



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico Biológicas
Programa Regional de Posgrado en Biotecnología
Maestría en Ciencias con Orientación en Biotecnología

**Evaluación de la Actividad Antioxidante y Antibacteriana de
Compuestos Bioactivos en Tortillas de Maíz (*Zea mays* L.)
Criollo Azul Frente a Cepas Hospitalarias de *Escherichia
coli* y *Staphylococcus aureus* con Resistencia Múltiple**

TESIS

que presenta

IBT. Jocelyn Palmira Cristerna Díaz

como requisito para obtener

el grado de

**Maestra en Ciencias
con Orientación en
Biotecnología Agroalimentaria**

Directores de Tesis

Dra. Saraid Mora Rochín

Dra. Bianca Anabel Amézquita López

Culiacán Rosales, SIN, MEX Marzo de 2018

PRESENTACIÓN

La presente investigación, titulada “**Evaluación de la Actividad Antioxidante y Antibacteriana de Compuestos Bioactivos en Tortillas de Maíz (*Zea mays* L.) Criollo Azul Frente a Cepas Hospitalarias de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* con Resistencia Múltiple**”, se llevó a cabo en los laboratorios del Programa Regional de Posgrado en Biotecnología (Laboratorio de Nutracéuticos, Facultad de Ciencias Químico Biológicas / Centro de Investigación Aplicada a la Salud Pública- CIASAP / Facultad de Medicina), de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Los C. Dr. Héctor Flores Villaseñor, Dra. Edith Oliva Cuevas Rodríguez, Dra. Johana Marcela Soto Beltrán, Dra. Bianca Anabel Amézquita López y Dra. Saraid Mora Rochín, participaron como Asesores Académicos. Las dos últimas Investigadoras fungieron como Director de Tesis. Este proyecto de investigación fue financiado con recursos aportados por el Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI), convocatoria 2014 con número de proyecto PROFAPI2015-014 y PROFAPI2015-188, así como con recursos del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) con número de proyecto 168279. Además, la C. IBT. Jocelyn Palmira Cristerna Díaz contó con el apoyo del CONACyT, por medio de la Beca de Tesis para Estudios de Maestría 2016-2018 (No. De Becario 652109). El responsable técnico de este trabajo fue la Dra. Saraid Mora Rochín.

DEDICATORIA

A **mis padres**, quienes siempre han estado
ahí para educarme, apoyarme y comprenderme.
Quienes siempre han creído en mí, aún cuando yo
dudaba de mí. Sin lugar a dudas no hay mayor
fuente de inspiración para mí, **GRACIAS PAPÁS**
por siempre motivarme a ser mejor en la vida.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres **Mario Cristerna Sánchez** y **Ma. Gloria O. Díaz Villa**, por ser el incansable soporte de nuestra familia. Por nunca soltarnos de la mano y siempre impulsarnos a ser mejores personas, y sobre todo por su esfuerzo para darnos una vida llena de valores y principios, pero sobre todo, gracias por darnos la mejor de las herencias, la *Educación*. Los amo.

A mi hermana **Gloria**, porque aunque estemos a muchos kilómetros de distancia, yo sé que siempre estás pendiente de nosotros. No sé que haría sin esa alegría y locura que traes a casa en cada una de tus visitas. Gracias por enseñarme lo que es el amor de tía, con mis princesas **Danae** y **Dania**.

A mi hermano **Mario**, mi mayor ejemplo de superación personal y profesional. Gracias por siempre estar para mis hermanas y para mí. Gracias también por regalarme a la tercera **D** más importante de mi vida, mi **Danna**.

A mi hermana **Gabriela**, la más pequeña y valiente de todos. Me has enseñado que no hay meta a la que no se pueda llegar cuando pones esfuerzo y dedicación en alcanzarla. Te quiero.

A **Daniel**, mi cuarta **D**; gracias por tu comprensión, paciencia, apoyo y consejos. Yo sé que tampoco fue fácil para ti, pero no pudiste hacerlo mejor. Te amo.

A mis cuñados **Kenia** y **David**, porque gracias a ustedes la familia creció, y con ello la felicidad y alegría se multiplicó. Gracias porque no he recibido mejor regalo, mis hermosas e inteligentes sobrinas. A mi cuñado **Kevin**, gracias por apoyarme cuando sabías que no podía más, por siempre darme palabras de aliento. ¡Muchas gracias!

A mis inseparables gorditos, **Liliana** e **Iván**, no sé que sería de mí sin ustedes. Diez años de amistad se dicen fácil, pero no lo han sido. Hemos vivido momentos felices, tristes y muy tristes, pero siempre juntos y espero que así sea por siempre. ¡Los adoro!

A mi amigo y **MC. Manuel Fonseca**, el responsable de que haya elegido esta casa de estudios para la realización de mi posgrado. Gracias por el apoyo técnico para la realización de este trabajo, pero sobre todo, gracias por siempre ayudarme, apoyarme y acompañarme durante estos ocho años de amistad.

Al Prolacteam: **Gaby**, **Eslim** y **Astrid**, muy diferentes la una de la otra pero unidas por un mismo sentir. Definitivamente una de las cosas que más agradezco de este proceso es haberlas conocido, gracias por aguantarme. Las quiero.

A mi compañera, cómplice y amiga, **Brisceida**, gracias por siempre orientarme y apoyarme.

Así como a las personas e instituciones que directa e indirectamente hicieron posible este trabajo:

A la **Universidad Autónoma de Sinaloa**, que por medio de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, me abrió las puertas para la realización de este posgrado.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, por el apoyo económico otorgado durante estos dos años de preparación académica.

A la **Dra. Saraid Mora Rochín**, por creer en mí para la realización de este trabajo. Gracias por compartirme sus conocimientos y su tiempo; por escucharme, apoyarme, tenerme paciencia y muchas veces preocuparse por mí bienestar; su trabajo en mi formación fue mucho mas allá de de lo académico y de verdad que lo valoro muchísimo. Definitivamente el trabajar a su lado fue la mejor experiencia y siempre estaré agradecida por la casualidad que nos hizo trabajar juntas; me llevo sus enseñanzas teóricas, pero también como persona. Muchas gracias de todo corazón.

A la **Dra. Bianca Anabel Amézquita López**, por haberme aceptado como su estudiante, por brindarme su apoyo y asesoría constante. Por el conocimiento transmitido y por siempre exigirme más. Pero sobre todo, por sembrar en mí el gusto por la Microbiología ¡Muchas gracias!

Al **Dr. Héctor Manuel Flores Villaseñor**, que aunque fue corta mi estancia en su laboratorio, fue suficiente para darme cuenta de la excelente calidad humana que posee y del excelente profesional que es. Gracias por su disposición, por abrirme las puertas de sus instalaciones y hacerme sentir parte de ellas; por el tiempo, y por los conocimientos teóricos y prácticos invertidos en este proyecto. Siéntase acreedor de mi respeto, admiración y amistad. ¡Infiníitas gracias!

Al **Dr. Lucio Hernández Díaz**, por su participación técnica en la última etapa de este proyecto, así como por el apoyo moral brindado durante mi estancia en el CIASaP. ¡Muchas Gracias!

A la **Dra Edith O. Cuevas Rodríguez** por sus consejos, observaciones y por las facilidades otorgadas para la realización de esta investigación.

A los (as) Doctores **Nallely Gaxiola, Dulce María Domínguez, Liliana León, Álvaro Montoya y Marcela Soto**.

Al **Dr. Ignacio Contreras Andrade**, por recibirme en sus instalaciones y aceptarme como “su hija adoptiva”. Muchas gracias.

A los (as) Doctores del **CIASaP**, **Adrián Canizalez Román**, **Nidia León Sicairos**, **Jorge Velazquez Román**, **Loranda Calderón Zamora**. Gracias por todas las facilidades otorgadas durante mi estancia en sus instalaciones.

A mis siempre dispuestas brigadistas de servicio social, **Bianca y Tania**, seguramente me habría vuelto loca si no las hubiera tenido conmigo. ¡Muchísimas gracias por su valioso apoyo!

A mis compañeros del laboratorio de Nutracéuticos, **Carlos, Radamés, Oscar, Eduardo, Evelyn, Itzel, Isabel, Maribel, Aliette, Yudith**, por su apoyo, explicaciones, observaciones, pero principalmente por su amistad brindada. ¡Gracias!

A mis compañeros del laboratorio de Microbiología, **Edgar, Sara, Kathia, Karely, Maricarmen, Denisse, Cindy**, por su apoyo, pero principalmente por su amistad. ¡Gracias!

A **Luis, Adalberto, Claudio y Lulú**, por siempre recibirme con una sonrisa y ofrecerme su sincero apoyo durante mis visitas al CIASaP. ¡Gracias!

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE CUADROS	vii
I RESUMEN	1
ABSTRACT	2
II INTRODUCCIÓN	3
III REVISIÓN DE LITERATURA	
A ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS	5
B MICROORGANISMOS QUE OCASIONAN ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES	6
1 Bacterias	6
a Gram positivas	7
1) <i>Staphylococcus aureus</i>	7
b Gram negativas	9
1) <i>Escherichia coli</i>	10
2 Métodos de control de bacterias	11
a Antibióticos	11
b Mecanismo de acción de los antibióticos	12
1) Inhibición de la síntesis de la pared celular	12
2) Alteración de la membrana citoplasmática	14
3) Inhibición de la síntesis de proteínas	14
4) Alteración de la síntesis de ácidos nucleicos	15
C RESISTENCIA ANTIBACTERIANA	16
1 Microorganismos que han reportado resistencia a antibióticos	17
2 Resistencia múltiple	18
3 Mecanismos de resistencia	18
a Inactivación del antibiótico	18

b	Alteración del sitio blanco del antibiótico	19
c	Barreras de permeabilidad	19
4	Alternativas antimicrobianas	20
a	Extractos vegetales	20
b	Mecanismo de acción de los compuestos fitoquímicos	21
D	MAÍZ AZUL: ALIMENTO CON POTENCIAL ANTIMICROBIANO	22
1	Generalidades	22
2	Composición fitoquímica del maíz azul	23
a	Polifenoles	25
1)	Ácidos fenólicos	25
2)	Flavonoides	27
3)	Antocianinas	29
3	Bioactividad de los polifenoles	32
a	Actividad antioxidante química	32
b	Actividad antibacteriana	36
4	Principales formas de consumo	36
a	Tortilla	37
5	Procesamiento del maíz para la elaboración de tortillas	38
a	Nixtamalización tradicional	38
1)	Efecto del procesamiento sobre el contenido de fitoquímicos	38
IV	JUSTIFICACIÓN	43
V	HIPÓTESIS	44
VI	OBJETIVOS	45
A	GENERAL	45
B	ESPECÍFICOS	45
VII	MATERIALES Y MÉTODOS	
A	MATERIALES	46
B	MÉTODOS	46

1	Caracterización física del grano crudo de maíz criollo azul	46
a	Dimensiones físicas	46
b	Peso de 1000 granos	46
c	Peso hectolítrico	46
2	Características químicas del grano crudo y tortillas de maíz criollo azul	47
a	Humedad	47
b	Proteína	47
c	Lípidos	48
d	Cenizas	48
e	Carbohidratos	48
3	Propiedades fisicoquímicas del grano crudo y tortillas de maíz criollo azul	48
a	Diferencia de color	48
4	Producción de harina nixtamalizada de maíz criollo azul	49
5	Elaboración de tortillas de harinas de maíz criollo azul nixtamalizado	50
6	Obtención de harinas del grano crudo y tortillas de maíz criollo azul	50
7	Compuestos bioactivos de maíz criollo azul	50
a	Extracción de fenólicos libres	50
b	Extracción de fenólicos ligados	51
c	Purificación de extractos de maíz criollo azul	51
1)	Extracto crudo (EC)	51
2)	Fracción rica en Polifenoles (FP)	52
3)	Fracción rica en Antocianinas (FA)	53
d	Determinación de compuestos fenólicos	53
e	Determinación de antocianinas totales	54
8	Determinación de la capacidad antioxidante	55
a	ABTS	55
b	DPPH	56
9	Determinación de la capacidad bactericida	56

	a Cepas bacterianas y condiciones de cultivo	56
	b Inhibición del crecimiento bacteriano en presencia de compuestos bioactivos de maíz criollo azul	57
	c Concentración mínima inhibitoria	57
	10 Análisis estadístico	58
VIII	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
	A Características físicas del grano de maíz criollo azul	59
	B Composición química del grano crudo y tortilla de maíz criollo azul	62
	C Propiedades fisicoquímicas del grano crudo y tortilla de maíz criollo azul	64
	D Compuestos bioactivos en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul	66
	E Actividad antioxidante química del grano crudo y tortilla de maíz criollo azul	69
	F Compuestos bioactivos en Fracciones ricas en Polifenoles y Antocianinas en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul	71
	G Actividad antioxidante química en Fracciones ricas en Polifenoles y Antocianinas en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul	73
	H Evaluación de la capacidad inhibitoria del crecimiento bacteriano de compuestos bioactivos de maíz criollo azul	76
	1 Capacidad bactericida de extractos polifenólicos y de antocianinas de maíz criollo azul crudo	76
	2 Capacidad bactericida de extractos polifenólicos y de antocianinas de tortillas de maíz criollo azul	82
	3 Concentración mínima inhibitoria	84
IX	CONCLUSIONES	91
X	BIBLIOGRAFÍA	93
	ABREVIATURAS	105

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Diferencias estructurales de la pared celular gram negativa y gram positiva	8
2	Clasificación de los antimicrobianos de acuerdo a su mecanismo de acción	13
3	Muestra de mazorcas de la raza Elotero de Sinaloa	24
4	Estructura básica de los pigmentos de antocianidina	30
5	Antocianinas más comúnmente encontradas en los alimentos	31
6	Ruta general de biosíntesis de las antocianinas	33
7	Proceso de nixtamalización	39
8	Cinética de muerte bacteriana de STEC por acción de extractos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de grano crudo de maíz criollo azul	77
9	Cinética de muerte bacteriana de STEC _{MDR} por acción de extractos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de grano crudo de maíz criollo azul	79
10	Cinética de muerte bacteriana de <i>S. aureus</i> por acción de extractos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de grano crudo de maíz criollo azul	80
11	Cinética de muerte bacteriana de MR- <i>S. aureus</i> por acción de extractos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de grano crudo de maíz criollo azul	81
12	Cinética de muerte bacteriana de STEC por acción de extractos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de tortilla nixtamalizada de maíz criollo azul	83
13	Cinética de muerte bacteriana de STEC _{MDR} por acción de extractos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de tortilla nixtamalizada de maíz criollo azul	84
14	Cinética de muerte bacteriana de <i>S. aureus</i> por acción de extractos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de tortilla nixtamalizada de maíz criollo azul	85
15	Cinética de muerte bacteriana de MR- <i>S. aureus</i> por acción de extractos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de tortilla nixtamalizada de maíz criollo azul	87

