se diluyeron según la concentración deseada. Para el control positivo, se agregó 0,6 mL de agua destilada y 4,4 mL de caldo Mueller-Hinton, y para el control negativo se utilizó 20 mg mL^{-1} de gentamicina.

La evaluación se realizó en una placa de 96 pocillos, donde se añadieron 200 μL de cada dilución y control (en triplicado) y se agregaron 15 μL del inóculo bacteriano adaptado. La placa se incubó a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h, se agitó durante 20 s y se midió la densidad óptica a 595 nm. La CMI se definió como la dilución del extracto que inhibió el crecimiento bacteriano en un 90 % en comparación con el control de crecimiento (0 mg mL^{-1}), y se realizaron tres repeticiones (Gupta et al., 2020; Miranda et al., 2021).

Análisis estadístico

Los análisis bioquímicos se realizaron por triplicado. Se utilizó el Software SPSS Statistics para Windows, versión 26.0. (Armonk, Nueva York: IBM Corp.), para realizar el cálculo de la media y la desviación estándar. La

diferencia significativa entre dos valores medios se determinó mediante el análisis de varianza (ANDEVA) con un nivel de confianza del 95 % ($p \leq 0,05$), y la diferencia significativa entre los grupos se determinó mediante la comparación de medias de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados

Caracterización fisicoquímica

La caracterización química de las variedades de maíz incluyó análisis proximal y evaluación fitoquímica. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de humedad y en el contenido de proteína. La variedad morada mostró mayor contenido de humedad ($9,76 \pm 0,27$ %) y menor contenido de grasa ($4,07 \pm 0,59$ %). La variedad roja presentó menor contenido de proteínas ($8,97 \pm 0,17$ %) y menor contenido de carbohidratos ($72,31 \pm 1,14$ %). En general, las dos variedades de maíz son similares en composición proximal (Cuadro 1).

Cuadro 1. Evaluación de la composición química proximal de maíz morado y rojo adaptados al sur de Sonora. Tecnológico Nacional de México-Campus Valle del Yaqui, departamento de Ingenierías Bacum, Sonora México 2022.

Table 1. Evaluation of the proximal chemical composition of purple and red maize adapted to the south of Sonora. Tecnológico Nacional de México-Valle del Yaqui Campus, Department of Bacum Engineering, Sonora México 2022.

Muestra	Humedad	Ceniza	Lípidos	Proteína	Carbohidratos
Maíz morado	$9,76 \pm 0,27^a$	$1,42 \pm 0,11^a$	$4,07 \pm 0,59^a$	$10,24 \pm 0,35^a$	$74,30 \pm 0,81^a$
Maíz rojo	$6,86 \pm 1,63^b$	$1,39 \pm 0,19^a$	$5,40 \pm 0,71^a$	$8,97 \pm 0,17^b$	$72,31 \pm 1,14^a$

*Resultados expresados en porcentaje como media más-menos desviación estándar ($X \pm SD$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre datos de las columnas. / *Results expressed in percentage as mean plus-minus standard deviation ($X \pm SD$). Different letters indicate significant differences between columns data.

Caracterización fitoquímica

La evaluación fitoquímica se realizó con extractos hidroetanólicos, hubo una coloración similar en ambas muestras. El maíz morado mostró la mayor concentración de flavonoides ($575,10 \pm 27,88$ mg de quercetina/100 g de pigmento), superó al maíz rojo en un 47 % (Cuadro 2). En cuanto con los polifenoles, el maíz morado obtuvo $173,68 \pm 24,23$ GAE/100 g de pigmento, y superó significativamente al maíz rojo ($22,88 \pm 3,45$ GAE/100 g de pigmento). La capacidad de captación de los radicales ABTS y DPPH fue más de un 50 % mayor en el maíz morado, con un 11 % y 20 % más capacidad antioxidante que el maíz rojo (Cuadro 2).

Cuantificación de compuestos fenólicos mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)

Los estándares empleados en las curvas de calibración en HPLC exhibieron los siguientes tiempos de retención (RT) y coeficientes de determinación (R^2), respectivamente: ácido gálico 5,50 y 0,99, catequina 17,00 y 0,99, cianidina-3 glucósido 19,6 y 0,98, ácido clorogénico 20,03 y 0,99, ácido cafeico 20,63 y 0,99, ácido cumárico 25,26 y 0,98, ácido ferúlico 26,78 y 0,99, ácido sinápico 27,37 y 0,99 y quercetina 35,11 y 0,99. Los extractos analizados por HPLC exhibieron la presencia de ácidos ferúlicos y cumáricos en ambos maíces. Sin embargo, también se puede ver la presencia de la antocianina cianidina-3-glucosido y pelargonidina-3-glucosido (Figura 1 A y B) siendo

Cuadro 2. Evaluación de la concentración de antocianinas, polifenoles flavonoides y capacidad antioxidante (ABTS Y DPPH) de maíz morado y rojo adaptados al sur de Sonora. Tecnológico Nacional de México-Campus Valle del Yaqui, departamento de Ingenierías Bacum, Sonora, México. 2022.

