

Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Title Paper/Título del artículo:

Efecto de la Cocción por Microondas y Fermentación en Estado Sólido en Propiedades Nutricionales, Antioxidantes y Antiparasitarias de Maíz Azul

Effect of Microwave Cooking and Solid-State Fermentation on Nutritional, Antioxidant, and Antiparasitic Properties of Blue Maize

Authors/Autores: Mora-Rochín, S., Meza-López, G.S., León-López, L., León-Sicairos, C.R., Reyes-Moreno, C., Sánchez-Magaña, L.M.

ID: e1700

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1700>

Received/Fecha de recepción: June 29th 2024

Accepted /Fecha de aceptación: December 29th 2024

Available online/Fecha de publicación: January 23th 2025

Please cite this article as/Como citar este artículo: Mora-Rochín, S., Meza-López, G.S., León-López, L., León-Sicairos, C.R., Reyes-Moreno, C., Sánchez-Magaña, L.M. (2025). Effect of Microwave Cooking and Solid-State Fermentation on Nutritional, Antioxidant, and Antiparasitic Properties of Blue Maize. *Revista Bio Ciencias*, 12, e1700. <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1700>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.






Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

Efecto de la Cocción por Microondas y Fermentación en Estado Sólido en Propiedades Nutricionales, Antioxidantes y Antiparasitarias de Maíz Azul

Effect of Microwave Cooking and Solid-State Fermentation on Nutritional, Antioxidant, and Antiparasitic Properties of Blue Maize

Propiedades nutraceuticas de maíz fermentado/

Nutraceutical properties of fermented Maize

Mora Rochín, S.¹ , Meza López, G.S.², León López L.¹ , León-Sicairos, C.R. ¹ ,
Reyes Moreno C.¹ , Sánchez Magaña, L.M.¹ 

¹Posgrado Integral en Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Calzada de las Américas Norte 2771, Ciudad Universitaria, Burócrata, C.P. 80030 Culiacán, Sinaloa, México.

²Licenciatura en Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Calzada de las Américas Norte 2771, Ciudad Universitaria, Burócrata, C.P. 80030 Culiacán, Sinaloa, México.

*Corresponding Author: Luis Martín Sánchez-Magaña.

[Luis Martín Sánchez-Magaña](mailto:luis_magana@uas.edu.mx). Posgrado Integral en Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico Biológicas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Calzada de las Américas Norte 2771, Ciudad Universitaria, Burócrata, C.P. 80030 Culiacán, Sinaloa, México. Teléfono (052) 667 713 7860. *E-mail: luis_magana@uas.edu.mx

RESUMEN

Las parasitosis son consideradas como un problema de salud pública en México. Recientemente se ha reportado que el maíz criollo tiene propiedades antimicrobianas. La cocción por microondas reduce el tiempo de preparación de los alimentos sin afectar su calidad nutricional y sensorial. Diversos autores han informado que la fermentación en estado sólido (SSF) mejora propiedades nutricionales y nutraceuticas de los granos fermentados. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la cocción por microondas y de la SSF sobre compuestos fenólicos, propiedades antioxidantes y antiparasitarias de maíz azul. El maíz fue cocido por microondas y posteriormente fermentado con *Rhizopus oligosporus* durante 108 h. Se obtuvieron los extractos libres y ligados del grano crudo, cocido por microondas y del grano fermentado, para evaluar su contenido fenólico, potencial antioxidante y antiparasitario contra *Giardia duodenalis*. La SSF incrementó 31 %, 28 % y 19 % el contenido de proteínas, fenólicos totales, y actividad antioxidante, respectivamente. La inhibición del 70 % del parásito se encontró a 50 mg/mL de polifenoles para las tres muestras. La cocción por microondas y la fermentación de maíz azul presentan un potencial benéfico a la salud, incrementando sus compuestos bioactivos y permitiendo la inhibición del parásito *Giardia duodenalis*.

PALABRAS CLAVE:

Maíz azul, Microondas, Fermentación, Tempeh, Antiparasitario, Antioxidante.

ABSTRACT

Parasitic infections are a public health issue in Mexico. It has recently been reported that native maize has antimicrobial properties. Microwave cooking reduces food preparation time without affecting its nutritional and sensory quality. Several authors have reported that solid-state fermentation (SSF) improves fermented grains' nutritional and nutraceutical properties. This work aimed to evaluate the effect of microwave cooking and SSF on phenolic compounds and antioxidant and antiparasitic properties of blue maize. Maize grains were cooked in a microwave and then fermented with *Rhizopus oligosporus* for 108 h. Free and bound extracts of raw, microwave-cooked, and fermented grains were obtained to evaluate their phenolic content antioxidant and antiparasitic potentials against *Giardia duodenalis*. SSF increased protein, total phenolic content, and antioxidant activity by 31 %, 28 %, and 19 %, respectively. About 70 % of parasitic inhibition was found at 50 mg/mL polyphenols for all three samples. Microwave cooking and fermentation of blue maize show beneficial potential for health, increasing its bioactive components and allowing the inhibition of the *Giardia duodenalis* parasite.

KEYWORDS

Blue maize, Microwave, Fermentation, Tempeh, Antiparasitic, Antioxidant.

Introducción

Las enfermedades gastrointestinales son consideradas uno de los principales problemas de salud pública en México. Estas enfermedades son transmitidas vía fecal-oral, o por el consumo de agua y alimentos contaminados (Zavala *et al.*, 2020). La giardiasis es una enfermedad causada por *Giardia duodenalis* (también conocida como *G. lamblia* y *G. intestinalis*), un protozooario enteropatógeno ubicuo que causa la enfermedad diarreica aguda y la gastroenteritis en humanos, y sobre todo en niños (Vargas *et al.*, 2018). Debido a los efectos adversos de fármacos antiparasitarios, se ha propuesto la ingesta de fitoquímicos con efectos similares al metronidazol, entre los que se encuentran algunos flavonoides, como las chalconas y polifenoles, los cuales mostraron actividad antiparasitaria *in vitro* contra *Giardia lamblia* (Montes-Ávila *et al.*, 2009; Anthony *et al.*, 2011). El maíz azul presenta altos contenidos de antocianinas y polifenoles, por lo que puede considerarse un alimento funcional de gran valor para el combate de enfermedades crónicas y contra parasitosis intestinales (Mora-Rochín *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2017; Domínguez-Hernández *et al.*, 2022).

Algunos métodos de procesamiento incrementan el contenido fenólico de cereales y leguminosas, entre estos destacan la fermentación en estado sólido (SSF) y la cocción por microondas (Sánchez-Magaña *et al.*, 2019; Teoh *et al.*, 2024). La SSF se define como el crecimiento de microorganismos en la superficie de un sustrato sólido poroso y húmedo. El proceso se realiza en ausencia o casi ausencia de agua superficial entre las partículas. Esta humedad es suficiente para mantener el crecimiento y metabolismo microbiano, sobre todo el desarrollo de hongos

filamentosos, debido a su peculiar capacidad para colonizar los espacios entre las partículas de matrices sólidas. El tempeh, es un pastel blanco grisáceo que resulta de fermentar en estado sólido a granos cocidos de la soja, mediante el empleo de hongos *Rhizopus* spp. Este alimento fermentado es originario de Indonesia y se ha consumido como fuente de proteínas de bajo costo durante más de 300 años. El proceso general de elaboración consiste en etapas de remojo, eliminación del agua, descascarillado, cocción en ácido acético, eliminación del líquido de cocción, inoculación, envasado e incubación. En la actualidad, debido a su consistencia similar a la carne, alto contenido de proteínas y aporte de vitamina B12, el tempeh ha ganado aceptación en la dieta vegana occidental en forma de carne para hamburguesas, salchichas, nuggets y otros guisos. Además, otras leguminosas y cereales han sido usados para producir este producto fermentado (Ahnán-Winarno *et al.*, 2021; Teoh *et al.*, 2024). Recientemente Sánchez-Magaña *et al.* (2019) y Ramírez-Esparza *et al.* (2024) realizaron la SSF en grano maíz utilizando *R. oligosporus* y *R. oryzae*, respectivamente, ambos autores reportaron que este proceso incrementó de manera significativa el contenido de compuestos fenólicos.