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Fitoquímicos presentes en maíz azul	26
2	Ácidos fenólicos reportados en maíz	28
3	Fuentes de sustancias antioxidantes de origen dietético	35
4	Efecto del procesamiento sobre el contenido de fitoquímicos en maíces	42
5	Características físicas de los granos crudos de maíz criollo azul	60
6	Composición química del grano crudo y tortillas de maíz criollo azul	63
7	Propiedades fisicoquímicas del grano crudo y tortillas de maíz criollo azul	65
8	Compuestos fenólicos y de antocianinas en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul	67
9	Capacidad antioxidante química del grano crudo y tortilla de maíz criollo azul	70
10	Compuestos fenólicos y antocianinas de Fracciones ricas de Polifenoles y Antocianinas en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul	72
11	Capacidad antioxidante química de Fracciones ricas de Polifenoles y Antocianinas en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul	74
12	Concentración Mínima Inhibitoria de extractos polifenólicos y de antocianinas de maíz criollo azul y de tortillas nixtamalizadas frente a cepas bacterianas de asilados clínicos	87

I. RESUMEN

Uno de los principales problemas de salud pública en México son las enfermedades de origen bacteriano y la resistencia a antibióticos que han desarrollado estos patógenos. Esta situación ha impulsado la búsqueda de alternativas que den solución a los problemas de salud que afectan a la sociedad. Como ejemplo de ello se encuentran los extractos de diferentes especies vegetales, cuya actividad es asociada principalmente a los compuestos fenólicos que contienen. El maíz (*Zea mays* L.) criollo azul, se ha considerado como una fuente importante de compuestos bioactivos y ha demostrado importante actividad biológica para la prevención de padecimientos crónicos degenerativos, así como también propiedades bactericidas frente a bacterias Gram positivas y negativas. Dado que el producto de maíz mayormente consumido por la población Mexicana, es la tortilla nixtamalizada, este estudio tuvo como objetivo evaluar propiedades antioxidantes (por los métodos químicos ABTS y DPPH) y antibacterianas sobre compuestos bioactivos presentes en tortilla de maíz (*Zea mays* L.) criollo azul. La transformación del grano de maíz azul en tortillas, mostró porcentajes de retención de 68.03 y 39.8 en fenólicos totales (libres + ligados) y antocianinas totales. Mientras que la actividad antioxidante total (libres + ligados) evaluada por los métodos de ABTS y DPPH mostraron una retención > 63%, con respecto al grano sin procesar. Asimismo, las fracciones purificadas de polifenoles y antocianinas en tortilla retuvieron > 63% de fenólicos totales, y 48.3 y 52.3 para antocianinas totales. La actividad antioxidante mostró variación con respecto al extracto purificado y método utilizado. Los extractos polifenólicos de grano crudo y tortilla probados frente a cepas de *E. coli* productora de Toxina Shiga (STEC) y *S. aureus* (ATCC 25923), presentaron una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 20 mg/mL. Sin embargo, para *S. aureus* Meticilino resistente (MRSA) y STEC Multi resistente, la CMI fue de 10 y 40 mg/mL, en el extracto de polifenoles para grano crudo. La Fracción rica en antocianinas del grano crudo y tortilla presentaron una CMI de 10 y 20 mg/mL, frente a las cepas en estudio.

Palabras clave: *compuestos bioactivos, resistencia antibacteriana, maíz criollo azul.*

ABSTRACT

One of the main public health problems in Mexico are the diseases of bacterial origin and the resistance to antibiotics that these pathogens have developed. This situation has promoted the search for alternatives that provide a solution to the health problems that affect society. An example of this are the extracts of different plant species, whose activity is mainly associated to the phenolic compounds they contain. Blue (*Zea mays* L.) maize, has been considered an important source of bioactive compounds and has shown important biological activity for the prevention of chronic degenerative diseases, as well as bactericidal properties against Gram positive and negative bacteria. Given that the maize product most consumed by the Mexican population is the tortilla, this study aimed to evaluate antioxidant and antibacterial properties on bioactive compounds present in blue maize tortilla (*Zea mays* L.). The nixtamalized tortillas presented a retention of polyphenols, total anthocyanins and antioxidant activity (ABTS and DPPH) of 68.03%, 39.80%, and 65.93% and 63.13%, respectively, with respect to the unprocessed grain. On the other hand, the purified fractions of tortilla polyphenols and anthocyanins retained 63.91% and 65.53% of total phenolics, and 48.30% and 52.30% of total anthocyanins; in terms of antioxidant capacity, they retained 49.11% and 94.10% for DPPH, and 72.98% and 85.66% for ABTS.

The polyphenolic extracts of raw grain and blue maize tortilla tested against strains of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, showed a Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of 20 mg/mL; for the strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and multidrug-resistant STEC, the results were contrasting, obtaining an MIC of 10 and 40 mg/mL, respectively, for the extract rich in crude polyphenols. The anthocyanin-rich fraction of the raw grain had the lowest MIC, 10 mg/mL, compared to the strains under study.

Keywords: *bioactive compounds, antibacterial resistance, blue maize*

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades gastrointestinales son uno de los principales problemas de salud pública en México. El contagio o adquisición de los patógenos que las producen, se da a través de las necesidades primarias como lo es el consumo de agua o alimentos (Ruiz y col, 2017). Los microorganismos responsables de estos padecimientos son los parásitos (*Giardia lamblia*), virus (Rotavirus; virus Norwalk), pero principalmente bacterias (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* y *Staphylococcus aureus*) (Hernández-Cortez y col, 2011).

Anteriormente, la cura de estas infecciones era atribuida a los antibióticos, sin embargo, la resistencia a estos agentes antimicrobianos en la mayoría de los patógenos se ha convertido en un problema clínico, epidemiológico y de salud pública a nivel mundial, donde las consecuencias derivadas de la resistencia a antibióticos son múltiples (Soto-Huamaní, 2014). Por tal motivo, se ha puesto atención a compuestos bioactivos presentes en vegetales, los cuales pudieran ser potencial para superar mecanismos de resistencia (Concepción, 2006).

El consumo regular de alimentos basados en granos integrales se ha asociado con importantes beneficios a la salud, los cuales son atribuidos principalmente a la gran variedad de compuestos bioactivos contenidos en su estructura, tales como fenoles, flavonoides y carotenoides (Liu, 2012; Milán-Carrillo y col, 2017). El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los granos más importantes en la alimentación mundial; en México, se cultiva una gran variedad de maíces criollos tradicionales en diferentes regiones, siendo las variedades locales Chalqueño, Bolita y Elotes cónico las que prevalecen en los Valles Altos de la Mesa Central. En el noroeste de México, específicamente en el Estado de Sinaloa, se han identificado

y clasificado 13 variedades de maíz, siendo Tabloncillo y Elotero de Sinaloa las variedades de maíz distintivas de esta región (Sánchez y col, 2000; Pineda-Hidalgo y col, 2013).

La tortilla es la principal forma de consumo del maíz, y constituye el alimento diario en México y América Central. La tecnología para la producción de tortilla involucra el cocimiento térmico alcalino del grano, proceso denominado nixtamalización. Diversos investigadores han demostrado que este proceso mejora propiedades fisicoquímicas y estructurales, así como el valor nutricional de la tortilla, sin embargo, afecta la concentración de compuestos bioactivos (Mendoza-Díaz y col, 2012; Gutiérrez-Urbe y col, 2014; Bello-Pérez y col, 2015; Corrales-Bañuelos y col, 2016).

Estudios recientes han demostrado que los maíces criollos pigmentados presentan actividades biológicas relacionadas con la prevención al estrés oxidativo, actividad antimutagénica y reducción de la carcinogénesis de colon (Reynoso-Camacho y col, 2015; Gaxiola-Cuevas, 2017), así como actividad bactericida frente a bacterias Gram positivas y negativas (Sepúlveda-García, 2017; Rábago-Monzón, 2017), propiedad atribuida al contenido de compuestos fenólicos en el grano de maíz (Das y Singh, 2015).

Existen pocos estudios relacionados a la actividad antibacteriana en la planta de maíz (Nessa y col, 2012; Soto-Huamaní, 2014; Morshed y Islam, 2015), sin embargo, no existen reportes de dicha actividad en extractos purificados a partir del grano, o del grano procesado por nixtamalización; por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar propiedades antioxidantes y antibacterianas sobre compuestos bioactivos presente en en tortilla de maíz criollo azul.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

A ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son todas aquellas causadas por la ingestión de agua o alimentos contaminados con patógenos, o productos de su metabolismo, así como con sustancias químicas o parásitos que provocan un efecto nocivo en la salud del consumidor (Ruiz y col, 2017). De acuerdo a la fuente de adquisición de la enfermedad, las ETA pueden clasificarse en infecciones, cuando se consumen alimentos que contienen microorganismos vivos; e intoxicaciones, ya sea por toxinas producidas por bacterias o mohos, o por la ingestión de elementos químicos en concentraciones dañinas para el ser humano (OMS, 2016).

Las ETA constituyen un problema sanitario y económico de relevancia mundial, ya que según la OMS cada año enferman en el mundo aproximadamente 600 millones de personas por la ingestión de alimentos contaminados; de esta cifra, 420,000 terminan en muerte, lo que se traduce en 33 millones de años de vida ajustados en función de la discapacidad (AVAD) (Murray y López, 1996; OMS, 2010; 2017). Se sabe que estas enfermedades atacan a la población en general, sin embargo, los niños menores de 5 años son los más susceptibles, representando el 40% de las cifras mundiales relacionadas a este tipo de padecimientos, con aproximadamente 130,000 defunciones anuales en este grupo de edad (OMS, 2017).

En el año 2016, las infecciones intestinales por otros organismos y las mal definidas, fueron la segunda causa más alta de morbilidad en México con un total

de 4,417,983 casos (SINAVE, 2017). Para el 2017, a nivel nacional, se reportaron 5,606,759 casos de infecciones intestinales por otros organismos, y las mal definidas, de los cuales 155,244 se presentaron en el estado de Sinaloa. De estos, 25,506 fueron exclusivamente personas que sufrieron intoxicación alimentaria de origen bacteriano (SSA, 2018). Para la semana 8 del año 2018, se han reportado 575,451 casos por este mismo concepto, de los cuales 3,735 son debido a intoxicaciones alimentarias por bacterias (SINAVE, 2018).

De acuerdo a los datos anteriormente expuestos, se observa que no hay un aumento o disminución significativa en la tasa de morbilidad respecto a las infecciones intestinales; no obstante, y debido a su carácter transmisible, la prevención y tratamiento de estos padecimientos deberían ser prioritarios para los sistemas de salud estatales, nacionales y mundiales.

B MICROORGANISMOS QUE OCASIONAN ENFERMEDADES

GASTROINTESTINALES

El espectro de enfermedades infecciosas está cambiando en conjunto, y se observan variaciones dramáticas en nuestra sociedad y medio ambiente. En los últimos 25 años se han logrado avances en el conocimiento de las infecciones gastrointestinales (Hernández-Cortez y col, 2011). Entre las enfermedades del tracto gastrointestinal más frecuentes se encuentran las diarreas, donde los agentes patógenos involucrados son virus (Rotavirus y virus Norwalk), parásitos (*Giardia lamblia* y amibas) y bacterias (Hernández-Cortez y col, 2011).

1 Bacterias

En términos generales, las bacterias son microorganismos procariotas

unicelulares de tamaño micrométrico (entre 0,5 y 5 μm de largo). Poseen una pared celular compuesta de peptidoglicanos, y gran parte de ellas disponen de flagelos como sistemas de desplazamiento. Se dice que son ubicuas, ya que se encuentran en todo hábitat de la tierra (Merino,2008).

Las bacterias se pueden identificar de acuerdo a su tipo de pared celular y, son denominadas Gram positivas o Gram negativas de acuerdo al método de Tinción diferencial de Gram, el cual permite identificar la morfología de la célula bacteriana según la tinción de su su pared celular (Mora, 2012).

Las enfermedades gastrointestinales infecciosas son principalmente causadas por bacterias de las especies *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*, o de los géneros *Salmonella*, *Campylobacter* y *Shigella* (OMS, 2017).

a Gram negativas

Las bacterias Gram negativas en su cubierta constan de tres elementos: la membrana citoplasmática, la membrana externa y, entre ambas, un espacio periplásmico constituido por péptidoglicano. Esta última estructura confiere a la bacteria su forma y rigidez, y le permite resistir presiones osmóticas ambientales relativamente elevadas (Soto-Huamaní, 2014) (**Figura 1A**). En la membrana externa se encuentran los lipopolisacáridos, endotoxinas con un potente efecto tóxico, que tienen un papel primordial en la adhesión de las bacterias a células epiteliales del intestino (Mora, 2012). *E. coli* es el bacilo Gram negativo mas abundante en la microbiota intestinal. Sin embargo, también es uno de los patógenos más relevantes para el ser humano (Makvana y Krilov,2015).