Table 2. Evaluation of the Concentration of Anthocyanins, flavonoid polyphenols and antioxidant capacity (ABTS and DPPH) of purple and red corn adapted to the south of Sonora. Tecnológico Nacional de México-Valle del Yaqui Campus, department of Bacum Engineering, Sonora, México. 2022.

Genotipo	Antocianinas mg/100 g de maíz	Polifenoles mg de GAE/100 g de maíz	Flavonoides (mg de quersetina/100 g de maíz)	ABTS (% de inhibición)	DPPH (% de inhibición)
Maíz morado	340,98±5,21	173,68±24,23	575,10±27,88	65,48±7,3	77,88±4,3
Maíz rojo	265,08±2,31	22,88±3,45	305,22±17,24	54,88±3,8	50,12±1,9

*Resultados expresados en porcentaje como media más-menos desviación estándar (X±SD). ABTS: (2,2'-azino-bis-(3 etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico). DPPH: (2,2-difenil-1-picrilhidracilo). / *Results expressed in percentage as mean plus-minus standard deviation (X±SD). ABTS: (2,2'-azino-bis-(3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid). DPPH: (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl).

el ácido ferúlico el que se encontraba en una mayor cantidad. Para confirmar su identidad fue necesario comparar su espectro UV (200-400 nm) con el del estándar correspondiente (Figura 1 A y B). La concentración de ácido ferúlico en el pigmento de maíz morado y rojo fue de 120,17±10,21 y 144,71±8,43 mg/100 g, respectivamente, y para ácido cumárico fue de 35,22±3,45. Para la cianidina y pelargonidina-3-glucosido la concentración fue menor (40,21± 5,54 y 30,85±4,76). No obstante, estas dos solo se encontraron en el pigmento de maíz morado.

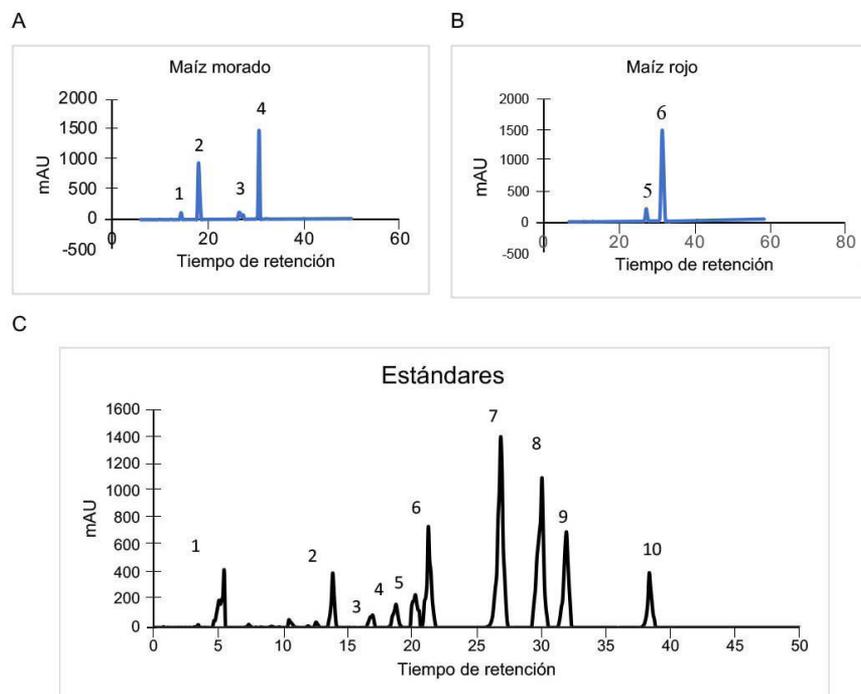


Figura 1. Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) del pigmento de maíz (*Zea mays* L.) morado y rojos adaptados al Sur de Sonora. Tecnológico Nacional de México-Campus Valle del Yaqui, departamento de Ingenierías Bacum, Sonora, México. 2022.

Figure 1. High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of native pigmented corn compounds (*Zea mays* L.) grown in Southern Sonora, México. 2022.

Actividad antimicrobiana por difusión en disco

La formación de halos de inhibición comprende tamaños entre 14 y 27 mm cuando se evaluó contra *E. coli* (30,55±1,22) y *Salmonella* (23,44±2,10), mientras que el efecto fue menor en *Shigella* (17,00±0,58) y *Staphylococcus aureus* (21,33±0,53) (Cuadro 3). Por otro lado, el pigmento de maíz rojo mostró una mayor inhibición en *Escherichia coli* (28,33±1,54) y *Salmonella* (23,67±0,90), pero tuvo una menor acción inhibitoria en *Shigella* (11,67±0,41) y *Staphylococcus aureus* (17,41±0,51) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Evaluación de la capacidad antimicrobiana del pigmento de maíz morado y rojo adaptados al sur de Sonora. Tecnológico Nacional de México-Campus Valle del Yaqui, departamento de Ingenierías Bacum, Sonora, México. 2022.

Table 3. Evaluation of the antimicrobial capacity of the purple and red corn pigment adapted to the south of Sonora. Tecnológico Nacional de México-Valle del Yaqui Campus, Department of Bacum Engineering, Sonora, México. 2022.