Otra tecnología que ha ganado interés es el tratamiento térmico con microondas. Una de sus principales ventajas es que favorece la liberación de fenólicos ligados a materiales de la pared celular (Deng *et al.*, 2022). La energía de las microondas puede penetrar fácilmente en la matriz alimentaria húmeda promoviendo la disolución de los polifenoles en el tejido celular. Sin embargo, para los polifenoles sensibles al calor, como las proantocianidinas, una temperatura más alta acelera su descomposición y destrucción (Hu *et al.*, 2021).

El procedimiento de SSF para elaborar el tempeh fue seleccionado para obtener maíz azul fermentado. Este proceso fue modificado sustituyendo la etapa de cocción tradicional con un tratamiento térmico con microondas, permitiendo además la evaporación del líquido de cocción, evitando así la lixiviación de componentes del grano. Estas modificaciones fueron implementadas para lograr mayor liberación y retención de compuestos bioactivos con potencial nutracéutico. El objetivo del presente trabajo científico fue evaluar el efecto de la SSF aplicada a maíz azul cocido por microondas, así como el impacto individual de esta cocción sobre niveles de compuestos fenólicos, propiedades nutricionales, antioxidantes y antiparasitarias del grano procesado.

Materiales y Métodos

Materiales

Se utilizó maíz (*Zea mays* L.) criollo azul raza Elotero de Sinaloa. Después de la cosecha los granos se limpiaron y almacenaron en refrigeración (4 °C) hasta su utilización. Para la evaluación de la actividad antiparasitaria se utilizó la cepa ATCC, 25922 de *G. duodenalis*, y para fermentar el grano de maíz el microorganismo *R. oligosporus* NRRL2710.

Métodos

Composición química

Los métodos 925.10, 920.39 y 934.01 de la AOAC (2000), fueron utilizados para determinar la humedad, lípidos y cenizas de muestras de maíz, respectivamente. Además, se evaluó el contenido de proteína cruda por el método microKjeldahl de nitrógeno total, aplicando un factor de 6.25. Finalmente, el porcentaje de carbohidratos se calculó por diferencia de 100, tomando en consideración los porcentajes de humedad, proteína cruda, lípidos y cenizas. Todas las pruebas se realizaron por triplicado y se reportó la media y desviación estándar de los resultados.

Cocción por microondas

Para la obtención de harinas de maíz azul procesado por microondas se utilizaron las condiciones reportadas por Martínez-Bustos *et al.* (2000) con ligeras modificaciones. El grano de maíz se mezcló con ácido acético al 0.1 % (relación 1:3). Posteriormente la mezcla se agitó durante 2 min y fue colocada dentro del horno de microondas comercial doméstico (voltaje / frecuencia 120 V / 60 Hz, 1350 W, 2450 MHz de frecuencia) durante 30 min a potencia media (nivel 5). Cada 10 min se mezcló manualmente el contenido para asegurar un calentamiento uniforme. Al final de este tratamiento se logró evaporar casi totalmente el líquido de cocción. Este grano se enfrió y usó para producir FBM y otro lote se llevó a sequedad (50 °C/16 h) para luego ser sometido a molienda hasta pasar malla 80. La harina obtenida se guardó en bolsa de polietileno y fue sellada y almacenada (-20 °C) hasta su análisis.

Fermentación en estado sólido de maíz azul

Para la fermentación, el hongo *R. oligosporus* se propagó en agar de papa dextrosa, en tubos inclinados a 35 °C hasta que el cultivo alcanzó la esporulación adecuada. Las esporas se cosecharon con agua destilada estéril para obtener una suspensión que se ajustó a una concentración de 1×10^6 esporas/mL, la cual luego se usó para inocular los granos de maíz cocidos por microondas en una relación de 3 mL de suspensión por cada 100 g del sustrato seco inicial. El grano, una vez inoculado, se colocó en bolsas de polietileno de 15 x 25 cm con perforaciones hechas cada 4 cm de distancia. Las condiciones de SSF se obtuvieron siguiendo la metodología de Sánchez-Magaña *et al.* (2019), temperatura de fermentación 35 °C/ tiempo de fermentación 108 h.

Obtención de harinas de maíz azul crudo y procesados

Los granos de maíz crudos, cocidos por microondas y fermentados, fueron sometidos a liofilización (UD Cyclone Sample Mill, UD Corp, Boulder, CO, EUA) y posteriormente molturados hasta pasar a través de una malla 80 (0.180 mm). Las harinas obtenidas se almacenaron en bolsas de plástico con cierre hermético a -20 °C hasta su utilización.

Extracción de fenólicos libres y ligados

La extracción de fenólicos libres y ligados se realizó de acuerdo a lo reportado por Gámez-Valdez *et al.* (2021), con algunas modificaciones. Se partió de 0.050 g de harina + 1 mL de etanol al 80 % (v/v); esta suspensión se agitó en un vórtex por 10

min, y después se centrifugó a 3000 x g/ 10 min. El sobrenadante se colocó en un microtubo nuevo, y se concentró a 35 °C a presiones bajas (Speed Vac Concentrator, Thermo Electron Corporation) hasta sequedad. La reconstitución de los compuestos se realizó con 200 µL de metanol al 50 % para obtener el extracto de fenólicos libres que se almacenó a -20 °C hasta su posterior uso. Los fenólicos ligados se obtuvieron del precipitado del extracto libre al que se le agregó 1 mL de NaOH 2 M, y se sometió a tratamiento térmico por 30 min a 95 °C y posteriormente, se agitó durante una hora a temperatura ambiente. La mezcla se neutralizó con 200 µL de HCl concentrado, se agitó por 2 minutos en un vórtex y se le añadió 500 µL de hexano para remover lípidos. A la mezcla resultante se le realizaron cuatro lavados con 500 µL de acetato de etilo cada uno, se agitó en vórtex por 10 min y se centrifugó a 3000 x g/ 10 min. La fracción de acetato de etilo se evaporó hasta sequedad en un concentrador utilizando bajas presiones (Speed Vac Concentrator, Thermo Electron Concentrator). Los compuestos extraídos fueron reconstituídos con 200 µL de metanol al 50 %, y se almacenaron a -20 °C para su posterior utilización. Las extracciones se realizaron por cuadruplicado.

Determinación de compuestos fenólicos totales

Para determinar la concentración de fenólicos totales de las fracciones, se empleó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Gámez-Valdez *et al.* (2021). En una placa de 96 celdas, se añadieron 20 µL de una solución estándar de ácido gálico, en las siguientes celdas se agregaron 20 µL de los extractos fenólicos libres y ligados. El estándar y las muestras se mezclaron con 180 µL del reactivo de Folin, la reacción se neutralizó con 50 µL Na₂CO₃ al 7 % y posteriormente se incubó en el espectro, después de 90 min, se registró la absorbancia a 750 nm en un lector de microplatos (Synergy HT, Biotek Instrument), usando metanol como blanco, se construyó una curva de calibración con ácido gálico. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) /100 g de muestra en base seca. El contenido de compuestos fenólicos totales se calculó al sumar las fracciones de fenólicos presentes en los extractos libres y ligados. La determinación se realizó por cuadruplicado.