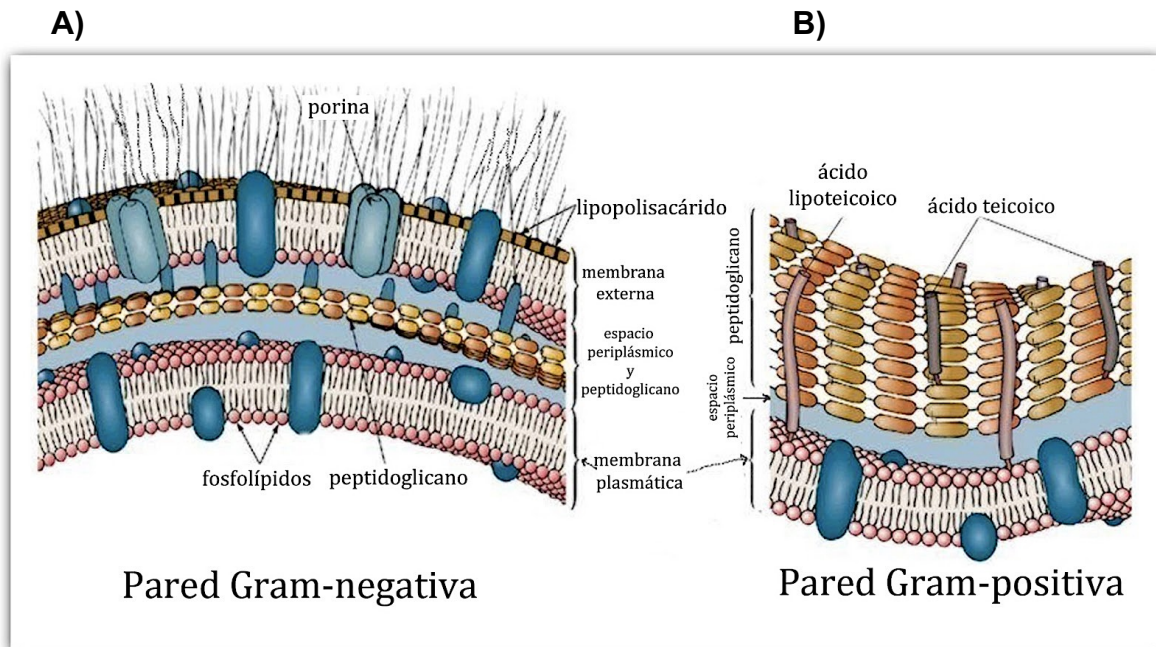


Figura 1. Diferencias estructurales de la pared celular gram negativa y gram positiva

Bello-Pérez (2015)

1) *Escherichia coli*

E. coli es una bacteria comúnmente encontrada en humanos y animales formando parte del microbioma del tracto gastrointestinal (Tchaptchet y Hansen, 2011). Pertenece a la familia de las enterobacterias siendo bacilos Gram negativos no esporulados, móviles mediante flagelos peritricos, aerobios y anaerobios facultativos que fermentan glucosa y lactosa. *E. coli* es habitante de los intestinos de la mayor parte de los mamíferos sanos, donde se comporta como comensal e integra la flora intestinal (Roldán y col, 2011). Además, participa en el funcionamiento digestivo produciendo vitaminas del complejo B y K (Thiel, 1999). Algunas bacterias de *E. coli* adquirieron por intercambio de material genético algunos elementos como plásmidos, prófagos, transposones e islas de patogenicidad que le han conferido la capacidad de causar infecciones (Kaper y col, 2004). Una de las principales enfermedades causadas por este patógeno son las entéricas, de las cuales se conocen seis diferentes patotipos según su mecanismo para causar enfermedad y su factor de virulencia, donde encontramos: *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* entero invasiva (ECEI), *E. coli* enteroagregativa (ECEA), *E. coli* de adherencia difusa (ECAD), y *E. coli* entero hemorrágica (ECEH) donde encontramos a *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC, siglas en inglés) (Hernández-Cortez y col, 2011).

b Gram positivas

La gruesa pared celular de las bacterias gram positivas está constituida principalmente por peptidoglicano. Se ha reportado que ésta gruesa capa es determinante para que estas bacterias retengan el cristal violeta de la tinción de

Gram (Pumarola, 2000). Sin embargo, estas células contienen también una gran cantidad de ácido teicoico: polisacáridos que se unen al ácido N-acetilmurámico o a los lípidos de la membrana plasmática, fomentando la adherencia bacteriana al epitelio (Pírez y Mota, 2000) (**Figura 1B**). Como ejemplo de este grupo bacteriano podemos encontrar a *Staphylococcus aureus*, patógeno bacteriano que se encuentra ampliamente distribuido y, responsable de múltiples y variadas enfermedades (Arroyave-Rivera y col, 2014).

1) *Staphylococcus aureus*

El género *Staphylococcus* está formado por cocos Gram positivos, de un diámetro aproximado de 0.5 a 1.5 μm , no forman esporas, son anaerobios facultativos y carecen de movilidad. Se caracterizan por formar colonias lisas, brillantes y convexas, agrupándose en racimos irregulares (Gonzales y col, 2009).

A *Staphylococcus aureus* se le puede encontrar como comensal que coloniza principalmente piel y nasofaringe (David y Daum, 2010). Es responsable de una gran variedad de patologías como neumonía, endocarditis infecciosa, síndrome de choque tóxico, bacteriemia y sepsis (Jiménez y col, 2013).

En las últimas dos décadas han incrementado las bacteremias por Gram positivos (Cervera y col, 2009); y esto, posiblemente, se relaciona con el ascenso en la incidencia de bacteremias por *S. aureus* (BSA) y por el drástico aumento de la tasa de resistencia antibiótica (SAMR) en los últimos años (Arroyave-Rivera y col, 2014). El aumento en la incidencia de SAMR ha dificultado el enfoque inicial de los pacientes con bacteremia por *S. aureus* (BSA) (Shorr y col, 2005) y, como consecuencia, ha llevado a un aumento en las tasas de morbi-mortalidad, y en los

costos del sistema de salud, principalmente, al mayor uso de recursos y a hospitalizaciones más prolongadas (Arroyave-Rivera y col, 2014).

La virulencia de *S. aureus* se debe a moléculas de adhesión, toxinas, enzimas extracelulares y peptidoglicanos de la pared celular, y causa enfermedades por dos vías principales: producción de toxinas que desencadenan cuadros de gastroenteritis, síndrome de la piel escaldada y síndrome de choque tóxico, y por invasión directa tisular, como en las infecciones de los tejidos blandos (Corey, 2009).

2 Métodos de control de bacterias

Desde el siglo XVIII se han empleado sustancias químicas para el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Paul Ehrlich, quien formuló los principios de toxicidad selectiva, reconoció las reacciones químicas específicas entre microorganismos y medicamento, la aparición de la resistencia a estos y la función terapéutica combinada para combatirlos. Posteriormente, se descubrieron las sulfonamidas y se acrecentó el interés en sustancias antibacterianas de origen microbiano, mejor conocidos como antibióticos (Manrique, 1997).

a Antibióticos

Como se mencionó anteriormente, el descubrimiento de la penicilina en 1929, y su posterior introducción a la práctica clínica supuso una verdadera revolución en el tratamiento de patologías infecciosas (Kunin, 1993). Desde entonces, se han incorporado al mercado un gran número de compuestos antimicrobianos, con actividad frente a bacterias, hongos, parásitos y virus.

Ejemplos de los agentes antimicrobianos son los antibióticos, sustancias químicas que tienen como principal objetivo la eliminación de bacterias que inducen diversas enfermedades en el organismo (Seija y Vignoli, 2007; OMS, 2016).

Para que los antimicrobianos alcancen su diana deben atravesar la cubierta bacteriana, salvo cuando la diana es la propia envoltura externa de los gramnegativos. Debido a la estructura de la pared celular, las bacterias Gram negativas ofrecen mayor resistencia que las Gram positivas a la entrada de antimicrobianos (Calvo y Martínez-Martínez, 2009).

b Mecanismo de acción de los antibióticos

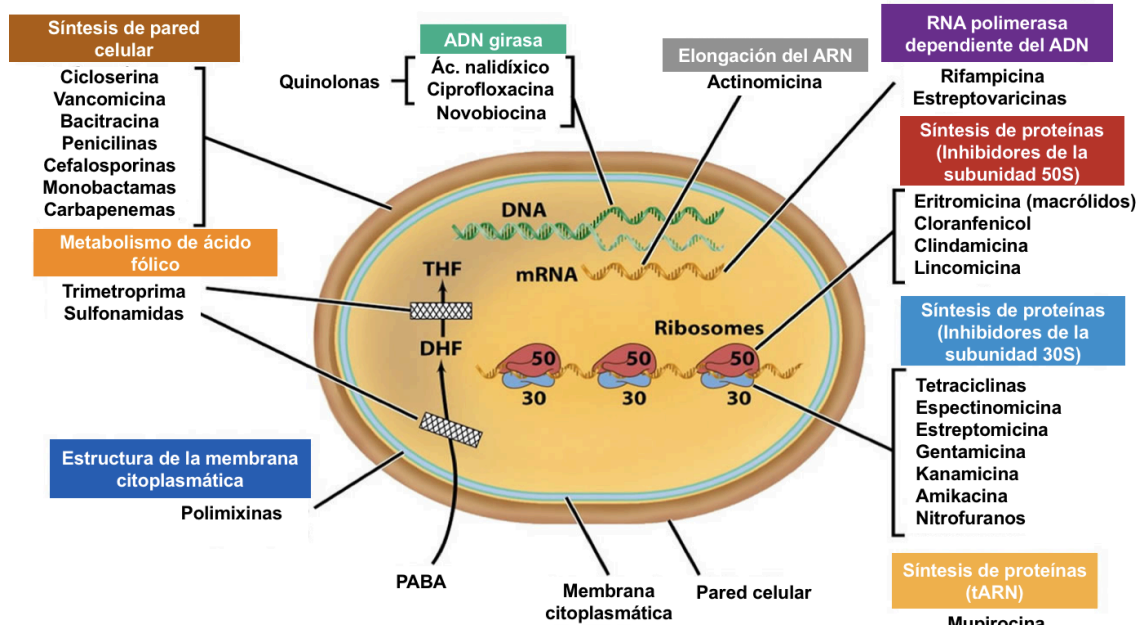
Atendiendo al sitio de acción, función bacteriana y estructura química (Calvo y Martínez-Martínez, 2009), es que se han clasificado a los antimicrobianos de interés clínico de la siguiente manera:

En la **Figura 2** se expone la clasificación de los antimicrobianos desde el punto de vista celular y molecular.

1) Inhibición de la síntesis de la pared celular

Los antibióticos betalactámicos son agentes bactericidas que producen su efecto principalmente a través de 2 mecanismos: inhibición de la síntesis de la pared bacteriana e inducción de la autólisis bacteriana (Suárez y Guadiol, 2009).

La síntesis de la pared celular se desarrolla en 3 etapas, sobre cada una de las cuales pueden actuar diferentes compuestos: la etapa citoplásmica, donde se sintetizan los precursores del peptidoglucano; el transporte a través de la membrana



citoplásmica, y la organización final de la estructura del peptidoglicano

Figura 2. Clasificación de los antimicrobianos de acuerdo a su mecanismo de acción.

Mod Brock Biology of Microorganisms 11/e

Pearson Prentice Hall, Inc (2006)

que se desarrolla en la parte más externa de la pared (Martínez y Sánchez, 2007; Suárez y Guadiol, 2009).

La pared celular protege la integridad anatómica y fisiológica de la bacteria, soportando su presión osmótica interna, por lo que la ausencia de esta estructura condicionaría la destrucción del microorganismo, inducida por el elevado gradiente de osmolaridad que existe entre el medio y el citoplasma bacteriano (Dover y col, 2007; Modi y col, 2014).

2) Alteración de la membrana citoplasmática

La membrana citoplásmica interviene activamente en los procesos de difusión y transporte activo, controlando así la composición del medio interno celular (Seija y Vignoli, 2007; Calvo y Martínez-Martínez, 2009). Las sustancias que alteran esta estructura modifican la permeabilidad, induciendo la salida y entrada de agentes catiónicos y aniónicos que son de vital importancia para la vida bacteriana, o por el contrario, que alteran el metabolismo bacteriano normal (Tsioutis y col, 2010; Modi y col, 2014).

Los antimicrobianos que actúan en esta estructura se comportan como bactericidas, y pueden tener alta toxicidad sobre las células humanas, al compartir algunos componentes de la membrana citoplásmica. Dentro de los antibióticos que actúan a este nivel, están las polimixinas, los lipopéptidos y los antibióticos poliénicos (activos frente a hongos) (Martínez y Sánchez, 2007).

3) Inhibición de la síntesis de proteínas

La síntesis proteica es uno de los procesos mayormente afectados por la acción de los antimicrobianos, y su inhibición se da por las diferencias estructurales entre los ribosomas bacterianos y eucariotas (Calvo y Martínez-Martínez, 2009).

Los ribosomas bacterianos están constituidos por dos subunidades designadas como subunidad 30S y subunidad 50S. Estas subunidades constituyen el sitio de acción de agentes antimicrobianos, localizándose en ellas proteínas específicas a las cuales se unen los principios activos (Modi y col, 2014).

Tres clases importantes de antimicrobianos actúan en la subunidad ribosomal 50S: cloranfenicol, macrólidos y lincinoides (lincomicina, clindamicina). El cloranfenicol es un agente bacteriostático que actúa contra organismos Gram positivos y Gram negativos, inhibiendo la formación de uniones peptídicas al bloquear la enzima peptidil transferasa. Los macrólidos (eritromicina, oleandomicina), son compuestos con grandes anillos de lactona que al unirse a la subunidad 50S interfieren con la actividad de translocación de la peptidil transferasa o inhibiendo la formación de cadenas nuevas del péptido (Tsioutis y col, 2010; Modi y col, 2014).

Los aminoglucósidos (estreptomina, neomicina, kanamicina, amikacina, tobramicina, gentamicina, espectinomicina, paromomicina), son azúcares complejos obtenidos de varias especies de *Streptomyces* e interfieren con la función ribosomal bacteriana de la subunidad 30S (Modi y col, 2014).

4) Alteración de la síntesis de ácidos nucleicos

Las enzimas, sustratos y el ADN molde para la replicación y transcripción del ADN, constituyen sitios diana para la acción de diversos antibióticos (Calvo y Martínez-Martínez, 2009).

Los agentes antimicrobianos que pueden interferir a diferentes niveles en la síntesis de los ácidos nucleicos, ya sea inhibiendo la síntesis de nucleótidos o causando una interconversión de los mismos, así como interferir con polimerasas involucradas en la replicación y transcripción del ADN, son los nitromidazoles y nitrofuranos, así como la rifampicina y quinolonas, respectivamente (Martínez y Sánchez, 2007; Calvo y Martínez-Martínez, 2009; Modi y col, 2014).

C RESISTENCIA ANTIBACTERIANA

La introducción de la penicilina en la práctica médica y el posterior desarrollo de nuevas moléculas con actividad antimicrobiana, se convirtió en la solución a las múltiples enfermedades producidas por agentes infecciosos. Sin embargo, el uso indebido de este y otros antimicrobianos, en los seres humanos y animales, ha acelerado los procesos de selección, los cuales han resultado en la adquisición de fenotipos resistentes, presentando implicaciones sociales y económicas dadas por el incremento de morbilidad y mortalidad en los seres humanos, el aumento de costos en los tratamientos y las largas estancias hospitalarias generadas (Sussmann y col, 2002; Amézquita-López y col, 2016; Mesa y col, 2017).

La modificación genética del mecanismo de defensa del microorganismo, al exponerse a un incremento en la dosis del antibiótico, o los antibióticos (*MDR*: Multi-resistencia), se conoce como resistencia antimicrobiana (Homedes y Ugalde, 2012;

Cabrera y col, 2013).

1 Microorganismos que han reportado resistencia antimicrobiana

Las primeras señales de alarma se dieron cuando se detectó que la penicilina era incapaz de combatir a *Staphylococcus aureus* (Neumayer, 2000; Rocha y col, 2015); inicialmente el problema fue resuelto con el descubrimiento y síntesis de nuevas sustancias capaces de inhibir el crecimiento de esta bacteria; sin embargo, esto no fue suficiente y surgió *Staphylococcus aureus* con resistencia a la meticilina (MRSA). Además de esta cepa, se encontró que un 40% de las cepas de *Streptococcus pneumoniae*, responsable de neumonías, meningitis y otitis se volvieron resistentes al efecto bactericida de penicilina (Neumayer, 2000). Se ha reportado también que algunas cepas de *Enterococcus* (responsables de infecciones del tracto urinario y válvulas cardíacas) se han vuelto resistentes a gran parte de los fármacos existentes en el mercado (Buhner, 2002).