Genotipo	Concentración µg/mL	Tamaño de la zona de inhibición (mm)			
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>
Maíz morado	30±1,20	21,33±0,53 ^a	30,55±1,22 ^b	23,44±2,1 ^a	17,00±0,5 ^c
Maíz rojo	30±0,45	17,41±0,51 ^a	28,33±1,54 ^b	23,67±0,90 ^c	11,67±0,41 ^d
Gentamicina	450 ±1,53	27,11±1,21 ^a	22,04±0,58 ^b	16,01±1,17 ^c	14,47±0,41 ^d
Agua	0	0	0	0	0

* Letras diferentes indican diferencias significativas entre filas. / *Different letters indicate significant differences between rows.

Concentración inhibitoria mínima (CMI)

La concentración inhibitoria mínima (CMI) fue evaluada en *Salmonella* y *Escherichia coli*, y se observó que el pigmento de maíz morado logró una inhibición del 96,14 % ± 1,50 y 96,45 % ± 0,99 a una concentración de 40 mg/mL, respectivamente. En contraste, se necesitó una concentración más alta de pigmento de maíz rojo, es decir, 10 mg/mL (50 mg/mL en total), para lograr una inhibición del 95,31 % ± 1,1 y 92,45 % ± 4,9, respectivamente (Cuadro 4).

Cuadro 4. Concentración mínima inhibitoria del pigmento de maíz morado y rojo para *Escherichia coli*, *Salmonella*. Tecnológico Nacional de México-Campus Valle del Yaqui, departamento de Ingenierías Bacum, Sonora, México. 2022.

Table 4. Minimum inhibitory concentration of purple and red corn pigment for *Escherichia coli*, *Salmonella*. al sur de Sonora. Tecnológico Nacional de México-Campus Valle del Yaqui, departamento de Ingenierías Bacum, Sonora, México. 2022.

Concentración (mg mL ⁻¹)	Pigmento de maíz morado				Pigmento de maíz rojo			
	<i>Salmonella</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Salmonella</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	DO	Inhibición (%) ± DS	DO 595 nm	Inhibición (%) ± DS	DO 595 nm	Inhibición (%) ± DS	DO 595 nm	Inhibición (%) ± DS
0	0,856	--	0,932	--	0,94	---	0,891	---
10	0,248	71,02±3,3 ^a	0,342	63,30±4,7 ^a	0,421	55,21±0,55 ^a	0,623	30,078±2,8 ^a
20	0,11	87,14±1,4 ^b	0,225	75,85±2,9 ^b	0,453	50,84±4,3 ^b	0,521	41,52±5,2 ^{ab}
30	0,055	93,57±1,2 ^c	0,243	73,92±1,2 ^c	0,344	63,40±1,9 ^b	0,345	61,27±4,4 ^{ab}
40	0,033*	96,14±1,50 ^c	0,033*	96,45±0,99 ^d	0,075	92,02±1,6 ^c	0,123	84,19±1,1 ^c
50	0,099	88,43±1,00 ^{bc}	0,12	87,12±1,3 ^d	0,044*	95,31±1,1 ^c	0,094*	92,45±4,9 ^d
C-	0,963	---	0,998	---	0,934	---	0,977	---
C+	0,139	83,76±1,6 ^b	0,1	89,27±1,9 ^d	0,144	84,68±2,4	0,116	86,98±3,2 ^d

*Concentración mínima inhibitoria. DO: Densidad óptica. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre columnas. DS: desviación estándar. / *Minimum inhibitory concentration. DO: Optical density. Equal letters indicate that there are no significant differences between columns. DS: standard deviation.

Discusión

El análisis proximal busca determinar los principales componentes y porcentajes de macronutrientes en un alimento para describir las características de la especie estudiada. Las características fisicoquímicas del maíz pueden variar debido a factores genéticos, climáticos y edafológicos (Mex-Álvarez, 2016). Los resultados obtenidos del análisis proximal mostraron una relación en la composición nutricional entre ambos híbridos de maíz. Esto implica que tanto el maíz morado como el maíz rojo presentan proporciones cercanas de almidón, proteína, aceite y carbohidratos en sus granos (Rangel-Lucio et al., 2021).

Las dos variedades de maíz analizadas mostraron concentraciones adecuadas de metabolitos primarios (Cuadro 1) y secundarios (Cuadro 2, Figura 1). El maíz contiene una alta proporción de carbohidratos, principalmente almidón, que es la principal fuente de energía en el metabolismo. Además, el contenido de humedad en el maíz es considerable, y un valor superior al 14 % se considera crítico para cualquier cereal (Zambrano Zambrano & Zambrano Zambrano, 2020).

Las variedades de maíz cumplieron con este criterio de humedad, lo que indica un buen manejo y calidad del grano. Sin embargo, el maíz morado mostró mayores valores de humedad. Esta característica puede estar relacionada con el genotipo de maíz y con la madurez de los cultivos debido a diferencias en sus ciclos de crecimiento y en la respuesta a factores ambientales como la humedad, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes. Por lo tanto, es plausible que un genotipo pueda alcanzar su madurez fisiológica antes que otro, lo que podría llevar a diferencias en el contenido de humedad en el momento de la cosecha (Monosalvas et al., 2019).