Determinación de antocianinas totales

Las antocianinas totales fueron determinadas por el método descrito por Abdel-Aal & Hucl (1999) y and Mora-Rochín *et al.* (2016), con ligeras modificaciones. Se pesaron 0.05 g de muestra y agregaron 1 mL de metanol frío acidificado (95 % metanol y HCl 1 N, 85:15, v/v). Posteriormente se centrifugó a 3000 x g por 10 min, recolectando el sobrenadante. La absorbancia de las muestras fue registrada inmediatamente a 535 nm y 700 nm (corrección de turbidez) en un lector de microplacas (Synergy HT, Biotek Instrument). El contenido de antocianinas se calculó usando la siguiente ecuación:

$$C = \left[\left(\frac{A_{535 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}}}{\epsilon} \right) \times (\text{volumen total de extracto}) \times MW \right] / (\text{peso de la muestra})$$

dónde: *C*: concentración (mg equivalentes de cianidina-3-glucósido g⁻¹muestra); ϵ : absorción molar (cianidina-3-glucósido = 25965 cm⁻¹ M⁻¹); *MW*: peso molecular de cianidina-3-glucósido (449.2 g mol⁻¹)

Determinación de la capacidad antioxidante

Actividad antioxidante por ABTS

La actividad antioxidante de extractos libres y ligados, se determinó mediante la eliminación de radicales libres, la cual se estimó en términos de la actividad captadora de radicales libres del ensayo de decoloración del catión radical ABTS propuesto por Gámez-Valdez *et al.* (2021), el cual se basa en la reducción del radical ABTS^{•+} por los antioxidantes presentes en los extractos evaluados. El catión radical ABTS (ABTS^{•+}) a una concentración de 7 mM se generó mediante la reacción del ABTS con persulfato de potasio 2.45 mM durante 16 h antes de su uso. El radical se diluyó en PBS hasta alcanzar una absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 765 nm. Se tomó una lectura del blanco y los extractos (20 μ L) se transfirieron a una cubeta de plástico; el ensayo se inició al adicionar 1980 μ L de la solución ABTS^{•+}. Se registró la absorbancia a 735 nm, 15 min después de la mezcla inicial se calculó la pérdida de absorbancia del ABTS^{•+} respecto a un blanco. Se preparó una curva de calibración con trolox y los datos se expresaron en micromoles equivalentes de trolox (TE) por 100 g de muestra en base seca (μ mol de TE/100 g, bs).

Actividad antioxidante por ORAC

La capacidad antioxidante también se determinó utilizando el método de capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (del inglés, oxygen radical absorbance capacity, ORAC), desarrollado para compuestos hidrofílicos (Gámez-Valdez *et al.*, 2021). La degradación térmica del compuesto 2-2'-Azobis-aminopropano (AAPH) produce radicales peroxilo (ROO[•]), los cuales oxidan al compuesto fluorescente, diclorofluoresceína (DCFH) al compuesto no fluorescente diclorofluorescina (DCF). El grado de inhibición de los antioxidantes (fitoquímicos) atrapa los radicales libres. Se preparó la solución generadora de radicales libres (2-2'-Azobis-aminopropano) AAPH agregando 0.207 g del reactivo y se afora en un matraz de 5 mL. La fluoresceína se preparó a una concentración de 0.1 μ M, a 25 μ L de muestra se le agregó 150 μ L de fluoresceína y se mezcló agitando a 1200 rpm por 20 s, la reacción inicia al agregar 25 μ L de AAPH. La fluorescencia fue registrada a 485 nm de excitación y 583 nm de emisión. El efecto de un antioxidante es integrado por el área neta bajo la curva sobre la pérdida de la fluorescencia (AUC) (AUCAOX – AUCno AOX). Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de trolox por 100 g de base seca (μ mol de TE/100g, bs).

Determinación de la actividad antiparasitaria

Las muestras se extrajeron con etanol (80 %) mediante sonicación (10 min) y agitación a temperatura ambiente (5 h, 27 °C). El sobrenadante se recuperó mediante centrifugación (10 min a 10 000 rpm y 10 °C). La muestra se sometió a un segundo lavado con etanol y agitación (3 h, 27 °C). La recuperación del sobrenadante se llevó a sequedad y se resuspendió en agua desionizada estéril. Se retiró el solvente en un evaporador rotativo, el residuo se liofilizó y almacenó a – 20 °C para su posterior utilización. La determinación de la actividad antiparasitaria se realizó de acuerdo al método descrito por Montes-Ávila *et al.* (2009) con algunas modificaciones. Los extractos fueron resuspendidos en agua desionizada estéril, para ponerlos en contacto con trofozoítos de *G. duodenalis*, los cuales se cultivaron en medio TYI-S-33 y suero fetal bovino al 10 %, bilis 1 g/L, pH de 7.0, 50 μ g/mL de gentamicina. Los

trofozoitos en la fase logarítmica media se resuspendieron en el medio después de enfriarlos en hielo durante 20 min y se contaron en un hemocitómetro. En el recuento, la mortalidad se determinó mediante tinción celular (azul tripano) y ausencia de movilidad. Estas células se utilizaron como inóculo para la evaluación anti-giardial de los compuestos sintéticos. En el procedimiento de prueba se utilizaron placas de cultivo celular de 24 pocillos. Los trofozoítos se incubaron (300 μ L de inóculo, $1,5 \times 10^5$ células) (24 h/ 37 °C) con 1,2 mL de los extractos para obtener un volumen final de 1,5 mL. Para el ensayo se utilizaron concentraciones de 50, 75, 100, 150 y 180 mg/mL de polifenoles solubles de las muestras estudiadas. Los experimentos de control se realizaron en condiciones experimentales similares sin extractos: positivos con metronidazol (1, 2, 3, 4 y 5 μ g/mL) y negativos con el disolvente de extracción. Después de 24 h de incubación, las placas se enfriaron en hielo (20 min).

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron aplicando un ANOVA unifactorial, mediante el paquete estadístico Minitab 16, y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95 % ($p \leq 0.05$).