Por otra parte, la resistencia de *Escherichia coli* a antibióticos de uso frecuente como ampicilina y cotrimoxazol (trimetoprima+sulfametoxazol) se mantiene constante desde finales de los años ochenta, y es aún más preocupante la tendencia evolutiva de la resistencia a otros antibióticos considerados primeras opciones en el tratamiento de las infecciones producidas por este patógeno (Reyes-Rodríguez y col, 2013; Amézquita-López y col, 2017).

Un ejemplo reciente es la enzima metalobetalactamasa Nueva Delhi (*bla* NDM-1), analizada en el 2008, la cual confiere a las bacterias la resistencia a penicilinas, cefalosporinas y sus derivados (Rodríguez-Noriega y col, 2014). Los primeros reportes demostraron que este nuevo mecanismo de resistencia, aunado

a otros mecanismos que poseen las bacterias gram negativas, ocasiona un incremento en la morbilidad y la mortalidad en pacientes hospitalizados que adquieren una infección producida por la metalobetalactamasa Nueva Delhi (*bla* NDM-1) (Kumarasamy y col, 2010; Nordmann y col, 2011).

2 Resistencia múltiple

Actualmente, es común encontrar aislamientos bacterianos con diferentes niveles de resistencia, tales como los multirresistentes (MDR; resistente a 2 o más antibióticos), extremadamente resistentes (XDR; resistente a 3 o más antibióticos), y aislamientos panresistentes, los cuales son intratables con los regímenes farmacológicos actuales, incluyendo terapias combinadas (Tsioutis y col, 2010; Rodríguez-Noriega y col, 2014; Rocha y col, 2015).

3 Mecanismos de resistencia

El fenómeno biológico de la resistencia depende de la aparición y conservación de los elementos génicos cromosómicos y extracromosómicos que confieren la resistencia a los organismos. Estos cambios se clasifican en microevolutivos y macroevolutivos. Los primeros son el resultado de mutaciones únicas que comprometen nucleótidos pareados, mientras las macroevolutivas afectan segmentos de ADN (Sussmann y col, 2002; Becerra y col, 2009).

El fenómeno de resistencia tiene un sustrato genético intrínseco o adquirido que se expresa fenotípicamente por mecanismos bioquímicos. Desde el punto de vista molecular y bioquímico, existen básicamente tres mecanismos por medio de los cuales una bacteria puede hacerse resistente al efecto del antibiótico:

inactivación del antibiótico, alteración del sitio blanco del antibiótico y por barreras de permeabilidad (Becerra y col, 2009; Cabrera y col, 2013).

a Inactivación del antibiótico

Se realiza mediante la producción de enzimas que hidrolizan el antibiótico. Son ejemplos de esta la producción de B-lactamasa, B-lactamasa de amplio espectro, eritromicina estereasa y enzimas modificadoras de aminoglucósidos, cloramfenicol, lincosamidas y estreptograminas. La B-lactamasa hidroliza el enlace amida del anillo penicilánico o cefalosporínico resultando un derivado ácido inactivo (Rocha y col, 2016). Se trata de un sistema enzimático amplio, común y eficiente de resistencia.

b Alteración del sitio blanco del antibiótico

En este mecanismo de resistencia bacteriana se modifican algunos sitios específicos de la anatomía celular, como pared celular, subunidad 50s, 30S ribosomales, etc. De esta manera la modificación de enzimas catalizadoras en la producción de proteoglicanos celulares, conferirán resistencia a los B-lactámicos dado que es esta enzima su sitio de acción (Sussmann y col, 2002).

c Barreras de permeabilidad

Este mecanismo de resistencia incluye tres componentes básicos: estructura de la membrana externa de la bacteria, canales inespecíficos que excluyen el antibiótico por tamaño molecular (porinas), y las características fisicoquímicas del antimicrobiano. La permeabilidad de la membrana interna consiste en una modificación energética que compromete el transportador aniónico que lleva el antibiótico hacia el interior de la célula (Sussmann y col, 2002). La presencia de la

capa lipídica en la membrana actúa como un mecanismo de resistencia para medicamentos hidrofóbicos. Las porinas son canales de difusión presentes en la membrana externa de la bacteria, y de la modificación por mutación de estas proteínas se genera una disminución del paso del antibiótico (Villalobos y col, 2014).

4 Alternativas antimicrobianas

Desde tiempos prehistóricos el hombre ha utilizado plantas con fines medicinales. Actualmente, especies de plantas promisorias de uso etnofarmacológico son fuentes de información para el descubrimiento de posibles sustancias con importante actividad biológica (Flores, 2014). Las sustancias derivadas de las plantas han alcanzado una gran proyección, propio de su amplio espectro de acción (Cuevas-Rodríguez, 2011).

La emergencia de la resistencia bacteriana ha generado nuevos intereses en la búsqueda de compuestos extraídos de diversas especies vegetales con poder antibacteriano, centrándose las investigaciones en los productos naturales como fuentes de moléculas bioactivas (OMS, 2010).

Los reportes existentes han mostrado que estos compuestos, que se encuentran principalmente en alimentos de origen vegetal como frutos, vegetales, cereales, entre otros, poseen una gran variedad de estructuras químicas, y además producen gran cantidad y diversidad de efectos biológicos (Hannum, 2004; Sarkar y Shetty, 2014).

a Extractos vegetales

El metabolismo es un conjunto de reacciones bioquímicas que tienen lugar en las células de los organismos vivos, cuya función es la síntesis o degradación de moléculas complejas (García y Carril, 2011).

Las plantas, además del metabolismo primario presente en todos los organismos vivos, poseen un metabolismo secundario que les permite sintetizar moléculas orgánicas que no tienen una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, alimenticios, de transporte o de síntesis de macromoléculas biológicas como aminoácidos, nucleótidos, azúcares o lípidos (García y Carril, 2011); sin embargo, se ha reportado que, estas pequeñas moléculas también conocidas como metabolitos secundarios, funcionan como agentes antimicrobianos, pesticidas naturales, sustancias señalizadoras, agentes protectores contra la radiación UV, así como ser constituyentes de la estructura celular (Sarkar y Shetty, 2014).

Los extractos vegetales son mezclas complejas de metabolitos secundarios que cubren un amplio espectro de efectos farmacológicos, mostrando diversas propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, anticancerígenas, así como actividad biocida en contra de una amplia gama de microorganismos como bacterias, hongos, virus y protozoarios (García y col, 2010).

Los extractos vegetales se han venido utilizando desde la antigüedad para el tratamiento medicinal de diversas enfermedades (Guerrero-Rodríguez y col, 2007); sin embargo, la medicina moderna se ha enfocado en el estudio exhaustivo de los principios activos de estos extractos para la prevención y tratamiento de una gran diversidad de enfermedades, pero principalmente las causadas por la exposición a

radicales libres e infección por microorganismos patógenos (Cerón-Carrillo y col, 2014).

b Mecanismo de acción de los compuestos bioactivos

Los antimicrobianos actúan inhibiendo diversos procesos metabólicos que son esenciales para la supervivencia de los microorganismos. La especificidad de acción depende de que el fármaco bloquee una enzima, o sustrato, ausente en las células eucariotas o con un sitio catalítico distinto (Martínez y Sánchez, 2016).

Poco se sabe del mecanismo de acción preciso de muchos extractos naturales (Calvo y col, 2006), sin embargo, considerando la gran variedad de compuestos químicos presentes en estos extractos, es importante mencionar que su actividad antimicrobiana no se atribuye a un mecanismo específico; no obstante, existen sitios de acción en la célula en dónde pueden ocurrir efectos de degradación, como es el caso de la pared celular y membrana citoplasmática, así como alteraciones en la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas (FAO, 2004; García-García y García, 2011).

D MAÍZ AZUL: ALIMENTO CON POTENCIAL ANTIMICROBIANO

1 Generalidades

México es conocido por poseer la mayor diversidad genética de maíz, siendo acreedor de 59 razas, de las 220 que han sido descritas para América Latina (Sánchez y col, 2000). Esta variación está definida por el factor genético, y depende de las prácticas de cultivo, condiciones climáticas y tipo de suelo (Agama-Acevedo y col, 2011; Figueroa-Cardenas y col, 2013).

De acuerdo a un análisis de la distribución de las distintas razas, la CONABIO dictaminó a Sinaloa como centro de distribución de 13 de ellas; entre estas, las razas Chapalote, Dulcillo de Noroeste, Tabloncillo, Tabloncillo Perla, Reventador, Onaveño, y Elotero de Sinaloa (Perales y Golicher, 2011; Pineda Hidalgo y col, 2013). Estas razas, al ser nativas del Estado, han adquirido el término de “maíz criollo”, el cual hace referencia a aquellas razas heterogéneas que son propias de una región. Es decir, materiales que han sido desarrollados por agricultores con la finalidad de preservar la pureza de la especie vegetal (Fernández-Suarez y col, 2013).

El maíz está compuesto principalmente por germen (12%), endospermo (82%), pericarpio (5.2%) y pedicelo (0.8%) (Eckhoff y col, 2003). El endospermo es rico en almidón y proteínas, mientras que el germen lo es en lípidos, minerales y proteínas. En el caso del pericarpio la mayor parte del mismo es fibra (FAO 1993; Gaxiola-Cuevas, 2017).

La raza Elotero de Sinaloa se caracteriza por la coloración azul de su grano (**Figura 3**), característica que es atribuida a la alta concentración de antocianinas (Dickerson, 2003; López-Martínez y col, 2009; Mora-Rochín y col, 2016) presentes en sus diferentes partes anatómicas, pero principalmente en la aleurona; una fina capa que rodea al endospermo y al germen (Salinas-Moreno y col, 2013).

Actualmente, en el estado de Sinaloa, la siembra de cereales pigmentados es a mano de pequeños agricultores, en suelos marginales y en pequeñas superficies, y la mayor parte de su producción es para autoconsumo (Salinas-Moreno y col, 2013). Sin embargo, es por su riqueza en compuestos bioactivos que

ha despertado el interés de la comunidad científica por conocer sus propiedades biológicas y nutraceuticas.

2 Compuestos bioactivos en maíz azul

El maíz es una fuente importante de compuestos bioactivos o fitoquímicos, que son sintetizados por el metabolismo secundario de las plantas, como productos químicos de defensa frente rayos UV y patógenos (Babbar y col, 2015; Sarkar y Shetty, 2014). Estos compuestos no tienen una función nutricional, sin



Figura 3. Muestra de mazorcas de la raza Elotero de Sinaloa

Vidal Martínez y col (2010)

embargo, cuando son ingeridos, proveen beneficios a la salud; siendo un excelente auxiliar en la prevención y tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas e infecciosas (Serna-Saldivar y col, 2011; Reynoso-Camacho y col, 2015).

En el maíz criollo azul se han identificado diversos compuestos bioactivos distribuidos en las diferentes estructuras del grano (**Cuadro 1**).

a Polifenoles

Los polifenoles son una amplia variedad de metabolitos secundarios sintetizados por plantas vasculares, abarcan más de 8000 compuestos fenólicos relacionados con una variedad de funciones fisiológicas (Han y col, 2007b; Wu-Yang y Zhong, 2010).

Existen reportes que demuestran que los compuestos fenólicos del maíz previenen e inhiben el crecimiento de células cancerígenas, previenen la obesidad, aminoran los procesos inflamatorios, inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos, entre otras (Ghanbari, 2012; Gaxiola-Cuevas y col, 2017; Rábago-Monzón, 2017).

Los compuestos fenólicos poseen uno o más anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxil. La naturaleza de estos compuestos varía desde moléculas simples, como los ácidos fenólicos, hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Estos compuestos son en su mayoría potentes antioxidantes debido a su estructura química, ya que son excelentes donadores de electrones (Martínez-Valverde 2000).

Cuadro 1. Compuestos bioactivos presentes en maíz azul

Fitoquímico (mg 100g ⁻¹)	Maíz Azul	Referencia
<u>Fenólicos</u>		Aguayo-Rojas y col, 2012; Mora-Rochín y col, 2010; De la Parra y col, 2007; Del Pozo-Insfran y col, 2006.
Libres	27-45.5	
Fenoles ligados	115-221	
Fenoles totales	40-343	
<u>Ácidos fenólicos</u>		Mora-Rochín y col, 2010; De la Parra y col, 2007; Del Pozo-Insfran y col, 2006.
Ácido ferúlico	130-336	
Ácido p-cumárico	0.13	
Ácido gálico	Nd	
Antocianinas totales	27-63	López-Martínez y col, 2012; Mora-Rochín y col, 2010; De la Parra y col, 2007; Del Pozo-Insfran y col, 2006
Cianidina-3-glucósido; pelargonidina-3- glucósido, peonidina-3- glucósido	0.23-11.20	Mora-Rochín y col, 2016; Jing y col, 2008; Abdel-Aal y col, 2006
Cianidina-3-(6"-malonil- glucósido); cianidina-3- (6"-succinil-glucósido); pelargonidina-3-(6"- malonil-glucósido)	2.3-5.92	Mora-Rochín y col, 2016

Modificado de Gaxiola-Cuevas (2017)

Los fenólicos en el maíz, se encuentran comúnmente ligados a pared celular en complejas estructuras como la celulosa, lignina y esterificadas a proteínas (Adom y Liu 2002). Los compuestos fenólicos más comunes encontrados en granos son ácidos fenólicos y flavonoides (Liu 2007).

1) Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos reportados en maíz se presentan en forma libre y ligada. Los fenólicos libres se localizan en la capa externa del pericarpio y son extraídos utilizando solventes orgánicos. Respecto a los fenólicos ligados, estos se encuentran esterificados a pared celular y para su liberación es necesario una hidrólisis ácida y básica. Los principales ácidos fenólicos en maíz son ferúlico y *p*-cumárico (Acosta-Estrada y col, 2014; Gaxiola-Cuevas y col, 2017).

Los ácidos fenólicos derivan del ácido cinámico y benzoico, en el maíz hay dos clases de ácidos fenólicos: ácidos hidroxibenzóicos y ácidos hidroxicinámicos, dentro del grupo de ácidos hidroxibenzóicos podemos encontrar al ácido gálico, *p*-hidroxibenzóico, vanílico, sirínico y protocatecuico; y dentro del grupo de ácidos hidroxicinámicos se encuentran los ácidos ferúlico, cumárico, sinápico y caféico (Acosta-Estrada y col, 2014) (**Cuadro 2**).

Se han reportado propiedades específicas para los ácidos fenólicos, dentro de las que destacan, su propiedad antibacteriana, anticancerígena y anti-inflamatoria (Babbar y col, 2015).