El interés en los biocompuestos presentes en los maíces pigmentados ha aumentado significativamente debido a su alta actividad antioxidante. Según López-Martínez y García-Galindo (2010), los maíces pigmentados contienen cantidades similares de polifenoles, antocianinas y flavonoides en comparación con moras, frambuesas rojas y fresas (Jakobek et al., 2007). El contenido total de antocianinas en maíces pigmentados variaba de 170 a 1760 mg de AG 100 g⁻¹, de acuerdo con López-Martínez & García-Galindo (2010). En los híbridos analizados se encontró una concentración de antocianinas de 265,08±2,31 para maíz rojo y de 340,98±5,21 para maíz morado (Cuadro 2), estos resultados son comparables con *Aronia melanocarpa* fresca, que presentó una variación entre 357 y 461 mg/100 g (Meng et al., 2019). Sin embargo, se ha observado una diferencia de 3 a 90 veces (3,89 y 34,17 mg de C3GE/100 g) en maíces pigmentados cultivados en el centro de México (Loarca-Piña et al., 2019), con respecto a los maíces pigmentados cosechados en el sur de Sonora, México (Cuadro 2).

La disparidad en el contenido de polifenoles y flavonoides entre los dos híbridos de maíz se halla asociada a la polaridad intrínseca del disolvente empleado, así como a la habilidad básica de dichos compuestos para experimentar procesos de esterificación y/o glicosilación (García Reyes et al., 2022). En el caso de los polifenoles, encontramos concentraciones de 173,68±24,23 GAE/100 g de maíz para la variedad de maíz morado, 22,88±3,45 GAE/100 g de maíz para la variedad de maíz rojo. Estos resultados pueden indicar que el perfil de compuestos fenólicos varía considerablemente entre variedades similares de maíz.

Hasta la fecha, son escasos los estudios que han abordado la cuantificación del contenido de compuestos fitoquímicos en genotipos de maíz pigmentados y han reportado específicamente el porcentaje de flavonoides. Sin embargo, en el presente estudio se han obtenido resultados reveladores, con una concentración de 575,10±27.88 mg de quercetina/100 g de maíz para la variedad de maíz morado y una concentración de 305,22±17.24 mg de quercetina/100 g de maíz para la variedad de maíz rojo (Cuadro 2). Esta diferencia podría estar relacionada con la diversidad de moléculas presentes, ya que muchas de ellas, como los taninos o los polifenoles, también pueden ser consideradas flavonoides.

Es importante destacar que estos niveles superan las concentraciones previamente informadas para maíces cosechados en la región de la Rivera Nayarita, con coordenadas 23°54'59,6" N y 99°42'58,8" W (Quintanilla-Rosales et al., 2017). Sin embargo, Ramos-Escudero et al. (2012) evaluaron un genotipo de morado y encontraron

que los taninos condensados pueden representar del 7,66 % al 13,04 % del total de compuestos flavonoides, lo cual constituye un porcentaje elevado de estos compuestos fenólicos en su estudio. Los resultados obtenidos por Žilić et al. (2012) en cuanto al contenido de antocianinas en el genotipo ZPL-6, indican que estas representaron aproximadamente el 5,76 % de los compuestos tipo flavonoide presentes. Estos hallazgos resaltan la variabilidad en la composición de compuestos fenólicos entre diferentes estudios y genotipos de maíz pigmentados, variabilidad que puede estar influenciada por diversas moléculas presentes y las condiciones específicas de los análisis realizados (Ramos-Escudero et al., 2012; Žilić et al., 2016).

La capacidad antioxidante en maíces pigmentados es comúnmente empleada para complementar los estudios relacionados con compuestos fenólicos. Los resultados de la capacidad antioxidante fueron expresados en términos de porcentaje de inhibición (%Inh) y fueron más altos que los reportados por Lopez-Martinez et al. (2009) y por Quintanilla-Rosales et al. (2017), quienes encontraron valores de inhibición que variaron entre 12 % y 22 % en el ensayo con radicales DPPH y entre 4,5 % y 35 % en el ensayo con radicales ABTS. Sin embargo, los datos de inhibición de los radicales ABTS y DPPH de la presente investigación superaron el 50 % de inhibición (Cuadro 2). Estos resultados sugieren que las variedades pigmentadas de maíz estudiadas en el presente trabajo poseen una capacidad antioxidante más alta a la de otros genotipos investigados anteriormente, lo que respalda la importancia de estos compuestos fenólicos tanto en términos tanto de salud, como en la industria alimentaria.

Las diferencias observadas en los resultados de este estudio en comparación con lo informado por otros autores con respecto a la medición de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en variedades de maíz pigmentado, se explican principalmente por las particularidades de las variedades estudiadas y las condiciones específicas utilizadas en los procesos de extracción y medición, como el tiempo de extracción, el disolvente empleado y el estándar de comparación (Quintanilla-Rosales et al., 2017; Rodríguez-Salinas et al., 2020; Tian et al., 2020).