Resultados

Composición química

Los resultados de composición química del grano de maíz azul (Tabla 1) encontrados en esta investigación son similares a lo reportado por Montoya-Rodríguez *et al.* (2020), quienes obtuvieron valores promedio de 8.9, 5.0, 1.4 y 84.6 % en grano de maíz azul en proteína, lípidos, cenizas y carbohidratos, respectivamente. La cocción por microondas del grano de maíz azul no presentó un efecto significativo en la composición química con respecto al grano crudo (Tabla 1). Estas observaciones concuerdan con las reportadas por otras investigaciones (Khatoon & Prakash, 2004; Alajaji & El-Adawy, 2006) que aplicaron cocción por microondas a diferentes tipos de leguminosas sin afectar su composición química proximal. Por otro lado, la fermentación en estado sólido (SSF) del grano de maíz azul causó un incremento significativo ($p \leq 0.05$) del 31 % en el contenido de proteína (12.22 % vs 9.32 %), 33 % en lípidos (5.05 vs 3.8 %), y 23 % en cenizas (1.74 vs 1.41 %); y a su vez una ligera disminución ($p \leq 0.05$) en carbohidratos (< 5 %, 80.99 vs 85.47 %), con respecto al crudo y cocido por microondas. El incremento de proteína por acción de la SSF ha sido reportado previamente (Mora-Uzeta *et al.*, 2019; Sánchez-Magaña *et al.*, 2019). Este aumento se atribuye al crecimiento de la biomasa del hongo y a la disminución de otros componentes que podrían perderse por lixiviación durante los pasos iniciales (remojo, cocción) de la SSF o podrían ser consumidos por el hongo para su crecimiento (Mora-Uzeta *et al.*, 2019; Sánchez-Magaña *et al.*, 2019). A diferencia de lo reportado por Reyes-Bastidas *et al.* (2010) en frijol común, donde la SSF causó una disminución en el contenido de cenizas, en el este estudio se observó un incremento del 23 %, lo cual podría atribuirse a que el maíz azul fue fermentado sin eliminar el agua de remojo y el agua de cocción por microondas, permitiendo retener estos nutrientes del grano crudo y cocido. Por otro lado, el aumento del contenido de lípidos durante la SSF también ha sido reportado en salvado de arroz fermentado con *R. oryzae* (Dos Santos-Oliveira *et al.*, 2011), y en *Canavalia* fermentada con *R. oligosporus* (Niveditha *et al.*, 2012). El aumento de lípidos totales por fermentación fúngica se ha atribuido a la disociación de complejos

de lipoproteínas y a la síntesis de lípidos endógenos durante el crecimiento del microorganismo sobre el sustrato o a la posibilidad de que los hongos fermentadores transformen el contenido de carbohidratos de las semillas en lípidos (Dos Santos-Oliveira *et al.*, 2011; Niveditha *et al.*, 2012).

Tabla 1. Composición química de maíz azul crudo y procesado

COMPONENTE	MAÍZ AZUL (g /100 g) ¹		
	Crudo	Cocido por microondas	Fermentado
Proteínas	9.32 ± 0.35 ^b	9.43 ± 0.38 ^b	12.22 ± 0.36 ^a
Lípidos	3.8 ± 0.05 ^b	3.8 ± 0.2 ^b	5.05 ± 0.17 ^a
Cenizas	1.41 ± 0.03 ^b	1.53 ± 0.05 ^b	1.74 ± 0.09 ^a
Carbohidratos	85.47 ± 0.42 ^a	85.24 ± 0.6 ^a	80.99 ± 0.42 ^b

¹ Media ± desviación estándar ($n=3$). ^{a-b} Valores entre columnas con letras en común no presentan diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$).

Contenido de fitoquímicos de maíz azul crudo y procesado

Antocianinas totales

El contenido de antocianinas totales fue expresado como miligramos equivalentes de cianidina-3-glucósido en base seca (mg CGE/100 g, bs), en grano de maíz azul crudo, cocido y fermentado (Tabla 2). El grano de maíz utilizado en este estudio mostró un contenido total de antocianinas que se encuentra dentro del rango reportado por Mora-Rochín *et al.* (2016), quienes realizaron un estudio con 15 genotipos de maíz azul en el estado de Sinaloa, y reportaron valores que oscilaron de 14.1 a 34.3 mg CGE/100 g, bs. El grano de maíz azul sometido a cocción por microondas y fermentación en estado sólido mostraron disminuciones del 52 y 57 % en antocianinas totales con respecto al grano sin procesar, respectivamente (Tabla 2). Diversos autores han reportado que los tratamientos térmicos durante largos periodos de tiempo y el incremento del pH por el uso de cal, afectan el contenido total de antocianinas en el grano de maíz azul, lo que causa disminuciones mayores al 50 % con respecto al grano de maíz azul sin procesar (Sánchez-Madrigal *et al.*, 2015; Mora-Rochín *et al.*, 2016; Parra-Aguilar, 2018). La disminución del contenido de antocianinas en el presente estudio fue menor al reportado por Parra-Aguilar (2018) quién observó una disminución mayor al 60 % en el contenido total de antocianinas durante la nixtamalización por microondas de maíz azul. Esta diferencia se atribuye a que este autor utilizó cal para cocer el grano, la cual no se adicionó en la cocción por microondas de maíz azul usado en este trabajo. Sin embargo, el efecto del tratamiento térmico prolongado puede provocar que las antocianinas del maíz azul se acomplejen y precipiten con proteínas desnaturalizadas después de la cocción (100 °C), conduciendo a una disminución en el total de antocianinas (Jing & Giusti, 2007). Por otro lado, también se ha reportado que un incremento en el tiempo de fermentación de frijol *Cajanus spp.* con *Rhizopus spp.* disminuyó el contenido de antocianinas del grano (Mushollaeni & Tantalú, 2020). Las antocianinas son muy sensibles a los cambios de temperatura y pH. Durante la fermentación se incrementa la temperatura del sustrato y el pH por la actividad metabólica del hongo, lo cual podría asociarse a

la disminución de estos componentes (Mushollaeni & Tantalú, 2020; Ahnan-Winarno *et al.*, 2021). También se ha observado que durante la fermentación puede ocurrir hidrólisis de antocianinas a antocianidinas que luego se polimerizan para formar otro tipo de polifenoles (Mushollaeni & Tantalú, 2020).

Compuestos fenólicos

El contenido de fenólicos totales se calculó como la suma de fenólicos libres y ligados, y fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico en base seca (mg GAE/100 g, bs) (Tabla 2). El contenido de fenólicos libres en este estudio fue mayor al reportado por Gaxiola-Cuevas *et al.* (2017) en maíz criollo azul Raza Elotero de Sinaloa (41.2 mg GAE /100 g, bs), pero menor al contenido de fenólicos ligados reportado por estos autores (202.8 mg GAE /100 g, bs). Sin embargo, esta fracción fue similar a lo reportado por Aguayo-Rojas *et al.* (2012) (113.2 mg GAE /100 g, bs). La fracción fenólica ligada representó la mayor proporción del contenido fenólico total del grano de maíz crudo (60 %), procesado por microondas (60 %) y fermentado (54 %) (Tabla 2). Esto fue consistente con lo reportado por otros investigadores en diferentes tipos de maíz crudo y procesados, donde los fitoquímicos ligados representaron la fracción mayoritaria (Aguayo-Rojas *et al.*, 2012; Gaxiola-Cuevas *et al.* 2017; Sánchez-Magaña *et al.*, 2019). La cocción por microondas no causó cambios significativos en el contenido de fenólicos libres, ligados y totales con respecto al grano de maíz azul crudo. De acuerdo con los resultados obtenidos se puede inferir que la cocción por microondas fue mucho más eficiente que la cocción tradicional aplicada por Sánchez-Magaña *et al.* (2019) para producir maíz blanco fermentado, quienes reportaron que la cocción tradicional previa a la fermentación disminuyó en un 49 % el contenido de fenólicos libres con respecto al grano crudo. Liazid *et al.* (2007) reportaron el efecto de extracción asistida por microondas sobre la estabilidad de 22 compuestos fenólicos, concluyendo que es posible la utilización de una temperatura de 100 °C durante 20 min sin que se produzca la degradación de estos compuestos. Sin embargo, conforme se incrementó la temperatura se observó una degradación considerable de fenólicos.

Tabla 2. Contenido de fitoquímicos de maíz azul crudo y procesado.