2) Flavonoides

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular, que consisten en quince átomos de carbono, dispuestos en una configuración de C6-C3-C6. La

Cuadro 2. Ácidos fenólicos reportados en maíz

Ácido Fenólico	Referencia
<u>Ácidos hidroxibenzóicos</u>	Pandey y col 2013;Guo y Beta 2013;
• Gálico	González-Muñoz y col 2013; Pedreschi y
• Vanílico	Zevallos 2007.
• Siríngico	
• p-hidroxibenzóico	
• Protocatecuico	
<u>Ácidos hidroxicinámicos</u>	Ndolo y col 2013; Urías-Peraldi y col
• <i>Ferúlico</i>	2013;Rojas-García y col 2012; Ramos
• <i>Caféico</i>	escudero y col 2012; Devanand y col 2012;
• <i>Sinápico</i>	Mora-Rochín y col 2010; López-Martínez y
• <i>p-cumárico</i>	col 2009;De la Parra y col 2007; Salinas-
	Moreno y col 2007;Del Pozo-Insfran y col
	2006.

Menchaca-Armenta (2016)

estructura consta de dos anillos bencénicos (anillos A y B) unidos por un heterociclo piránico (anillo C) (Peluso y col, 2015).

Estos compuestos, ayudan a proteger a la planta contra la luz UV, hongos parásitos, herbívoros, patógenos y daño celular oxidativo (Sarkar y Shetty, 2014). Dentro del grupo de los flavonoides, se encuentran las antocianinas, pigmentos hidrosolubles ampliamente distribuidos en el reino vegetal.

3) Antocianinas

Las antocianinas son consideradas uno de los mayores e importantes pigmentos en plantas. Se derivan de los flavonoides, y su esqueleto básico es el 2-fenilbenzopirano de la sal de flavilium con diferentes sustituciones (Delgado Vargas y Paredes-López, 2002; Gaxiola-Cuevas, 2017). El catión flavium constituye la parte principal de la molécula de las antocianinas, y contiene dobles enlaces conjugados responsables de la absorción de la luz alrededor de 500 nm, pigmentos que aparecen de diversos colores como el rojo, naranja, púrpura y azul (Delgado-Vargas y col, 2000). Las agliconas, llamadas antocianidinas, se pueden diferenciar por la naturaleza y el número de ácidos orgánicos unidos a las unidades glicosilo-antocianinas, normalmente ácidos fenólicos aromáticos o alifáticos dicarboxilo o una combinación de ambos (Sotomayor, 2013) (**Figura 4**). Se han identificado más de veinte antocianidinas naturales; sin embargo, seis de ellas son las más comunes en los alimentos: pelargonidina (Pg), peonidina (Pn), cianidina (Cy), malvidina (Mv), petunidina (Pt) y delfinidina (Dp) (Espino, 2014) (**Figura 5**).

Las antocianidinas rara vez se encuentran en la naturaleza, y se presentan

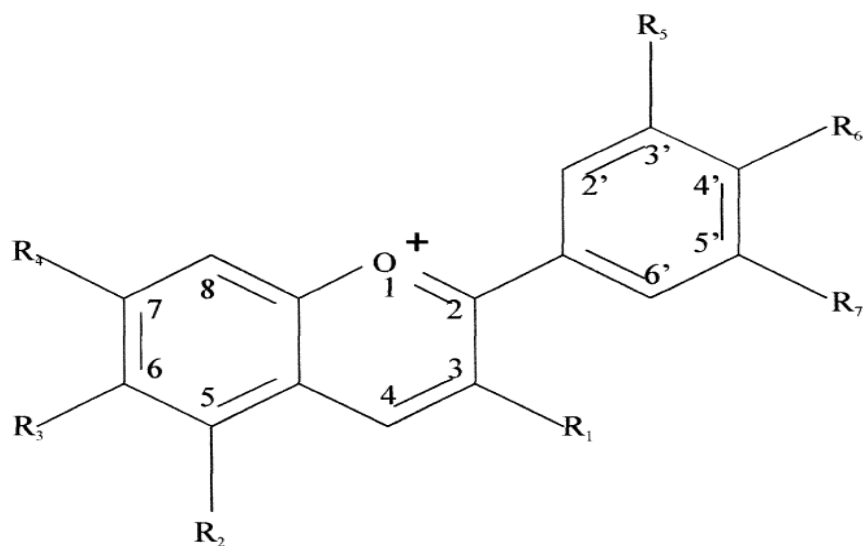


Figura 4. Estructura básica de los pigmentos de antocianidina para la cual el grupo funcional (R) puede ser H, OH, o OCH₃ dependiendo del pigmento. También se indica la nomenclatura más aceptada para la numeración de los carbonos.

Delgado-Vargas y col (2000)

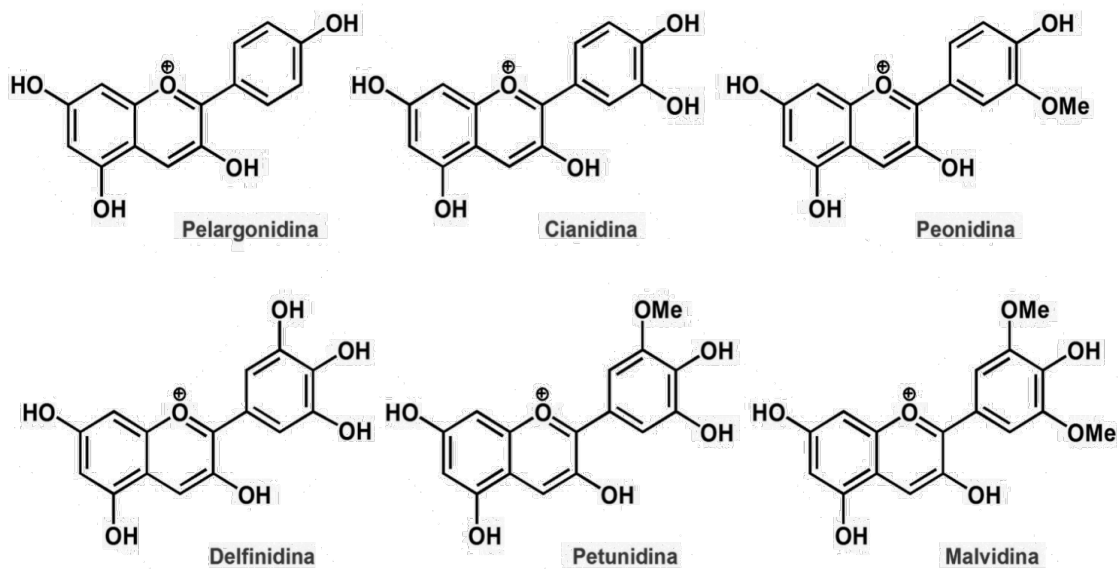


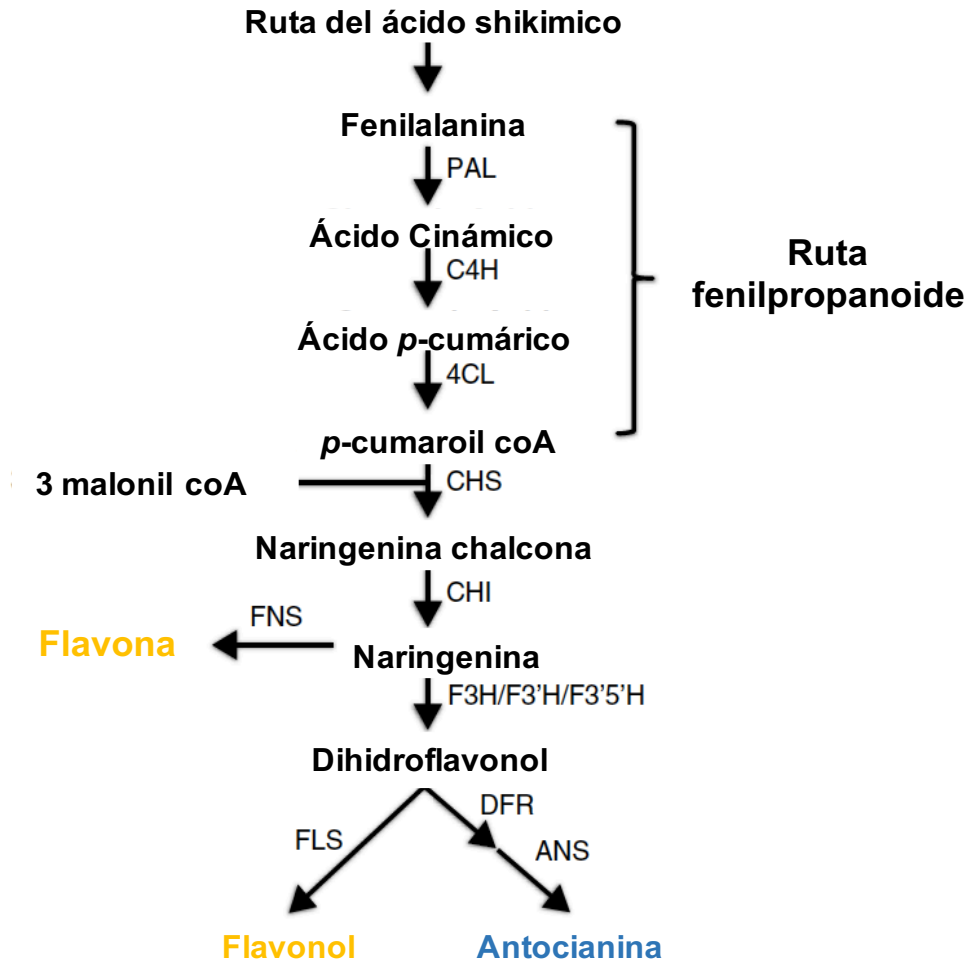
Figura 5. Antocianinas más comúnmente encontradas en los alimentos: pelargonidina (Pg), peonidina (Pn), cianidina (Cy), malvidina (Mv), petunidina (Pt) y delfinidina (Dp)

Espino (2014)

comúnmente en su forma glicosilada, como antocianinas, que son más solubles y estables en soluciones acuosas (Delgado-Vargas, 2000). Por otra parte, las antocianinas, son deficientes en electrones, por lo que el núcleo flavilium es altamente reactivo y sufre cambios estructurales indeseables durante el almacenamiento y procesamiento (Aguilera-Ortíz y col, 2011). La estabilidad del color de las antocianinas es fuertemente afectada por diversos factores, incluyendo estructura, concentración, pH, temperatura, luz, enzimas, oxígeno, copigmentos, iones metálicos, ácido ascórbico, azúcares y los productos de degradación (Zhang y col, 2014).

En granos de maíz azul, las antocianinas presentes son derivadas principalmente de la cianidina y malvidina, siendo la primera dominante (Salinas-Moreno y col, 2013; Mora-Rochin y col, 2016).

Se ha establecido experimentalmente que al anillo A de las antocianinas, se sintetiza por la ruta del ácido malónico con la condensación de tres moléculas de malonil-CoA, mientras que el anillo B se sintetiza por la ruta del ácido shiquímico. El ácido shiquímico da paso a la fenilalanina que por acción de una fenilalanina amonía liasa (PAL), y después de una pérdida de NH_3 se convierte en ácido *p*-coumárico (Espino, 2014). El *p*-coumaril-CoA luego participa en una reacción de condensación con las tres moléculas de malonil- CoA para formar una chalcona de 15 C, reacción catalizada por una chalcona sintetasa. Este compuesto intermedio de 15 C es transformado en una flavanona en una reacción catalizada por una chalcona isomerasa. Finalmente, la flavanona es transformada en la correspondiente antocianidina por una reacción de hidroxilación en el carbono 3 seguida por una deshidratación (Zhang y col, 2014) (**Figura 6**). La molécula de



Las enzimas participantes en la ruta del ácido shikímico son: fenilalanina amonio liasa (PAL), cinamato 4-hidroxilasa (C4H), 4-cumaroil coA ligasa (4CL), chalcona sintasa (CHS), chalcona isomerasa (CHI), flavanona 3-hidroxilasa (F3H), flavanona 3'5'-hidroxilasa (F3'5'H), flavanona 3'-hidroxilasa (F3'H), dihidroflavonol 4-reductasa (DFR), antocianidin sintasa (ANS), flavonol sintasa (FLS), flavona sinthasa (FNS).

Figura 6. Ruta general de la biosíntesis de las antocianinas

Zhang y col (2014)

antocianidina se estabiliza por glicosilación del heterociclo; reacción en la que interviene una glicosil transferasa y posibles reacciones de metilación de los hidroxilos seguidas de acilaciones.

3 Bioactividad de los polifenoles

a Actividad antioxidante

Las reacciones oxido reductoras son esenciales en los procesos metabólicos celulares y ocurren principalmente entre moléculas orgánicas. Dichas reacciones involucran la transferencia de electrones, por lo que es común que se formen especies reactivas de oxígeno (ERO) a manera de intermediarios: oxígeno (O_2), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radical hidróxido (HO) (Oxilia, 2010; Vargas-Sánchez y col, 2014); sin embargo, el organismo puede sufrir ciertos desequilibrios que conducen a la formación de ERO con actividad radicalaria, es decir, especies químicas caracterizadas por poseer electrones desapareados que atacan a los componentes celulares (lípidos de la membrana celular, proteínas estructurales, carbohidratos y ADN) (Halliwell, 2006), asociándose a la formación de este tipo de ERO con la aparición de ciertas enfermedades. El organismo a manera de defensa utiliza su sistema endógeno y exógeno de antioxidantes (moléculas capaces de inhibir la oxidación de otras moléculas mediante su propia oxidación al ceder un electrón, transformándose en un radical libre no tóxico) (Martínez-Florez y col, 2002; Delgado y col, 2010; Sotero y col, 2011; Babbar y col, 2015). Los antioxidantes exógenos provienen de la dieta e involucran a algunas vitaminas, carotenoides, pero principalmente a los flavonoides y ácidos fenólicos, los cuales tienen la propiedad

de interceptar y reaccionar con agentes oxidantes como enzimas, metales y radicales libres (**Cuadro 3**) (Procházková y col, 2011;Vargas-Sánchez y col, 2014).

El maíz tiene una gran capacidad antioxidante superior a la de otros cereales, tales como el trigo, avena y arroz (Adom y Liu, 2002). Urias-Peraldí y col (2013) reportaron la actividad antioxidante de 25 maíces híbridos azules del centro de México, en donde los mayores valores de capacidad antioxidante los obtuvieron los genotipos con mayor contenido de ácido ferúlico y antocianinas. En un estudio realizado por Mora-Rochín y col (2010), se elaboraron tortillas a partir de maíz comercial, blanco, y criollos, azul, rojo y amarillo, por los procesos de nixtamalización y cocción por extrusión; reportando que las tortillas retuvieron 43.8, y 75.2, 93.2 y 83.6% de la actividad antioxidante total, respectivamente. Las tortillas elaboradas con harinas de maíz azul nixtamalizado y extrudido retuvieron los mayores porcentajes de actividad antioxidante total, 83.6% y 93.2% respectivamente.

b Actividad antibacteriana

Además de la actividad antioxidante, otra propiedad biológica de relevancia reportada en los metabolitos secundarios o fitoquímicos, es su actividad antimicrobiana (Zbikowska y col, 2017); la cual se refiere a la capacidad que tiene una sustancia de eliminar microorganismos o inhibir su crecimiento mediante una serie de mecanismos que difieren de acuerdo al tipo de antimicrobiano que se emplee, así como de la cepa que se desea eliminar (Sánchez-García y col, 2016).