Los fitoquímicos extraídos de los maíces pigmentados se identificaron mediante HPLC-MS. Las antocianinas, polifenoles y flavonoides siguieron un orden de retención general basado en su estructura molecular. Los análisis por HPLC mostraron que el contenido de antocianinas totales varía entre las dos especies de maíz pigmentado. No obstante, el porcentaje de ácido férilico fue muy similar en ambas variedades (41,10 % variedad de maíz morado y 42,65 % variedad de maíz rojo) (Cuadro 2, Figura 1). La concentración de ácido cumárico representó el 14,73 % y el 20,26 % en cada genotipo. Aunque juntos representaron solo el 55,83 % y el 62,91 % del total de antocianinas. Resultados similares fueron encontrados en híbridos de maíz nativo cultivados en la sierra de Nuevo León, México (Rodríguez-Salinas et al., 2020).

Las diferencias en las proporciones relativas de cada compuesto no son fácilmente discernibles en los cromatogramas, debido a que algunas de ellas prácticamente desaparecen de los cromatogramas (Salinas-Moreno et al., 2003). El incremento en la proporción de cianidina 3-glucósido en el maíz rojo podría estar relacionado con la degradación de antocianinas y esa podría ser la causa de la desaparición de los picos 1 y 2 (Figura 1). En el caso del maíz morado y rojo se ha señalado que el ácido cumárico y el ácido férilico son los compuestos más abundantes en el maíz. Las variaciones en el contenido de compuestos bioactivos en el maíz morado y rojo en el contexto de esta investigación podrían atribuirse a la fecha de recolección de la planta, las condiciones del suelo, prácticas agronómicas, clima, diversidad genética, la naturaleza de las muestras y las condiciones de extracción, como el tiempo, la temperatura y la concentración, entre otros. De estos factores, los primeros cinco podrían tener una influencia significativa en el maíz morado y rojo (Ccacca-Ccacca et al., 2019).

La variabilidad en el tamaño de los halos de inhibición observados está directamente relacionada con la capacidad de los compuestos antimicrobianos para interactuar con las membranas bacterianas. Los datos mostraron que los tamaños de estos halos difirieron significativamente dependiendo de la bacteria analizada, con valores que oscilan entre 14 mm y 27 mm. Esta variabilidad sugiere que la respuesta de las bacterias a los pigmentos de maíz rojo es altamente específica y no uniforme. Un hallazgo relevante es la diferencia significativa entre las bacterias en cuanto al tamaño de los halos de inhibición. Las bacterias *E. coli* y *Salmonella* exhibieron los halos de inhibición

más grandes, con valores promedio de 30,55 mm y 23,44 mm, respectivamente (Cuadro 3). Esto implica que los pigmentos de maíz rojo tienen un impacto inhibitorio más marcado en estas dos cepas bacterianas en comparación con las otras dos evaluadas. Las bacterias *Shigella* y *Staphylococcus aureus* mostraron halos de inhibición más pequeños, con valores promedio de 17,00 mm y 21,33 mm, respectivamente (Cuadro 3). Esto señala que el pigmento de maíz rojo tiene una acción inhibitoria menos pronunciada sobre estas dos bacterias en particular.

En términos generales, el pigmento de maíz rojo parece tener un mayor efecto inhibitorio en *E. coli* y *Salmonella* en comparación con el pigmento de maíz morado, aunque los valores fueron ligeramente más bajos. Además, ambos pigmentos demostraron un efecto inhibitorio limitado en las bacterias *Shigella* y *Staphylococcus aureus*. La diferencia en la sensibilidad de los patógenos bacterianos podría deberse a la composición de sus paredes celulares. Debido a la ausencia de paredes celulares compuestas por peptidoglucano y proteínas, las bacterias Gram negativas son más permeables a metabolitos polares, como las antocianinas, lo que facilita la acción de los antimicrobianos sobre ellas. Esto concuerda con estudios previos que han destacado la importancia de la pared celular en la susceptibilidad a antibióticos (Bruneton, 2001).

En particular, los pigmentos extraídos de maíz morado, que contienen cianidina 3-glucosídico, mostraron una fuerte actividad antimicrobiana. Cabe mencionar que la cianidina 3-glucosídico se encuentra en diversas frutas y vegetales y su capacidad para inhibir microorganismos es relevante en un contexto donde las infecciones nosocomiales representan un desafío significativo (Reimer et al., 1997). Los resultados de este estudio indican que los pigmentos extraídos de maíz morado y maíz rojo poseen una prometedora actividad antimicrobiana, especialmente contra bacterias Gram negativas como *E. coli* y *Salmonella*. La variabilidad en la actividad inhibitoria de estas antocianinas sugiere la posibilidad de utilizarlas como agentes antimicrobianos específicos.