FITOQUÍMICOS	MAÍZ AZUL ¹		
	Crudo	Cocido por microondas	Fermentado
Antocianinas totales²	25.7 ± 1.5 ^a	12.4 ± 1.3 ^b	11.1 ± 0.1 ^b
Fenólicos³			
Libres	73.5 ± 5.4 ^b	70.9 ± 1.4 ^b	110.0 ± 4.2 ^a
Ligados	111.8 ± 6.7 ^b	104.5 ± 7.6 ^b	127.2 ± 10.1 ^a
Totales	185.3 ± 5.6 ^b	175.4 ± 6.6 ^b	237.3 ± 5.1 ^a

¹Media ± desviación estándar (n=3); ²mg equivalentes de cianidina-3-glucósido/ 100 g de muestra en base seca; ³ mg equivalentes de ácido gálico (mg AGE) / 100 g de muestra en base seca. ^{a-b} Valores dentro de las columnas sin letras en común son estadísticamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$).

Por otro lado, la SSF del grano de maíz azul incrementó ($p \leq 0.05$) (28 %) el contenido total de fenólicos con respecto al grano sin procesar (237.3 vs 185.3 mg GAE/100 g, bs). Asimismo, fueron observados incrementos del 49.65 y 14 % para las fracciones de fenólicos libres y ligados, respectivamente (Tabla 2). Este bioproceso también incrementó ($p \leq 0.05$) en un 55 y 22 % el contenido fenólico libre y ligado con respecto al grano cocido por microondas, respectivamente. Las anteriores tendencias fueron similares a las reportadas por Sánchez-Magaña *et al.* (2019), quienes estudiaron la influencia de la fermentación en estado sólido sobre el perfil de ácidos fenólicos de maíz blanco comercial a diferentes tiempos de fermentación. La biotransformación del grano por fermentación en estado sólido facilita el acceso al sustrato, causando una mayor liberación de ácidos fenólicos libres-conjugados y ligados a materiales de pared celular en el grano de maíz (Sánchez-Magaña *et al.*, 2019). Asimismo, este incremento pudiera en parte atribuirse a la etapa previa de cocción por microondas. Se ha reportado que esta tecnología afecta a materiales complejos de la pared celular, como la lignina, permitiendo una mayor disponibilidad de ácidos fenólicos durante el proceso de extracción. Por otro lado, la fermentación en estado sólido (SSF) es un proceso bioquímico complejo donde se producen varias enzimas como α -amilasa, xilanasa, β -glucosidasa, esterasas, entre otras, que se han asociado con la liberación de compuestos fenólicos solubles en agua, y además de una mayor biodisponibilidad en su forma ligada insoluble. Junto con la liberación enzimática de compuestos fenólicos, otras vías bioquímicas desconocidas podrían estar involucradas en el proceso de SSF para aumentar el contenido de fenólicos (Mora-Uzeta *et al.*, 2019; Sánchez-Magaña *et al.*, 2019).

Actividad antioxidante de maíz azul crudo y procesado

Los antioxidantes reaccionan con los radicales libres a través de diferentes mecanismos, siendo los principales ejemplos la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) o la transferencia de un solo electrón (SET) o la combinación de ambos mecanismos. En consecuencia, es importante que, para los estudios de propiedades antioxidantes se seleccionen al menos tres métodos de evaluación: uno para evaluar exclusivamente el HAT, otro SET y un método combinado, HAT/SET. El método ABTS puede actuar mediante ambos mecanismos, y el ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) implica transferencia de átomos de hidrógeno (Shukla & Sathyanarayana, 2021). En esta investigación se utilizó el método ABTS y ORAC para estudiar las propiedades antioxidantes de las muestras analizadas. Los resultados fueron expresados en micromoles equivalentes de trolox/100 g de muestra en base seca ($\mu\text{M TE}/100 \text{ g, bs}$) (Tabla 3). La fracción de fenólicos ligados de maíz azul crudo y cocido por microondas fue la que aportó la mayor actividad antioxidante ABTS y ORAC. En contraste, la fracción libre del maíz azul fermentado fue la que contribuyó en mayor medida a la actividad antioxidante ORAC, y la forma ligada a la actividad total medida por el ensayo ABTS (Tabla 3). La actividad antioxidante total de maíz azul crudo evaluada por los métodos de ABTS y ORAC, encontrada en esta investigación fue superior a lo reportado por Gaxiola-Cuevas *et al.* (2017) (7,661.1 y 10,878.6 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g, bs}$). Por otro lado, los valores de actividad antioxidante total medidos por el método ABTS y ORAC fueron mayores a los reportados por Sánchez-Magaña *et al.* (2019) para maíz blanco cocido y fermentado medidos por el ensayo ABTS (3,904 y 10,041 vs 28,551 y 29,614 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g, bs}$) y por el ensayo ORAC (12,058 y 20,422 vs 19,692 y 30,630 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g, bs}$). Estas diferencias encontradas podrían ser debido a la estructura química de los compuestos de las

muestras, la naturaleza del disolvente, la temperatura y el pH, así como la reactividad y estructura química de los radicales libres (Shukla & Sathyanarayana, 2021).

Tabla 3. Actividad antioxidante del maíz azul crudo y procesado

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE ²	MAÍZ AZUL ¹		
	Crudo	Cocido por microondas	Fermentado
ABTS			
<i>Libres</i>	10,243.9 ± 954.8 ^b	9,146.1 ± 824.8 ^b	16,072.2 ± 413.4 ^a
<i>Ligados</i>	18,295.3 ± 608.8 ^a	19,405.6 ± 1951 ^a	13,542.4 ± 1311 ^b
<i>Totales</i>	28,539.2 ± 1087.6 ^a	28,551.7 ± 1989.7 ^a	29,614.6 ± 985.1 ^a
ORAC			
<i>Libres</i>	7,933.0 ± 219.9 ^b	6,032.2 ± 439.7 ^c	11,340.0 ± 110.3 ^a
<i>Ligados</i>	17,751.91 ± 276.6 ^b	13,659.5 ± 553.2 ^c	19,289.9 ± 697.1 ^a
<i>Totales</i>	25,684.9 ± 121.1 ^b	19,691.7 ± 274.8 ^c	30,629.9 ± 588.9 ^a

¹ Media ± desviación estándar ($n=3$); ² $\mu\text{mol TE}$ (micromoles equivalentes de trolox) /100 g, bs; ^{a-c} Valores dentro de las columnas sin letras en común son estadísticamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$).

El proceso de microondas no causó cambios significativos en la actividad antioxidante por ABTS en las fracciones libre y ligada con respecto al grano crudo. Sin embargo, este proceso térmico sí causó una disminución significativa ($p < 0.05$) en la actividad antioxidante ORAC de la fracción libre (-32 %) y ligada (-30 %) con respecto del al grano crudo (Tabla 3). Sin embargo, el maíz fermentado presentó incrementos significativos en la actividad antioxidante total del 16 y 35 % al compararse con maíz sin procesar y el cocido por microondas, respectivamente (Tabla 2). Este comportamiento de la capacidad antioxidante *in vitro* fue reportado en maíz blanco donde se observó una correlación positiva de esta propiedad con el contenido fenólico total del grano de maíz blanco procesado a diferentes tiempos de fermentación (Sánchez-Magaña *et al.*, 2019).