Nessa y col (2012) analizaron la actividad antimicrobiana de extractos alcohólicos a partir de estigma de maíz blanco, así como de flavonoides aislados,

Cuadro 3. Fuentes de sustancias antioxidantes de origen dietético

Antioxidante	Fuente	Efecto
Vitamina E (tocoferol)	Aguacate, camote, espárragos, espinacas, tomate, brócoli, zanahoria, aceites (oliva, maíz, cártamo, soya), cereales, arroz integral, lentejas, yema de huevo, mantequilla, plátano, moras, frutos secos.	Mantiene la integridad de la membrana celular, protege la destrucción de la vitamina A, retarda el envejecimiento celular.
Vitamina C (ac. ascórbico)	Acelgas, tomates, perejil, pimiento verde, coliflor, coles de Bruselas, nabos, grosellas, cítricos, melón, kiwi, fresas.	Inhibidor de la oxidación de lípidos, regenera a la vitamina E, ofrece protección contra todo tipo de cáncer.
β-Caroteno (pro-vitamina A)	Zanahoria, tomates, espinacas, melón, melocotón, mango.	Protege al ADN, detiene el deterioro de tejidos.
Flavonoides (polifenólicos)	Espinacas, cebolla, ajo, té verde, vino, manzanas, peras, cítricos, frutos rojos, maíces pigmentados.	Quelación de metales
Oligoelementos Selenio (Se), Zinc (Zn),Cobre (Cu)	Carne, pescado, cereales integrales, lácteos, ajo, cebollas,brócoli, frutos secos, te, piña, vísceras, cacao y derivados.	Forman parte del núcleo activo de las enzimas con actividad antioxidante, mantienen en buen estado las funciones hepáticas, cardíacas reproductoras, protector contra el cáncer.

Delgado-Olivares y col (2010)

encontrando que los extractos de petróleo-éter, metanólicos y los flavonoides aislados, fueron eficientes contra doce de las trece bacterias patógenas estudiadas, mostrando un efecto superior ($p < 0.05$) al presentado por el antibiótico control (Gentamicina). Por otra parte, Abdullah y Hady (2015) evaluaron el efecto antibacterial de extractos etanólicos y acuosos de estigma de maíz frente a aislados clínicos de infecciones del tracto urinario (UTI), encontrando que los extractos etanólicos inhibieron el crecimiento de la mayoría de las bacterias analizadas, asociando este efecto inhibitorio a los compuestos bioactivos contenidos en los extractos. En un estudio realizado en el 2015, Morshed e Islam reportaron que existe actividad antimicrobiana en extractos etanólicos, clorofórmicos y metanólicos de stigma de maíz, contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. En estudios independientes realizados por Rábago-Monzón (2017) y Sepúlveda-García (2017), se reportó actividad antibacteriana en polifenoles solubles presentes en tortillas de maíz criollo azul obtenidas por los procesos de nixtamalización y extrusión, respectivamente, frente a cepas patógenas de *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* y *Listeria monocytogenes*. Ambos autores obtuvieron una concentración mínima inhibitoria (CMI) entre 0.21 - 0.28 mg EAG/mL, dependiendo de la cepa estudiada.

Se conoce que la actividad biológica de los extractos de diferentes especies vegetales es asociada mayoritariamente a los compuestos fenólicos (Celis y col, 2007; Vargas-Sánchez y col, 2014). Sin embargo, para el caso del maíz azul, se tienen escasos reportes donde se indague sobre el potencial que tienen los compuestos bioactivos de este cereal como agentes bactericidas.

4 Principales formas de consumo

La diversidad genética del maíz permite que también varíe su utilización final. Así, el maíz puede ser la base de una gran variedad de productos, como son hojuelas para desayuno y botanas (Salinas-Moreno y col, 2003; Bello-Pérez y col, 2015), aislamiento de almidón, y la elaboración de harinas nixtamalizadas para la industria tortillera (Salinas-Moreno y col, 2003; Uriarte-Aceves y col, 2015), entre otros. En la industrialización del maíz, se aprecian dos formas de procesamiento: 1) molienda seca, para la obtención de harina de maíz, con diferentes tamaño de partícula, y el germen del grano, del cual se extrae el aceite; y , 2) molienda húmeda, para la obtención de almidón, aceite y subproductos para alimento animal (gluten, harina de gluten y tortas de germen) (Sala y Barroeta, 2003; Uriarte-Aceves y col, 2015).

Debido a que el valor nutrimental del maíz azul ha demostrado ser mayor respecto al maíz blanco y amarillo (Betran y col, 2001; Corrales-Bañuelos, 2016), aunado a la alta concentración de compuestos bioactivos, y sobre todo a su característico sabor, es que recientemente ha crecido el interés en producir tortillas y botanas pigmentadas (Adbell-Aal y col, 2006; Serna-Saldivar, 2010).

a Tortilla

La tortilla de maíz es uno de los alimentos tradicionales más importantes en México, y el proceso mediante el cual se obtiene es conocido como nixtamalización (Bello-Pérez y col, 2015).

Las tortillas se pueden encontrar en color blanco, amarillo, rojo y azul, esto se debe a los pigmentos naturales contenidos en las distintas variedades de maíz

con el que se elaboran (Guerrero Villanueva y col, 2012). Alrededor del 82 % de los hogares mexicanos incluyen a las tortillas en su dieta, y representa el 6.4 % del gasto total en alimentos, aunque la población de menores ingresos puede destinar más de 25 % de su presupuesto alimentario en este producto (INEGI, 2010). De acuerdo con cálculos recientes del Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social, el consumo diario *per capita* de tortilla es de 155.4 g en las zonas urbanas y hasta 217.9 g en las zonas rurales (CONEVAL, 2012).

La importancia de la tortilla en la dieta no es menor, pues se trata de una excelente fuente de calorías y calcio (Serna-Saldívar y Amaya-Guerra, 2008) que puede proporcionar de 32 a 62 % de los requerimientos mínimos de hierro (Paredes-López y col, 2009).

5 Procesamiento del maíz para la elaboración de tortillas

a Nixtamalización tradicional

El método tradicional de nixtamalización, se lleva a cabo por cocimiento alcalino del grano de maíz en agua (relación 3:1 agua: maíz) a 85-100°C por 30 a 90 min, adicionando hidróxido de calcio al 1 %. Después de esta etapa, el maíz se deja reposar por un periodo de 12 a 18 horas. El grano cocido con cal en agua es denominado nixtamal, y el residuo líquido (nejayote) rico en sólidos, el cual es descartado. Después el nixtamal es enjuagado dos o tres veces con agua, para remover los fragmentos de pericarpio desprendidos del grano. El nixtamal se muele para obtener una pasta fina llamada masa. Alrededor de 35 a 50 g de masa son aplanados, para obtener una circunferencia de 15 a 20 cm de diámetro y aproximadamente 0.2 a 0.3 cm de grosor, la cual es cocida por 1 a 1.5 min. Cuando

se empieza a hinchar, la tortilla es volteada y cocida finalmente por otros 30 s (Serna-Saldivar y col, 1990) (**Figura 7**).

El proceso de nixtamalización es responsable de importantes características fisicoquímicas, nutricionales y sensoriales de productos a base de maíz, como la remoción del pericarpio, incorporación de calcio en los granos, mejoramiento de biodisponibilidad de niacina y formación de compuestos de sabor y color que imparten las características típicas de los productos terminados (Serna-Saldívar y col 1990).

1) Efecto del procesamiento sobre el contenido de fitoquímicos

La nixtamalización induce cambios que favorecen la biodisponibilidad de nutrimentos. Se ha reportado un aumento significativo en el contenido de calcio (del orden de 13 veces), el cual es biodisponible prácticamente en su totalidad (Bressani, 2008). También es mayor la cantidad de fibra dietaria soluble e incrementa la biodisponibilidad de la mayoría de los aminoácidos esenciales, lo que aumenta sensiblemente el valor biológico de la proteína (Paredes-López y col, 2009). La nixtamalización también puede favorecer la formación de almidón resistente (Paredes-López y col, 2009), el cual al no ser digerido se comporta de forma similar a la fibra soluble, con los beneficios para la salud que esto conlleva. Sin embargo, la alcalinidad y temperatura alcanzadas por el proceso de nixtamalización tradicional reduce significativamente el contenido de antocianinas en los maíces pigmentados. Además, otras estructuras químicas derivadas de los

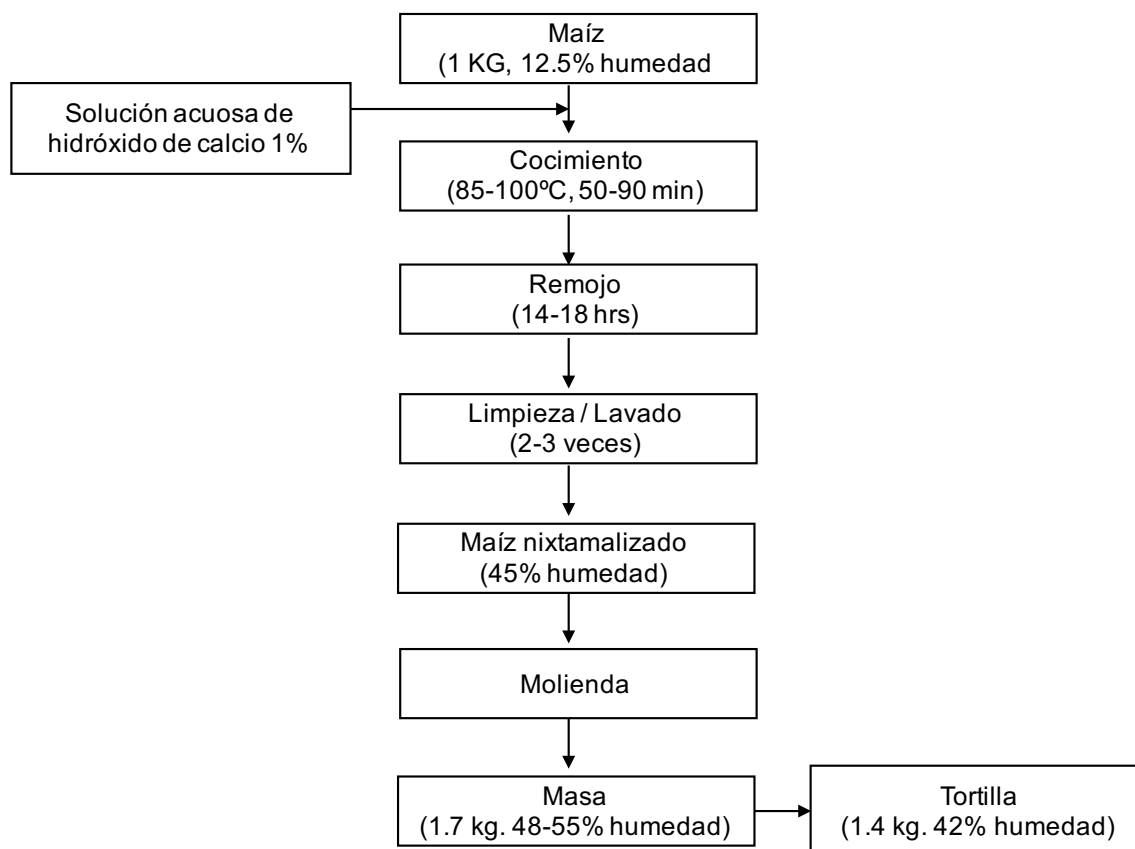


Figura 7. Proceso de nixtamalización
Paredes-López y col (2006)

polifenoles son afectadas por el rompimiento de enlaces éster, y como consecuencia los fenoles se lixivian a la solución de cocimiento. La mayor parte de estos compuestos se encuentran en el pericarpio del grano, y son eliminados durante el lavado del nixtamal (De la Parra y col, 2007; Mora-Rochin y col, 2016).

Aguayo-Rojas y col (2012) evaluaron el contenido de antocianinas y fenólicos en harinas de maíces mexicanos con diferentes pigmentos (blanco, amarillo, rojo y azul) obtenidas por extrusión-cocción-alkalina. Al igual que lo reportado por otros autores, el maíz azul presentó el contenido de antocianinas más elevado que los demás maíces estudiados (27.52 mg equivalentes de cianidina 3-glucósido / 100 gramos de muestra), con un 46.5% de retención de estos compuestos en las tortillas extrudidas.

Debido a que los compuestos fenólicos, no son completamente estables durante el procesamiento, estos investigadores observaron un decremento en su concentración y lo atribuyeron a la baja resistencia por las altas temperaturas (>80°C) (Alam y col, 2015; Mora-Rochin y col, 2016). Se sabe que las altas temperaturas durante el procesamiento, pueden modificar la estructura molecular de los diferentes compuestos fenólicos, reduciendo su reactividad química, y disminuyendo su extracción (Alam y col, 2015).

Los cambios en el contenido total de antocianinas y compuestos fenólicos en tortillas producidas a través de nixtamalización tradicional, y el proceso de extrusión-cocción-alkalina, con respecto al grano crudo de algunas variedades de maíz se resumen en el **Cuadro 4**.

Cuadro 4. Efecto del procesamiento sobre el contenido de fitoquímicos en maíces pigmentados

Maíz	Muestra	Fenólicos totales¹	Ácido Ferúlico total²	Antocianinas totales³
Blanco	Grano	150 - 263.9	750 - 756	
	TN	84.6 - 166.2	670 - 23,267	-
	TE	121.6 - 139.6	460	
Amarilo	Grano	126.3 - 285.8	1,190 - 1,474	
	TN	62.9 - 183.3	670 - 27,827	-
	TE	110.5 - 125.5	550	
Rojo	Grano	140.6 - 243.8	1,259 - 1,830	
	TN	79.4 - 136.5	450 - 15,588	-
	TE	123.2 - 179.5	330	
Azul	Grano	140.2 - 266.2	168 - 1,452	27.52 - 32.3
	TN	86.6 - 161.8	47.4 - 31,746	13.8
	TE	122.7 - 128	167- 730	12.78 - 14.1

¹ mg EQ ácido gálico 100 g ⁻¹

² mg 100 g ⁻¹

³ mg cianidina 3-glucósido 100 ⁻¹

TN= tortillas elaboradas con harinas de maíz nixtamalizado, TE= tortillas elaboradas con harinas de maíz extrudido

Mora-Rochín y col (2010), Aguayo-Rojas y col (2012), Corrales-Bañuelos (2016), Gaxiola-Cuevas (2017)

IV JUSTIFICACIÓN

En México, las enfermedades gastrointestinales son uno de los principales problemas de salud pública, aunado a la resistencia a antibióticos que han desarrollado los microorganismos que las provocan. Por lo tanto, es necesario el estudio y desarrollo de alternativas cuyo principal objetivo sea la prevención y tratamiento de estos padecimientos. Entre las alternativas con mayor interés está el uso de compuestos bioactivos o fitoquímicos, que están presentes en cereales como el maíz (*Zea mays* L.); sin embargo, es poca la información que se tiene acerca de las propiedades antibacterianas del maíz criollo azul, cuyo consumo pudiera tener un alto impacto en la prevención de enfermedades gastrointestinales. Por consiguiente, los resultados de esta investigación pudieran incentivar la producción y consumo de estos cereales, beneficiando a gran parte de la población mexicana.