Para evaluar la efectividad de un agente antimicrobiano, se utiliza la CMI. La evaluación frente a *Salmonella* y *E. coli* con los fitoquímicos de maíz morado revelaron una inhibición del 96,14 % \pm 1,50 contra *Salmonella* y de 96,45 % \pm 0,99 contra *E. coli* a una concentración de 40 mg/mL. En contraste, se observó que se requería una concentración más alta de pigmento de maíz rojo, es decir, 10 mg/mL (50 mg/mL en total), para lograr una inhibición del 95,31 % \pm 1,1 frente a *Salmonella* y un 92,45 % \pm 4,9 frente a *E. coli*. La inhibición superior a concentraciones más bajas del extracto de maíz morado sugiere que podría ser una opción más eficaz en la lucha contra ambas bacterias en comparación con el extracto de maíz rojo (Cuadro 4). Se ha observado un comportamiento similar en estudios reportados por Ramírez Cárdenas (2017) en extractos de *Solanum dolichosepalum* frente a bacterias *S. aureus* y *E. coli*, con concentraciones de 35 mg/mL y 17,5 mg/mL, respectivamente. La evaluación de fitoquímicos de cinco genotipos de maíz híbrido azul de diferentes áreas de México, adaptados a zonas altas y templadas, arrojó que los genotipos criollos pigmentados fueron similares a los niveles de los genotipos híbridos comerciales (Urias-Lugo et al., 2015).

Conclusiones

En los híbridos evaluados de maíz se pudo observar la captación de más del 50% del radical ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) y DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), esto debido a la presencia de los ácidos ferúlico y cumárico, además de la existencia de cianidina y pelargonidina-3-glucosido. La inhibición del crecimiento bacteriano por el pigmento de maíz morado. En todos los casos la inhibición estuvo por encima del 80 %. Sin embargo, ambos genotipos superaron la inhibición de la gentamicina en tres de las cuatro bacterias evaluadas. El microorganismo más susceptible fue *E. coli* y el menos susceptible fue *S. aureus* con ambos pigmentos. Estos resultados son prometedores para la industria alimentaria ya que son una opción viable para producir alimentos con distintas propiedades funcionales. Además de ayudar a maximizar la vida útil de los alimentos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- American Association of Cereal Chemists. (2009). *Approved methods of analysis* (11th ed.). AACC International.
- Aguilar-Hernández, Á. D., Salinas-Moreno, Y., Ramírez-Díaz, J. L., Bautista-Ramírez, E., & Flores-López, H. E. (2019). Antocianinas y color en grano y olote de maíz morado peruano cultivado en Jalisco, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(5), 1071–1082. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i5.1828>
- Association of Official Analytical Chemists. (2005). *Official methods of analysis* (18th ed.). AOAC International.
- Barnes, J. S., Nguyen, H. P., Shen, S., & Schug, K. A. (2009). General method for extraction of blueberry anthocyanins and identification using high performance liquid chromatography–electrospray ionization-ion trap-time of flight-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216(23), 4728–4735. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.04.032>
- Bruneton, J. (2001). *Fitoquímica plantas Medicinales*. Editorial Acribia.
- Castro-Enríquez, D. D., Montañón-Leyva, B., Del Toro-Sánchez, C. L., Juárez-Onofre, J. E., Carvajal-Millán, E., López-Ahumada, G. A., Barreras-Urbina, C. G., Tapia-Hernández, J. A., & Rodríguez-Félix, F. (2020). Effect of ultrafiltration of Pitaya extract (*Stenocereus thurberi*) on Its phytochemical content, antioxidant capacity, and UPLC-DAD-MS profile. *Molecules*, 25(2), Article 281. <https://doi.org/10.3390/molecules25020281>
- Ccaccya Ccaccya, A. M., Soberón Lozano, M., & Arnao Salas, I. (2019). Estudio comparativo del contenido de compuestos bioactivos y cianidina-3-glucósido del maíz morado (*Zea mays* L.) de tres regiones del Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(2), 206–215. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v85i2.78>
- Francavilla, A., & Joye, I. J. (2020). Anthocyanins in whole grain cereals and their potential effect on health. *Nutrients*, 12(10), Article 2922. <https://doi.org/10.3390/nu12102922>
- Furtak, K., GawryjoŁek, K., Gajda, A., & GaŁAZka, A. (2017). Effects of maize and winter wheat grown under different cultivation techniques on biological activity of soil. *Plant, Soil and Environment*, 63(10), 449–454. <https://doi.org/10.17221/486/2017-PSE>
- García Reyes, E., Flores Naveda, A., Ruiz Torres, N., Camposeco Montejó, N., Ramírez Barrón, S. N., & García López, J. I. (2022). Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de genotipos de maíz pigmentado (azul/morado). *Temas de Ciencia y Tecnología*, 26(77), 13–19. https://www.utm.mx/edi_anteriores/temas77/T77_E02_fenolicos_genotipos_maiz_pigmentado.pdf
- Giordano, D., Beta, T., Vanara, F., & Blandino, M. (2018). Influence of Agricultural Management on Phytochemicals of Colored Corn Genotypes (*Zea mays* L.). Part 1: Nitrogen Fertilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(17), 4300–4308. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00325>
- Gupta, V., Pal, K., Bhagat, A., Goel, A., & Chander, J. (2020). Quinolone susceptibility in salmonella isolates based on minimum inhibitory concentration determination. *Journal of Laboratory Physicians*, 12(4), 263–267. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1721163>
- Iglesias, J. O. (2016). *La resistencia a los antibióticos: la amenaza de las superbacterias*. Los Libros de la Catarata.