Las soluciones etanólicas son usadas para extraer fenólicos y precipitar compuestos de alta polaridad, como azúcares y proteínas (Tai *et al.*, 2020). Por lo que estas últimas sustancias aportan actividad antioxidante principalmente en extractos acuosos. Sin embargo, no debe descartarse su contribución en bajas concentraciones en extractos etanólicos o de acetato de etilo, los cuales fueron usados en esta investigación para evaluar la actividad antioxidante y antiparasitaria. A diferencia de lo observado por el método ORAC, la SSF de maíz azul no causó cambios significativos en la actividad antioxidante total ABTS con respecto al del grano crudo y procesado por microondas (Tabla 3). Las características antioxidantes de los compuestos fenólicos en este estudio podrían haber influido en los efectos diferenciados de la SSF en la actividad antioxidante ABTS y ORAC del grano crudo y cocido por microondas (Tabla 3). En este sentido es importante señalar que los ácidos fenólicos (ácido ferúlico, mayoritario en maíz) y antocianinas, son los principales promotores de la actividad antioxidante en el grano de maíz azul (Mora- Rochín *et al.*, 2016; Gaxiola-Cuevas *et al.*, 2017). Se ha reportado que los compuestos fenólicos

con mayor probabilidad de sufrir un HAT son el ácido gálico, el ácido cafeico y la epicatequina, mientras que los compuestos fenólicos, que tenían mejor capacidad de SET, fueron los flavonoides kaempferol y el resveratrol. Esto sin duda nos da un indicio de que los compuestos fenólicos pueden realizar estos dos mecanismos y que esto depende principalmente de su estructura química (Shukla & Sathyanarayana, 2021).

Actividad antiparasitaria de maíz azul crudo y procesado

En la Tabla 4 se presentan los porcentajes de inhibición obtenidos del ensayo de actividad antiparasitaria realizado con trofozoítos de *Giardia duodenalis*. Para este estudio se usaron concentraciones de 50 a 180 mg/mL de extractos hidroalcohólicos. Es importante destacar que todos los extractos utilizados lograron una inhibición de *Giardia duodenalis* mayor al 70 % a una concentración de 50 mg/mL. A esta concentración, el extracto de maíz cocido por microondas presentó el mayor efecto ($p \leq 0.05$) inhibitorio (92.1 %) del parásito. Los extractos de maíz azul crudo y fermentado presentaron una inhibición del 100 % de *Giardia* a una concentración del 180 mg/mL, a diferencia de maíz cocido por microondas que logró una inhibición total a 100 mg/mL (Tabla 4). Los valores menores de IC_{50} se relacionan con la mayor efectividad antiparasitaria. En este sentido, el IC_{50} calculado para maíz azul fermentado fue mayor ($p \leq 0.05$) que el de grano cocido, pero no presentó diferencia significativa respecto al valor del grano crudo (29 y 21.8). A pesar de estas diferencias, estos extractos tienen efectos similares, ya que tienen la misma actividad inhibitoria a concentraciones de 100 mg/mL y 180 mg/mL (Tabla 4).

Tabla 4. Actividad antiparasitaria de maíz azul crudo y procesado

Concentración (mg/mL)	Inhibición de <i>Giardia duodenalis</i> (%) ¹		
	Crudo	Cocido por microondas	Fermentado
50	79.9 ± 3.8 ^{bB}	92.1 ± 0.4 ^{aB}	70.1 ± 2.3 ^{Bc}
100	95.4 ± 1.9 ^{abA}	100.0 ± 0.0 ^{aA}	86.9 ± 4.6 ^{bB}
150	97.8 ± 0.0 ^{aA}	100.0 ± 0.0 ^{aA}	89.4 ± 3.5 ^{aAB}
180	100.0 ± 0.0 ^{aA}	100.0 ± 0.0 ^{aA}	100.0 ± 0.0 ^{aA}
IC₅₀	29.0 ± 1.7 ^a	21.8 ± 0.1 ^b	32.9 ± 1.1 ^a

¹Media ± desviación estándar (n=3). ^{a-c} Valores dentro de un renglón con letras minúsculas iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$); ^{A-B} Valores dentro de una columna con letras mayúsculas en común no son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$). IC_{50} = Concentración inhibitoria media máxima.

Los valores de IC_{50} obtenidos en esta investigación fueron menores al obtenido por Parra-Aguilar (2018), quien reportó un IC_{50} de 58.2 mg/mL para extractos de tortilla de maíz azul nixtamalizado por microondas. De manera semejante, este autor observó una inhibición del 100 % del parásito a una concentración de 180 mg/mL, valor que fue muy cercano a los 100 mg/mL que presentó el mismo efecto inhibitorio en la presente investigación. La diferencia entre estos resultados pudiera atribuirse al tipo de maíz azul utilizado, al proceso de nixtamalización empleado, así como también

el tipo de extracción aplicada. Los valores obtenidos en este trabajo también fueron semejantes a lo reportado por Delgado-Vargas *et al.* (2008) en extractos metanólicos de guamúchil (*Pithecellobium dulce*), los cuales lograron una mortalidad del 100 % de *Giardia duodenalis* a una concentración de 50 mg/mL.

Algunos autores han reportado que los principales compuestos bioactivos presentes en maíz azul, son ácidos fenólicos (ácido ferúlico, *p*-cumárico, sinápico, *p*-hidroxibenzoico y vanílico) (Gaxiola-Cuevas *et al.*, 2017) y antocianinas (cianidina-3-glucósido) (Mora-Rochín *et al.* 2016). Por otro lado, se ha observado que ácidos fenólicos (ferúlico, *p*-cumárico, sinápico y *p*-hidroxibenzoico) se incrementan por efecto de la cocción tradicional y la fermentación en estado sólido de maíz blanco (Sánchez-Magaña *et al.*, 2019). Sin embargo, en el presente trabajo se usó maíz azul cocido por otro método de procesamiento y pudieran estar implicados otros compuestos. El maíz azul también presenta contenidos importantes de polímeros fenólicos llamados taninos condensados o proantocianidinas (PA) (Chen *et al.*, 2017). Estos polifenoles han mostrado efectos inhibitorios del crecimiento de *G. duodenalis* (Anthony *et al.*, 2011). Sin embargo, esta actividad y otras propiedades funcionales dependen en gran medida de la estructura química de sus unidades monoméricas de flavan-3-ol, el tipo de enlaces entre estas unidades y su grado de polimerización (Chen *et al.*, 2017). Además, otros compuestos fenólicos pueden potenciar esta actividad antiparasitaria. Por ejemplo, los extractos de moras con mayor actividad inhibitoria contenían elagitaninos, ácido *p*-cumárico y ácido benzoico no conjugados (Anthony *et al.*, 2011). Adicionalmente, otros investigadores han probado el efecto de flavonoides (Najumudin *et al.*, 2018; Montes-Ávila *et al.*, 2009; Hernández-Bolio *et al.* 2015) y saponinas (González *et al.*, 2010) contra el crecimiento *in vitro* de *Giardia duodenalis*.

A pesar de que el tratamiento por microondas fue el que disminuyó en mayor grado el contenido de compuestos fenólicos y de la actividad antioxidante, fue el que presentó la mayor actividad contra *G. duodenalis* (Tablas 2 y 3). Lo anterior podría indicar que compuestos termoresistentes pudieran estar implicados con esta actividad inhibitoria, los cuales son alterados durante el proceso de fermentación en estado sólido. Como se señaló en otras secciones, este bioproceso incrementa el contenido de ácidos fenólicos en maíz, los cuales aportan la mayor actividad antioxidante del grano fermentado (Sánchez-Magaña *et al.*, 2019). Sin embargo, también se ha informado que la SSF disminuye el contenido de taninos condensados (Teoh *et al.*, 2024), los cuales han mostrado efectos antiparasitarios (Anthony *et al.*, 2011). Los efectos complejos de este procesamiento sobre estos compuestos, así como la naturaleza química de los mismos, podría explicar al menos parcialmente la falta de correlación entre el contenido fenólico (Tabla 2) del maíz azul fermentado y cocido con respecto a sus correspondientes porcentajes de inhibición de *G. duodenalis* (Tabla 4). Sin embargo, se requiere de una identificación más fina sobre el tipo de compuestos implicados que pudieran estar liberándose durante la cocción por microondas, y determinar si estos son los responsables del mayor efecto antiparasitario de este extracto.