V HIPÓTESIS

Compuestos bioactivos presentes en maíz (*Zea mays* L.) criollo azul y tortillas elaboradas con harinas nixtamalizadas, presentan actividad antioxidante y antibacteriana frente a cepas de aislados clínicos susceptibles y resistentes a antibióticos.

VI OBJETIVOS

A GENERAL

Evaluar propiedades antioxidantes y antibacterianas de compuestos bioactivos presentes en el grano crudo y tortilla de maíz (*Zea mays* L.) criollo azul.

B ESPECÍFICOS

1. Evaluar las características físicas, composición química y propiedades fisicoquímicas del grano y de tortillas de maíz criollo azul nixtamalizado.
2. Obtener fracciones purificadas de antocianinas y polifenoles de maíz criollo azul y tortillas nixtamalizadas.
3. Determinar los niveles de compuestos bioactivos (fenólicos y antocianinas totales) del grano crudo, tortillas y fracciones purificadas de maíz criollo azul.
4. Determinar la actividad antioxidante química (DPPH y ABTS) de las fracciones purificadas del grano crudo y tortillas de maíz criollo azul.
5. Evaluar la capacidad inhibitoria del crecimiento bacteriano de las fracciones purificadas del grano crudo y tortillas, frente a cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* susceptibles y multiresistentes a antibióticos

VII MATERIALES Y MÉTODOS

A MATERIALES

Para el desarrollo del presente estudio se utilizó maíz criollo Azul (*Zea mays* L.) Raza Elotero de Sinaloa (A-512), cultivado bajo condiciones de riego en el municipio de Concordia. Los cultivos fueron manejados siguiendo las recomendaciones estándar. Los granos de maíz se almacenaron a -4 °C hasta su uso.

B MÉTODOS

1 Caracterización física del grano crudo de maíz criollo azul

Las características físicas del grano de maíz se determinaron siguiendo procedimientos estándar, mismos que se describen a continuación.

a Dimensiones físicas

Para la determinación de las dimensiones físicas se utilizó un vernier digital Lcd (Truper) (Milán-Carrillo y col, 2000), considerando la longitud, anchura y grosor de los granos de maíz criollo azul. Las mediciones se llevaron a cabo por triplicado, y se realizaron en 50 semillas de maíz azul seleccionadas al azar.

b Peso de 1000 granos

Para el peso de 1000 granos, se seleccionaron al azar 100 granos de maíz criollo azul, y se registraron los valores emitidos por una balanza analítica. La prueba se realizó por triplicado (AACC 1995).

c Peso hectolítrico

Para la determinación del peso hectolítrico se siguió el procedimiento 55-10.01 de la AACC (1995), a micro escala. Un recipiente de volumen conocido (1 L) se llenó de granos y se pesó en una balanza analítica. El valor del peso hectolítrico se obtuvo al dividir el peso de los granos entre el volumen del recipiente y relacionándolo a un volumen de 100 L (kg/hL). Las mediciones se realizaron por triplicado.

2 Características químicas del grano crudo y tortillas de maíz criollo azul

a Humedad

El porcentaje de humedad se determinó de acuerdo al método 925.10 de AOAC (1999), donde se midió la pérdida de peso de la muestra después de someterse a calentamiento, para remover la humedad. Se empleó una muestra de 2 g y una temperatura de 80°C por 12 h y 130°C por 3 h, en una estufa sin circulación de aire.

Los cálculos para determinar la humedad del producto expresada en porcentaje, fueron los siguientes:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100$$

Donde:

m1: masa de la charola vacía. m2: masa de la charola con la muestra húmeda y m3: masa de la charola más la muestra desecada; los pesos son en gramos. La prueba se realizó por triplicado.

b Proteína

Se utilizó el método 960.52, micro Kjeldahl, de la AOAC (1999), para la

determinación de nitrógeno en un sistema Kjeltec (Mod 1009 y 1002, Tecator, Suecia). Se digirieron 0.2 g de muestra, con 5 mL de ácido sulfúrico y una mezcla catalítica de K_2SO_4 (sulfato de potasio) y $CuSO_4$ (sulfato de cobre) a una temperatura de 550 °C durante 6 h. Para la destilación de la muestra, previamente diluída en 5 mL de agua destilada, se empleó una disolución de NaOH al 40%, así como ácido bórico al 4% e indicador rojo de metilo para recibir el destilado. La titulación se llevó a cabo con una disolución valorada de HCl 0.1 N. Posteriormente, la proteína cruda se calculó multiplicando el contenido de nitrógeno total por el factor 6.25. La prueba se realizó por triplicado.

c Lípidos

El contenido de lípidos se determinó siguiendo el método 920.39 de la AOAC (1999). Las extracciones se realizaron de 2 g de muestra de harina, empaquetadas en papel filtro de 0.180 mm, y desgrasadas en equipo Soxhlet con éter de petróleo. La prueba se realizó por triplicado.

d Cenizas

Se utilizó el método 934.01 de la AOAC (1999); donde se pesaron 2 g de muestra, la cual fue colocada en un crisol de porcelana y sometida a incineración en mufla a 550 °C. Una vez obtenida una ceniza gris luminosa con peso constante, las muestras incineradas se atemperaron en un desecador, y se pesaron. La prueba se realizó por triplicado.

e Carbohidratos

El porcentaje de carbohidratos se calculó por diferencia de 100, tomando en consideración los porcentajes de humedad, proteína cruda, grasa cruda y cenizas.

3 Propiedades fisicoquímicas del grano crudo y tortillas de maíz criollo azul

a Diferencia total de color (ΔE)

Este parámetro fue determinado con un Colorímetro Minolta Chromametermod CR-210 (Minolta LTD, Japón). La técnica se fundamenta en el efecto triestímulo, donde L mide brillantez y varía de 100 (blanco) a cero (negro). Las dimensiones de cromaticidad son dadas por los parámetros a y b. Se utilizó un mosaico blanco como referencia (estándar) de valores L, a y b conocidos (L=97.63, a=-0.78 y b=2.85).).

La diferencia total de color (ΔE) de las muestras, se calculó con la ecuación:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

Donde:

ΔE = Diferencia total de color entre el estándar y la muestra. ΔL , Δa , Δb = Diferencias absolutas de los valores de L, a y b del estándar a utilizar y los valores correspondientes que se observaron en la muestras (Milán-Carrillo y col, 2002). Las lecturas se tomaron por triplicado.

4 Producción de harina nixtamalizada de maíz criollo azul

La harina de maíz nixtamalizada se elaboró de acuerdo a Milán-Carrillo y col (2004). Se cocinaron los granos de maíz (lotes de 500 g) por 31 minutos en una solución de cal [5.4g de Ca(OH)_2 /L de agua] a 85 °C utilizando una relación 1:3 (w/v), seguido por un tiempo de reposo de 8 h. El nejayote (líquido de cocción) se descartó, y el nixtamal (maíz cocinado en cal) se enjuagó en tres ocasiones con agua destilada. Finalmente, el nixtamal se secó a 55 °C durante 12 h, se atemperó y se molió hasta pasar a través de una malla de 80-US (0.180 mm). Las harinas

obtenidas se almacenaron en bolsas de plástico con cierre hermético, a -20°C hasta su uso.

5 Elaboración de tortillas de harinas de maíz criollo azul nixtamalizado

Las tortillas se elaboraron siguiendo la metodología reportada por Milán-Carrillo y col (2004). Se mezcló 2 kg de harina de maíz nixtamalizado, con aproximadamente 500 mL de agua hasta alcanzar una consistencia adecuada para la producción de tortillas. La masa fresca (30 g) se aplanó, con apoyo de una prensa, hasta obtener una forma circular. La masa en forma de disco se cocció en un comal previamente calentado a $250 \pm 10^{\circ}\text{C}$. Cada disco se colocó en el comal durante 15 s por un lado, seguido de 30 s por la otra cara, para posteriormente colocar la tortilla sobre el lado inicial hasta su expansión (hinchamiento). Se dejaron enfriar las tortillas a temperatura ambiente, para posteriormente ser liofilizadas en el equipo FreeZone 4.5 Liter Benchtop Freeze Dry System, LABCONCO, y almacenadas a -20°C hasta su uso.

6 Obtención de harinas del grano crudo y tortillas de maíz criollo azul

Para realizar los ensayos posteriores es necesario obtener harinas. Para esto, las tortillas liofilizadas se molieron hasta pasar a través de una malla 80 (0.180 mm). Las harinas obtenidas se almacenaron en bolsas de plástico con cierre hermético y se almacenaron -20°C hasta su utilización. Si siguió el mismo procedimiento para obtener harinas de maíz criollo azul crudo.

7 Compuestos bioactivos de maíz criollo azul

a Extracción de fenólicos libres

Para la extracción de fenólicos libres se siguió el método descrito por Adom

y Liu (2002), con algunas modificaciones. Se partió de 0.050 mg 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 hizo con 200 µL de etanol 80% y se almacenó a -20°C hasta su posterior uso. El precipitado se utilizó posteriormente para la extracción de fenólicos ligados. Las extracciones se realizaron por cuádruplicado.

b Extracción de fenólicos ligados

La extracción de fenólicos ligados se realizó de acuerdo al método descrito por Adom y Liu (2002), con algunas modificaciones. El precipitado que se obtuvo en la obtención del extracto de fenólicos libres se digirió con 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 2 mL de HCL concentrado, se agitó por 2 minutos en un vortex y se le añadió 1 mL de hexano para remover lípidos. A la mezcla resultante se le realizaron cinco 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 (Speed Vac Concentrator, Thermo Electron Concentrator). Los compuestos extraídos fueron reconstituidos con 200 µL de metanol al 50% y se almacenarán a -20°C para su posterior utilización. Las extracciones se realizaron por cuádruplicado.

c Purificación de extractos de maíz criollo azul

1) Extracto Crudo (EC)

Para la obtención del extracto crudo se utilizó la metodología propuesta por Cuevas-Rodríguez y col (2011) con ligeras modificaciones. Se tomaron 30 g de harina de maíz criollo azul liofilizado (grano crudo y tortillas) y se mezclaron con 150 mL de metanol (MeOH) al 80% acidificado con 0.3% de ácido tricloroacético (ATC) [(MeOH:H₂O:ATC, 80:19.9:0.3, v/v/p)] para posteriormente ser agitados constantemente durante 24 h a 4 °C. La mezcla obtenida se decantó y el sobrenadante se almacenó en un frasco ambar; este procedimiento se realizó dos veces. Los sobrenadantes obtenidos en las dos etapas se mezclaron, se centrifugaron a 11200xg (10,000 rpm) / 10 °C por 10 min y se procedió a un doble filtrado con papel Whatman #1 y papel Whatman #40. Los sólidos fueron deshechados y los solventes se evaporaron con ayuda de un rotovapor (Buchi, Modelo R-210, Flawill, Suiza). Los extractos crudos de maíz azul obtenidos se liofilizaron y almacenaron a -80°C hasta su utilización.

2) Fracción rica en Polifenoles (FP)

Para el fraccionamiento de polifenoles se utilizó la metodología descrita por Cuevas-Rodríguez y col (2011) con algunas modificaciones. La fracción acuosa (~120 mL) del extracto crudo se vertió en la parte superior de una columna cromatográfica empacada con resina Amberlite XDA-7 (tamaño del grano, 20-60 mesh, Sigma Life Science, CO, EUA), previamente acondicionada con agua acidificada (0.3% ATC), donde la mezcla de polifenoles se adsorbió y se lavó en agua acidificada (0.3% ATA) para remover los azúcares libres, pectinas y otras impurezas. Finalmente, para eluir de la columna los compuestos polifenólicos, se

utilizó metanol acidificado (1000 mL) como fase móvil. Se evaporó el metanol en un rotavapor (Buchi, Modelo R-210, Flawill, Suiza) y posteriormente se liofilizó (FreeZone 4.5 Liter Benchtop Freeze Dry System, LABCONCO) para asegurar que los restos de humedad fueran removidos. Finalmente los extractos ricos en polifenoles (FP) se almacenaron en frascos ámbar a -20 °C hasta su uso.

3) Fracción rica en Antocianinas (FA)

La extracción de antocianinas se llevó a cabo de acuerdo al método reportado por Cuevas-Rodríguez y col (2011) con algunas modificaciones. Se disolvieron extractos ricos en polifenoles (2.0 g) en 5 mL de metanol al 80% (v/v) y se sometieron a sonicación por 2 min para facilitar la disolución de los compuestos. Una vez obtenida la disolución, se vertió a la parte superior de una columna cromatográfica empacada con resina Sephadex-LH-20 (3 x 30 cm), previamente acondicionada con metanol acidificado [80% (v/v), 0.3% ATC]. Para eluir los compuestos de la resina se utilizó metanol [80% (v/v), 0.3% ATA] como fase móvil. El solvente de la fracción se evaporó en rotavapor Büchi modelo R-210; posteriormente se liofilizaron y se almacenaron en frascos color ámbar en un congelador a -20 °C hasta su uso.

d Determinación de compuestos fenólicos totales

Para determinar la concentración de fenólicos totales de las fracciones y de las harinas, se empleó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton y col (1999). 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, y de las fracciones ricas en polifenoles y

antocianinas. El estándar y las muestras se mezclaron con 180 μL del reactivo de Folin, la reacción se neutralizó con 50 μL Na_2CO_3 al 7% y posteriormente se incubó en el espectro, después de 90 min, se midió 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 equivalente de ácido gálico (EAG) /100 g de muestra. El contenido de compuestos fenólicos totales se calculó al sumar los compuestos fenólicos presentes en los extractos de fenólicos libres y ligados. La determinación se realizó por cuadruplicado.

e Determinación de antocianinas totales

Las antocianinas totales se determinaron por el método descrito por Abdel-Aal y Huel (1999) con ligeras modificaciones. Para los extractos de harina de grano de maíz criollo azul y tortillas nixtamalizadas, se pesaron 0.05 g de muestra y se agregó 1 mL de metanol frío acidificado (95% metanol y 1 N HCl, 85:15, v/v). Posteriormente se centrifugó a 3000 x g por 10 min, recolectando el sobrenadante. Para la cuantificación de antocianinas totales de los extractos ricos en polifenoles y antocianinas se partió de 0.01 g de los extractos liofilizados (los pasos siguientes fueron los mismos que para la cuantificación en harinas). La absorbancia de las muestras fue registrada a 535 nm y 700 nm en un lector de microplatos (Synergy HT, Biotek Instrument).