- Jakobek, L., Šeruga, M., Medvidović-Kosanović, M., & Novak, I. (2007). Antioxidant activity and polyphenols of Aronia in comparison to other berry species. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 72(4), 301–306.
- Loarca-Piña, G., Neri, M., Figueroa, J. d. D., Castaño-Tostado, E., Ramos-Gómez, M., Reynoso, R., & Mendoza, S. (2019). Chemical characterization, antioxidant and antimutagenic evaluations of pigmented corn. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 3177–3184. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03671-3>
- López-Martínez, L. X., & García-Galindo, H. S. (2010). Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintas variedades de maíz mexicano. *Nova Scientia*, 2(3), 51–65. <https://hrcak.srce.hr/19396>
- Lopez-Martinez, L. X., Oliart-Ros, R. M., Valerio-Alfaro, G., Lee, C. H., Parkin, K. L., & Garcia, H. S. (2009). Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT - Food Science and Technology*, 42(6), 1187–1192. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.10.010>
- Ma, Y., Ding, S., Fei, Y., Liu, G., Jang, H., & Fang, J. (2019). Antimicrobial activity of anthocyanins and catechins against foodborne pathogens *Escherichia coli* and *Salmonella*. *Food Control*, 106, Article 106712. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106712>
- Meng, L., Zhu, J., Ma, Y., Sun, X., Li, D., Li, L., Bai, H., Xin, G., & Meng, X. (2019). Composition and antioxidant activity of anthocyanins from Aronia melanocarpa cultivated in Haicheng, Liaoning, China. *Food Bioscience*, 30, Article 100413. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100413>
- Mex-Álvarez, R. M. J. (2016). Análisis proximal y fitoquímico de cinco variedades de maíz del Estado de Campeche, México. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 12(2), 74–80. <https://itson.mx/publicaciones/rlrn/Paginas/vol12.aspx>
- Miranda, C. D., Rojas, R., Contreras-Lynch, S., & Vega, A. (2021). Evaluation of the correlation between minimum inhibitory concentrations (MIC) and disk diffusion data of *Flavobacterium psychrophilum* isolated from outbreaks occurred in Chilean salmonid farms. *Aquaculture*, 530, Article 735811. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735811>
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219. <https://sjst.psu.ac.th/article.php?art=214>
- Monosalvas, A., Taimal, R., & Villacrés, E. (2019). Efecto de la humedad de alimentación y temperatura de extrusión sobre el contenido nutricional de un snack a base de maíz, chocho y papa. *Revista Bases de la Ciencia*, 4(3), 67–80. https://doi.org/10.33936/rev_bas_de_la_ciencia.v4i3.1911
- Patricia-Chaparro, M., Rendón, M. R., Chavez, W., Muñoz, W., Pabón, L. C., & Otálvaro-Álvarez, Á. M. (2015). Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (*Campomanesia lineatifolia*). *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 46, 38–46.
- Pérez-Pérez, E., Ettiene, G., Marín, M., Casassa-Padron, A., Silva, N., Raga, J., González, C., Sandoval, L., & Medina, D. (2014). Determinación de fenoles y flavonoides totales en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía*, 31, 60–77. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/27149>
- Quintanilla-Rosales, V. L., Galindo-Luna, K., Zavala-García, F., Pedroza-Flores, J. A., Heredia, J. B., Urías-Orona, V., Muy, Rangel, M. D., & Niño-Medina, G. (2017). Fenólicos solubles de tipo flavonoide y capacidad antioxidante en genotipos criollos pigmentados de maíz (*Zea mays*). *Información Técnica Económica Agraria*, 113(4), 325–334. <https://doi.org/10.12706/itea.2017.020>