Conclusiones

La cocción por microondas del grano de maíz azul no alteró la composición química, el contenido fenólico y actividad antioxidante con respecto al grano crudo,

pero si causó una disminución significativa del contenido de antocianinas totales. Sin embargo, el maíz azul cocido por microondas presentó la mayor actividad antiparasitaria contra *G. duodenalis*. Por otro lado, la SSF de maíz azul causó un incremento en el contenido de proteínas, lípidos, cenizas, fenólicos totales y actividad antioxidante evaluada por el método ORAC. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que la aplicación térmica por microondas y SSF al grano de maíz azul incrementa sus componentes bioactivos, y además inhibe el crecimiento del parásito *Giardia duodenalis*. Lo anterior demuestra que son alternativas de procesamiento para obtener productos con potencial benéfico para la salud.

Contribución de los autores

La autoría debe limitarse a aquellos que hayan contribuido sustancialmente al trabajo informado. La Dra. Mora-Rochín y el Dr. Sánchez-Magaña participaron en la conceptualización del trabajo; el desarrollo de la actividad antiparasitaria y antioxidante estuvo a cargo de la Dra. León-Sicairos y la estudiante de licenciatura Meza-López, la técnica de microondas estuvo a cargo de la Dra. Mora-Rochín y el FES a cargo del Dr. Sánchez-Magaña; el manejo de software y análisis estadístico estuvo a cargo de la Dra. León-López; la validación experimental y análisis de resultados estuvo a cargo del Dr. Reyes-Moreno, Dr. Sánchez-Magaña y Dra. Mora-Rochín; el manejo de datos, estuvo a cargo de la alumna Meza-López; la escritura y preparación del manuscrito, estuvo a cargo de la Dra. Mora-Rochín y del Dr. Sánchez-Magaña.; La redacción, revisión y edición estuvo a cargo del Dr. Reyes-Moreno y la Dra. León-López.; la Dra. Mora-Rochín fungió como administradora de proyecto y en la adquisición de fondos participó el Dr. Sánchez-Magaña.

“Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.” Para nombrar a los participantes, deberán usarse siglas de su nombre. La autoría debe limitarse a aquellos que hayan contribuido sustancialmente al trabajo informado.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por CONACYT CIENCIA BÁSICA 2010-2015/168279 y PROFAPI-UAS-2015 (responsables técnicos, Dra. Mora-Rochín y Dr. Sánchez-Magaña).

Agradecimientos

En esta sección, puede agradecer cualquier apoyo brindado (ya sea institucional o personal) que no aplique a secciones de contribución o financiamiento de la investigación. Puede incluir apoyo administrativo y técnico, o donaciones (por ejemplo, materiales utilizados para experimentos).

Conflicto de interés

“Los autores declaran no tener conflicto de interés”.

Referencias

- Abdel-Aal, E.S., & Hucl, P. (1999). A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry*, 76(3), 350-354. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.350>
- Anthony, J. P., Fyfe, L., Stewart, D., & McDougall, G. J. (2011). Differential effectiveness of berry polyphenols as anti-giardial agents. *Parasitology*, 138(9), 1110-1116. <https://doi.org/10.1017/S0031182011000825>
- Aguayo-Rojas, J., Mora-Rochín, S., Cuevas-Rodríguez, E.O., Serna-Saldívar, S.O., Gutiérrez-Urbe, J.A., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2012). Phytochemicals and antioxidant capacity of tortillas obtained after lime-cooking extrusion process of whole pigmented Mexican maize. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(2), 178-185. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11130-012-0288-y>
- Ahnan-Winarno, A. D., Cordeiro, L., Winarno, F. G., Gibbons, J., & Xiao, H. (2021). Tempeh: A semicentennial review on its health benefits, fermentation, safety, processing, sustainability, and affordability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1717-1767. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12710>
- Alajaji, S. A., & El-Adawy, T. A. (2006). Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(8), 806-812. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.03.015>
- Official Methods of Analysis [AOAC]. (2000). Official Methods of Analysis (16th Ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. pp .777-787.
- Chen, C., Somavat, P., Singh, V., & de Mejia, E. G. (2017). Chemical characterization of proanthocyanidins in purple, blue, and red maize coproducts from different milling processes and their anti-inflammatory properties. *Industrial Crops and Products*, 109, 464-475. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.046>
- Delgado-Vargas, F., Gurrola-Bojórquez, V.R., López-Ángulo, G., Willms-Manning, K., Cruz-Otero, M.C., Sicairos-Félix, J., Rendón-Maldonado, J.G., & Díaz-Camacho, S.P. (2008). Caracterización de la Actividad Antiparasitaria del Extracto Metanólico de Guamúchil (*Pithecellobium dulce*) contra *Giardia lamblia*. In Corrales-Burgueño, V.A., Milán-Carrillo, J., & Flores-Campaña L.M. La Investigación Científica, Tecnológica y Social de la UAS. (pp. 158-163). Ed. Universidad Autónoma de Sinaloa.
- Deng, X., Huang, H., Huang, S., Yang, M., Wu, J., Ci, Z., He, Y., Wu, Z., Han, L., & Zhang, D. (2022) Insight into the incredible effects of microwave heating: Driving changes in the structure, properties and functions of macromolecular nutrients in novel food. *Frontiers in Nutrition*, 9(941527), 1-21. <https://doi:10.3389/fnut.2022.941527>
- Domínguez-Hernández, E., Gaytán-Martínez, M., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Domínguez-Hernández, M. E. (2022). The nutraceutical value of maize (*Zea mays* L.) landraces and the determinants of its variability. *Journal of Cereal Science*, 103, 103399. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103399>

- Dos Santos-Oliveira, M., Feddern, V., Kupski, L., Cipolatti, E. P., Badiale-Furlong, E., & de Souza-Soares, L. A. (2011). Changes in lipid, fatty acids and phospholipids composition of whole rice bran after solid-state fungal fermentation. *Bioresource Technology*, 102(17), 8335-8338. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.025>
- Gámez-Valdez, L. C., Gutiérrez-Dorado, R., Gómez-Aldapa, C. A., Perales-Sánchez, J. X. K., Milán-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., Mora-Rochín, S., & Reyes-Moreno, C. (2021). Effect of the extruded amaranth flour addition on the nutritional, nutraceutical and sensory quality of tortillas produced from extruded creole blue maize flour. *Biotecnia*, 23(2), 103-112. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i2.1385>
- Gaxiola-Cuevas, N., Mora-Rochín, S., Cuevas-Rodríguez, E. O., León-López, L., Reyes-Moreno, C., Montoya-Rodríguez, A., & Milán-Carrillo, J. (2017). Phenolic acids profiles and cellular antioxidant activity in tortillas produced from Mexican maize landrace processed by nixtamalization and lime extrusion cooking. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72, 314-320. <https://doi.org/10.1007/s11130-017-0624-3>
- González, M.P.B., Garza, R.G.R., & Gutiérrez, Y.Q. (2010). Inhibición del crecimiento de *Giardia Lamblia* por acción del extracto acuoso y metanólico de semillas de *Cucurbita Pepo*/*Giardia lamblia* growth inhibition by action of the aqueous and methanolic extract of cucurbita pepo seed. *RIDE Revista Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo Educativo*, 1(1), 121-137. <https://ride.org.mx/index.php/RIDE/article/view/18>
- Hernández-Bolio, G. I., Torres-Tapia, L. W., Moo-Puc, R., & Peraza-Sánchez, S. R. (2015). Antigiardial activity of flavonoids from leaves of *Aphelandra scabra*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(3), 233-237. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.04.004>
- Hu, Q., He, Y., Wang, F., Wu, J., Ci, Z., Chen, L., Xu, R., Yang, M., Lin, J., Han, L., & Zhang, D. (2021). Microwave technology: a novel approach to the transformation of natural metabolites. *Chinese Medicine*, 16(87), 1-22. <https://doi.org/10.1186/s13020-021-00500-8>
- Jing, P., & Giusti, M.M. (2007). Effects of Extraction Conditions on Improving the Yield and Quality of an Anthocyanin-Rich Purple Corn (*Zea mays* L.) Color Extract. *Journal of Food Science*, 72(7), C363-C368. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00441.x>
- Khatoun, N., & Prakash, J. (2004). Nutritional quality of microwave-cooked and pressure-cooked legumes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 55(6), 441-448. <https://doi.org/10.1080/09637480400009102>
- Liazid, A., Palma, M., Brigui, J., & Barroso, C. G. (2007). Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 1140(1-2), 29-34. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.11.040>
- Martínez-Bustos, F., García, M.N., Chang, Y.K., Sánchez-Sinencio, F., & Figueroa, C.J.D. (2000). Characteristics of nixtamalised maize flours produced with the use of