- Ramírez Cárdenas, A., Isaza Mejía, G., Pérez Cárdenas, J. E., & Martínez Garzón, M. M. (2017). Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antibacteriana del *Solanum Dolichosepalum* Bitter (Frutillo). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 22(1), 1–11.
- Ramos-Escudero, F., Muñoz, A. M., Alvarado-Ortíz, C., Alvarado, A., & Yáñez, J. A. (2012). Purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds profile and its assessment as an agent against oxidative stress in isolated mouse organs. *Journal of Medicinal Food*, 15(2), 206–215. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0342>
- Rangel-Lucio, J. A., Santacruz-Varela, A., Córdova-Téllez, L., García-Rodríguez, J. G., Cervantes-Ortíz, F., Vaquera-Huerta, H., & Cuenca-Salgado, J. A. (2021). Adaptación y selección de maíces nativos en la región del bajo de México por su caracterización morfológica. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 44(2), 241–241. <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.2.241>
- Reimer, L. G., Wilson, M. L., & Weinstein, M. P. (1997). Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(3), 444–465. <https://doi.org/10.1128/cmr.10.3.444>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Reyes, S. R., Casanova, E. V., Romero, D. R., Horna, L., & Lopez, C. (2013). Capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales obtenidos de las hojas de *Sambucus peruviana* HBK (sauco) proveniente de la ciudad de Huamachuco. *Pharmacencia*, 1(2), 57–64. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/464>
- Riverón-Rodríguez, E., Ramírez-Frómata, N., Herrera-Alba, D., Barreras-García, G., Zayas-Tamayo, Á. M., & Regueiro-Gómez, Á. (2012). Estación de trabajo para el estudio de la cinética de crecimiento de *Escherichia coli* mediante el método de turbidez. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 43(2), 1–5.
- Rodríguez-Salinas, P. A., Zavala-García, F., Urias-Orona, V., Muy-Rangel, D., Heredia, J. B., & Nino-Medina, G. (2020). Chromatic, nutritional and nutraceutical properties of pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 45, 95–112. <https://doi.org/10.1007/s13369-019-04086-0>
- Roy, S., & Rhim, J-W. (2021). Anthocyanin food colorant and its application in pH-responsive color change indicator films. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(14), 2297–2325. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1776211>
- Salinas-Moreno, Y., Martínez-Bustos, F., Soto-Hernández, M., Ortega-Paczka, R., & Arellano-Vázquez, J. L. (2003). Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia*, 37(6), 617–628. <https://www.agrociencia-colpos.org/index.php/agrociencia/article/view/289>
- Salinas-Moreno, Y., Pérez-Alonso, J. J., Vázquez-Carrillo, G., Aragón-Cuevas, F., & Velázquez-Cardelas, G. A. (2012). Antocianinas y actividad antioxidante en maíces (*Zea mays* L.) de las razas Chalqueño, Elotes Cónicos y Bolita. *Agrociencia*, 46(7), 693–706. <https://www.agrociencia-colpos.org/index.php/agrociencia/article/view/986>
- Sánchez, G. J. J., Stuber, C. W., & Goodman, M. M. (2000). Isozymatic diversity in the races of maize of the Americas. *Maydica*, 45(3), 185–203.
- Santos, J., Oliveira, M. B. P. P., Ibáñez, E., & Herrero, M. (2014). Phenolic profile evolution of different ready-to-eat baby-leaf vegetables during storage. *Journal of Chromatography A*, 1327, 118–131. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.12.085>

- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Tian, X. Z., Lu, Q., Paengkoum, P., & Paengkoum, S. (2020). Effect of purple corn pigment on change of anthocyanin composition and unsaturated fatty acids during milk storage. *Journal of Dairy Science*, 103(9), 7808–7812. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18409>
- Tian, X., Xin, H., Paengkoum, P., Paengkoum, S., Ban, C., & Sorasak, T. (2019). Effects of anthocyanin-rich purple corn (*Zea mays* L.) stover silage on nutrient utilization, rumen fermentation, plasma antioxidant capacity, and mammary gland gene expression in dairy goats. *Journal of Animal Science*, 97(3), 1384–1397. <https://doi.org/10.1093/jas/sky477>
- Urias-Lugo, D. A., Heredia, J. B., Serna-Saldivar, S. O., Muy-Rangel, M. D., & Valdez-Torres, J. B. (2015). Total phenolics, total anthocyanins and antioxidant capacity of native and elite blue maize hybrids (*Zea mays* L.). *CyTA-Journal of Food*, 13(3), 336–339. <https://doi.org/10.1080/19476337.2014.980324>
- Vera de Rosso, V., & Zerlotti Mercadante, A. (2023). Dyes in South America. In C. Stevens, T. Bechtold, A. Manian, & T. Pham (Eds.), *Handbook of natural colorants* (Vol. 8, pp. 63–73). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119811749.ch5>
- Villacrés, E., Tanquina, I., Yáñez, C., Quelal, M., Alvarez, J., & Ramos, M. (2019). Impacto del procesamiento sobre los compuestos con propiedades antioxidantes de dos variedades de maíz (*Zea mays* L.). *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 11(1), 104–115. <https://doi.org/10.18272/aci.v11i1.1099>
- Villanueva, C., Sevilla González, M. d. I. L., & Kross, R. D. (2013). La bioética medioambiental y el estrés oxidativo. *Cuicuilco Revista de Ciencias Antropológicas*, 20(58), 91–108. <https://revistas.inah.gob.mx/index.php/cuicuilco/article/view/3893>
- Wallace, T. C., & Giusti, M. M. (2015). Anthocyanins. *Advances in Nutrition*, 6(5), 620–622. <https://doi.org/10.3945/an.115.009233>
- Wang, Y., Li, Y., Yang, Y., Jiang, B., Li, D., Lui, C., & Feng, Z. (2023). A novel adsorbent driven from salted egg white for efficient removal of cationic organic dyes from wastewater. *Journal of Molecular Liquids*, 372, Article 121210. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.121210>
- Zambrano Zambrano, C. S., & Zambrano Zambrano, P. R. (2020). *Efecto de la humedad en dos variedades de maíz sobre los costos de molienda* [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López]. Repositorio Digital ESPAM. <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/1278>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555–559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)
- Žilić, S., Kocadağlı, T., Vančetović, J., & Gökmen, V. (2016). Effects of baking conditions and dough formulations on phenolic compound stability, antioxidant capacity and color of cookies made from anthocyanin-rich corn flour. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 597–603. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.057>
- Žilić, S., Serpen, A., Akilloğlu, G., Gökmen, V., & Vančetović, J. (2012). Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(5), 1224–1231. <https://doi.org/10.1021/jf204367z>