microwave heating during alkaline cooking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(6), 651-656. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000501\)80:6<651::AID-JSFA561>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000501)80:6<651::AID-JSFA561>3.0.CO;2-4)

Montes-Ávila, J., Díaz-Camacho, S.P., Sicairos-Félix J., Delgado-Vargas, F., & Rivero, I.A. (2009). Solution-phase parallel synthesis of substituted chalcones and their antiparasitary activity against *Giardia lamblia*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17(18), 6780-6785. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.02.052>

Montoya-Rodríguez, A., Osuna-Gallardo, E. I., Cabrera-Chávez, F., Milán-Carrillo, J., Reyes-Moreno, C., Milán-Noris, E. M., Cuevas-Rodríguez, E., & Mora-Rochín, S. (2020). Evaluation of the in vitro and in vivo antihypertensive effect and antioxidant activity of blue corn hydrolysates derived from wet-milling. *Biotecnia*, 22(2), 155-162. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i2.1257>

Mora-Rochín, S., Gaxiola-Cuevas, N., Gutiérrez-Urbe, J. A., Milán-Carrillo, J., Milán-Noris, E. M., Reyes-Moreno, C., Serna-Saldivar, S.O., & Cuevas-Rodríguez, E. O. (2016). Effect of traditional nixtamalization on anthocyanin content and profile in Mexican blue maize (*Zea mays* L.) landraces. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 563-569. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.009>.

Mora-Uzeta, C., Cuevas-Rodríguez, E. O., López-Cervantes, J., Milán-Carrillo, J., Gutiérrez-Dorado, R., & Reyes-Moreno, C. (2019). Improvement nutritional/antioxidant properties of underutilized legume tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) by solid state fermentation. *Agrociencia*, 53(7), 987-1003. <https://www.agrociencia-colpos.org/index.php/agrociencia/article/view/1858/1855>.

Mushollaeni, W., & Tantal, L. (2020). Anthocyanin and nutritional contents of fermented lebeu bean (*Cajanus* sp.) through SSF method and induced by *Rhizopus* sp. and *Saccharomyces* sp. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 465(1), 012037. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/465/1/012037/pdf>

Najumudin, K., Ayubu J., & Elnazeer, A. M. (2018). Antigiardial activity of some plant extracts used in traditional medicine in Sudan in comparison with metronidazole. *Microbiology Current Research*, 2(4), 75-82. <https://doi.org/10.35841/2591-8036.18-1025>.

Niveditha, V. R., Sridhar, K. R., & Chatra, S. K. R. (2012). Fatty acid composition of cooked and fermented beans of the wild legumes (*Canavalia*) of coastal sand dunes. *International Food Research Journal*, 19(4). <http://agris.upm.edu.my:8080/dspace/handle/0/11758>.

Parra-Aguilar, I. (2018). Actividad Antiparasitaria de Polifenoles en Tortilla de Maíz Criollo azul en *Giardia duodenalis*. Efecto del Proceso de Cocción por Microondas. [Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. México].

Ramírez-Esparza, U., Ochoa-Reyes, E., Baeza-Jiménez, R., & Buenrostro-Figueroa, J. J. (2024). Efecto de la fermentación en medio sólido sobre el contenido de fenoles

totales y la capacidad antioxidante del maíz. *CienciaUAT*, 136-144. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v18i2.1801>.

Reyes-Bastidas, M., Reyes-Fernandez, E.Z., Lopez-Cervantes, J., Milan-Carrillo, J., Loarca-Pina, G.F., & Reyes-Moreno, C. (2010). Physicochemical, Nutritional and Antioxidant Properties of Tempeh Flour from Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Science and Technology International*, 16(5), 427–434. <https://doi.org/10.1177/1082013210367559>.

Sánchez-Madrugal, M. Á., Quintero-Ramos, A., Martínez-Bustos, F., Meléndez-Pizarro, C. O., Ruiz-Gutiérrez, M. G., Camacho-Dávila, A., Torres-Chávez, P.I., & Ramírez-Wong, B. (2015). Effect of different calcium sources on the bioactive compounds stability of extruded and nixtamalized blue maize flours. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 2701-2710. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-014-1307-9>.

Sánchez-Magaña, L.M., Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo J., Mora-Rochín, S., León-López, L., Gutiérrez-Dorado, R., & Cuevas-Rodríguez, E. (2019). Influence of solid-state bioconversion by *Rhizopus oligosporus* on antioxidant activity and phenolic compounds of maize (*Zea mays* L.). *Agrociencia*, 53(1), 45-57. <https://agrociencia-colpos.org/index.php/agrociencia/article/view/1750/1750>.

Shukla, R., & Sathyanarayana, P. (2021). Antioxidant activity screening models and their mechanism: a review. *Plant Archives*, 21(1), 1024-1032. <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.no1.111>.

Tai, Y., Shen, J., Luo, Y., Qu, H., & Gong, X. (2020). Research progress on the ethanol precipitation process of traditional Chinese medicine. *Chinese Medicine*, 15, 1-17. <https://doi.org/10.1186/s13020-020-00366-2>.

Teoh, S. Q., Chin, N. L., Chong, C. W., Ripen, A. M., Firdaus, M. S. H. B. M., & Lim, J.J.L. (2024). A review on health benefits and processing of tempeh with outlines on its functional microbes. *Future Foods*, 9(100330), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2024.100330>.

Vargas, E., Duque-Beltrán, S., Arévalo-Jamaica, A., & Quintero-Vargas F.L. (2018). Vigilancia tecnológica e inteligencia competitiva de un desarrollo tecnológico para la detección de *Giardia*, una innovación en salud. *Revista Panamericana Salud Publica*, 42(e82), 1-8. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2018.82>.

Zavala, G. A., van Dulm, E., Doak, C. M., García, O. P., Polman, K., & Campos-Ponce, M. (2020). Ascariasis, Amebiasis and Giardiasis in Mexican children: distribution and geographical, environmental and socioeconomic risk factors. *Journal of Parasitic Diseases*, 44 (1), 829-836. <http://doi.org/10.1007/s12639-020-01260-2>.