El contenido de antocianinas se calculó de la siguiente manera:

$$C = ((A_{535\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) / \epsilon) \times (\text{vol. total de extracto}) \times \text{PM} \times (1/\text{peso muestra})$$

Donde:

C: concentración total de antocianina (mg equivalentes de cianidina-3-glucosido por gramo de muestra)

ϵ : absorción molar (cianidina-3-glucósido = 25965 cm⁻¹ M⁻¹)

PM: peso molecular de cianidina-3-glucósido (449.2 g/mol)

8 Determinación de la capacidad antioxidante

a ABTS

La capacidad antioxidante de extractos libres y ligados, así como de los extractos ricos en polifenoles y antocianinas para la eliminación de radicales libres se estimó en términos de la actividad captadora de radicales libres mediante el ensayo de decoloración del catión radical ABTS propuesto por Re y col (1999), el cual se basa en la reducción del radical ABTS^{•+} por los antioxidantes presentes en los extractos evaluados. El ABTS se disolvió en agua desionizada a una concentración 7 mM. Una solución stock del catión radical ABTS (ABTS^{•+}) se generó mediante la reacción de la solución de ABTS con persulfato potásico 2.45 mM (concentración final) y permitiendo que la mezcla reposara en la oscuridad a temperatura ambiente durante 12 a 16 h antes de su uso. Una alícuota de la solución con el radical ABTS^{•+} 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 µL) se transfirieron a una cubeta de plástico; el ensayo se inició al adicionar 1980 µL de la solución ABTS^{•+}. Se registró la absorbancia a 735 nm, 15 min después de la mezcla inicial y 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 como micromoles

equivalentes de trolox (ET) por 100 g de muestra en base seca (μmol de ET/100 g, bs).

b DPPH

La determinación se llevó a cabo de acuerdo al método descrito por Brand-Williams y col (1995), con algunas modificaciones. En una microplaca de 96 pozos se añadieron 5 puntos de curva de trolox (25, 50, 60, 75, 100 μM), 22 μL de la muestra (extractos libres, ligados y fracciones polifenólicas y de antocianinas) y 200 μL del radical DPPH (150 μM) en metanol. La mezcla fue agitada y mantenida en oscuridad a temperatura ambiente 30 min. Las medidas de absorbancia se realizaron a 517 nm (λ de máxima absorción). La concentración de DPPH en el medio de reacción se calculó a partir de una curva de calibración obtenida por regresión lineal. Los resultados se expresaron como actividad antioxidante micromoles equivalente de Trolox/100 g de muestra en base seca [μmol ET/100 gr (bs)]. Las determinaciones se realizaron por cuadruplicado.

9 Determinación de la capacidad bactericida

a Cepas bacterianas y condiciones de cultivo

Se trabajó con aislados clínicos de *Escherichia coli* productora de Toxina Shiga susceptible y Multiresistente a antibióticos (tetraciclina y ampicilina), *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente y como cepa de referencia *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923), las cuales fueron donadas por el Centro de Investigación Aplicada a la Salud Pública (CIASaP) de la Facultad de Medicina, perteneciente a la Universidad Autónoma de Sinaloa. Las cepas fueron crecidas en

agar de Soya Trypticaseína, TSA, (Bioxon™) durante 24 h a 37 °C. Para los ensayos de viabilidad, todas las cepas fueron crecidas en caldo de Soya Trypticaseína, TSB, (Difco™) a 37 °C for 18 h. Después de esto, las bacterias fueron transferidas a caldo Mueller-Hinton (Difco™).

b Inhibición del crecimiento bacteriano en presencia de compuestos bioactivos de maíz criollo azul

Para estudiar la actividad bactericida de los extractos ricos en polifenoles y antocianinas, se incubaron $\sim 5 \times 10^8$ UFC por mL de cada cepa en microplacas de 96 pocillos (Corning) conteniendo caldo Mueller-Hinton y los extractos ricos en polifenoles y antocianinas a las concentraciones finales de 40, 20 y 10 mg por mL. Como control de crecimiento (-), cada cepa fue crecida únicamente en caldo Mueller-Hinton; como control de inhibición de crecimiento se utilizó 16 μ g por mL del antibiótico gentamicina. Los cultivos fueron incubados a 37 °C for 2 h, monitoreando cada hora las células viables mediante curvas de crecimiento bacteriano y conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) (Flores-Villaseñor y col, 2010).

Para estos dos pasos, se realizaron diluciones seriadas (7) en buffer de fosfato (PBS) 1 X para cada cepa, y después del tratamiento con cada extracto. Las colonias fueron numeradas con ayuda de un contador manual.

c Concentración mínima inhibitoria

Una vez realizados los ensayos de inhibición de la viabilidad celular bacteriana, se procedió a incubar nuevamente la microplaca con los tratamientos añadidos a 37 °C durante 22 h, considerando un total de 24 h de incubación. Para

conocer la concentración mínima inhibitoria (MIC) de los extractos, se hizo una lectura a 620 nm en espectrofotómetro (Multiskan FC, Thermo Scientific).

10 Análisis estadístico

Los datos se analizaron aplicando un ANOVA unifactorial, mediante el paquete Statgraphics 11.0 y para la comparación de medias se utilizó la prueba Tukey con un nivel de significancia del 95% ($p \leq 0.05$).

VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A Características físicas del grano de maíz criollo azul

La determinación de las características físicas de los granos de cereales representan el primer paso para seleccionarlos y sugerir sus usos industriales (Agama-Acevedo y col, 2011). En el **Cuadro 5** se muestran los resultados obtenidos referente a las características físicas del maíz criollo azul.

Las características físicas del grano crudo de maíz criollo azul, raza Elotero de Sinaloa, presentó valores de longitud, ancho y grosor de 1.10, 1.13 y 0.47 cm, respectivamente, los cuales concuerdan con los reportados por Menchaca Armenta (2016) y Sepúlveda García (2017). A su vez, se encuentran dentro del rango reportado por Figueroa-Cárdenas y col (2013), quienes concluyeron que las dimensiones para longitud, ancho y grosor de maíces criollos de México oscilan entre 1.01-1.28, 0.67-1.0 y 0.45-0.55 cm, respectivamente.

El peso de 1000 granos indica el tamaño del grano, y el peso hectolítrico es una medida indirecta de la densidad del mismo. En este estudio, los valores obtenidos para ambos parámetros en el grano de maíz criollo azul fueron de 426.57 y 77.23 kg/hL, respectivamente (**Cuadro 5**). Los resultados de peso hectolítrico son similares a lo reportado por Menchaca Armenta (2016) y Rábago Monzón (2017), quienes obtuvieron valores de 78.8 Kg/hL y 77.26 Kg/hL para el peso hectolítrico, en los granos de maíz azul, en este último trabajo también se utilizó el maíz para la producción de tortillas nixtamalizadas.

De acuerdo a la norma de productos nixtamalizados (NMX-FF-034/1-SCFI-2002), los valores de peso de 1000 granos deben ser mayores a 300 g, y

Cuadro 5. Características físicas de los granos crudos de maíz criollo azul

Característica	Maíz Criollo Azul
DIMENSIONES:	
Largo (CM)	1.10 ± 0.08
Ancho (CM)	1.13 ± 0.11
Grosor (CM)	0.47 ± 0.02
Peso 1000 granos (G)	426.57 ± 8.30
Peso hectolítrico (KG/HL)	77.23 ± 3.75
Pericarpio (G/100 G, BS)	4.86
Endospermo (G/100 G, BS)	83.86
Germen (G/100 G, BS)	7.23
Pedicelo (A/100 G, BS)	4.05

superiores a 77 kg /hL, para el peso hectolítrico. Por lo tanto, los maíces empleados en esta investigación, cumplen con dichas especificaciones, pudiendo ser utilizados en la industria de la masa y la tortilla.

Los porcentajes de pericarpio, endospermo, germen y pedicelo del grano de maíz azul mostraron valores en base seca de 4.86, 82.72, 8.37, 4.05 g/100 g, bs respectivamente. Resultados similares fueron reportados por López-Gastelum y col (2012), quienes reportaron valores de pericarpio, endospermo, germen y pedicelo de 4.5, 87.1, 7.4 y 1.5 g/100 g, bs respectivamente, en maíz azul nativo de Sinaloa. De Sinibaldi y Bressani (2001) mencionan que industrialmente son preferibles los porcentajes bajos de pericarpio, ya que de esta forma disminuyen los sólidos deshechados, sin embargo, no afecta directamente al producto (Vázquez y col 2003). El porcentaje de endospermo es una variable importante para la industria molinera, ya que este es requerido para molienda en seco, o refinado para la molienda en húmedo (Gómez y col 2004). En el germen se concentran mayoritariamente los lípidos del grano, por esto, mientras mayor sea el porcentaje de germen mayor será su contenido de aceites (Salinas 2004). Diversos investigadores (Gaytán 2004; Salinas y Vázquez, 2006) mencionan que el porcentaje de germen máximo aceptado por la industria de harinas de maíz nixtamalizado es del 12 %, por lo que los maíces evaluados en el presente trabajo son aptos para esta industria. En cuanto al contenido de pedicelo, Figueroa y col (2012) mencionan que el porcentaje de pedicelo máximo tolerado por la industria de las harinas nixtamalizadas es de 0.5 %, sin embargo, no es un factor limitante para la industria de la masa y la tortilla.

B Composición química del grano crudo y tortilla de maíz criollo azul

El **Cuadro 6** muestra la composición química del grano de maíz criollo azul y sus respectivas tortillas obtenidas por el proceso tradicional de nixtamalización.

El valor de proteína en base seca del grano crudo de maíz criollo azul fue de 7.11%, mientras que para la tortilla fue de 6.67%, observando diferencia significativa ($p < 0.05$) en el contenido de proteína al transformar el grano crudo en tortilla. El contenido de lípidos en base seca del grano crudo y sus tortillas fue de 5.08 y 4.42 %, respectivamente. Estos valores se encuentran dentro del rango reportado por Vázquez-Carillo y col (2015), quienes en un estudio con seis diferentes genotipos de maíces mexicanos encontraron valores promedio en el contenido de lípidos que van desde 4.2 a 6.8 %, encontrando una correlación positiva entre el contenido de lípidos y la proporción de germen en el grano de maíz. La disminución en el contenido de lípidos en la tortilla podría ser consecuencia de las características del proceso de nixtamalización, donde ocurre pérdida parcial de algunas partes anatómicas del grano de maíz, como son pericarpio, pedicelo y germen (fracción donde se encuentran principalmente compuestos de naturaleza liposoluble, como son los lípidos). Sin embargo, la pérdida de esta fracción puede ser parcial o total, dependiendo de las características físicas del grano y condiciones del proceso de nixtamalización (Paredes-López y col, 2009).

Bello-Pérez y col (2015) reportó 9.08% en proteína, lípidos 8.48%, minerales 1.63% y en carbohidratos 80.81%. Nuestros resultados en cuanto al contenido de cenizas y carbohidratos concuerdan con lo reportado por estos

Cuadro 6 . Composición química de los grano crudo y tortilla de maíz criollo azul

Composición Química (% bs)					
	Muestra	Proteína	Lípidos	Cenizas	Carbohidratos
Maíz Azul (A-512)	Crudo	7.11 ± 0.21 ^a	5.08 ± 0.26 ^a	1.42 ± 0.03 ^a	77.86 ± 0.07 ^b
	TN	6.67 ± 0.42 ^a	4.42 ± 0.06 ^b	1.47 ± 0.03 ^a	89.43 ± 1.2 ^a

*TN: Tortilla Nixtamalizada

*Las medidas se separaron por columnas, aplicando la prueba Tukey. Medias con la misma letra no son diferentes (p<0.05).

investigadores, sin embargo, difieren en los resultados de lípidos y proteínas. Esta variación podría derivarse de las diferencias entre los genotipos empleados en ambas investigaciones.

El contenido de cenizas mostró valores de 1.42 % a 1.47%, observando un incremento aunque no fue significativo en el contenido de cenizas cuando el grano de maíz fue transformado a tortilla. El incremento en este parámetro podría deberse a la adición de hidróxido de calcio durante el proceso de nixtamalización, lo que hace que los productos obtenidos presenten mayores concentraciones de calcio, mineral encontrando en la cal.

C Propiedades fisicoquímicas del grano crudo y tortilla de maíz criollo azul

El **Cuadro 7** muestra los valores obtenidos para las propiedades fisicoquímicas del grano crudo de maíz criollo azul y tortillas. El color de los granos determina la aceptación o rechazo de los consumidores por los productos obtenidos. La luminosidad (L) se relaciona con el grado de brillantez de la muestra (0 =negro, y 100 = blanco).

El maíz crudo mostró un valor Hunter “L” de 66.51, mientras que la tortilla presentó un valor de “L” 68.14, lo que indica que las tortillas nixtamalizadas presentaron una coloración más oscura respecto al grano crudo. Sin embargo, los valores de ΔE (**Cuadro 7**) mostraron un comportamiento contrario ($p < 0.05$). Hubo una ligera disminusión de este valor en la tortilla nixtamalizada en comparación con el grano crudo, obteniendo un valor de ΔE 28.45 y 30.34, respectivamente. Estos resultados difieren con los reportado por Bazúa y col (1979), quienes aseguran que la concentración de cal, genotipo del grano y condiciones del

Cuadro 7. Propiedades fisicoquímicas de los grano crudo y tortilla de maíz criollo azul

Propiedades fisicoquímicas			
	Muestra	L	ΔE
Maíz Azul (A-512)	Crudo	66.51 ^b	30.34 ^a
	TN	68.14 ^a	28.45 ^b

*TN: Tortilla Nixtamalizada

*Las medidas se separaron por columnas, aplicando la prueba Tukey. Medias con la misma letra no son diferentes ($p < 0.05$).

procesamiento del grano, afectan el color del producto final, obteniendo mayores valores de ΔE como medida de mayor oscuridad.

D Compuestos bioactivos en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul

El contenido de fenólicos (expresado como miligramos equivalentes de ácido gálico/ 100 g, bs) y antocianinas (expresado como miligramos de Cianidina-3-glucósido/100 g, bs) totales en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul, se muestran en el **Cuadro 8**.

El contenido de fenólicos totales se determinó como la suma de fenólicos libres y ligados. Para el grano crudo se obtuvo 271.23 mg (EAG)/100 g, bs, concentración mayor mayor ($p < 0.05$) en comparación con la encontrada en la tortilla 184.54 mg (EAG)/100 g, bs. Los resultados obtenidos en este estudio son superiores a lo reportado por Aguayo-Rojas y col (2012), quienes obtuvieron un contenido de fenólicos totales en un rango de 126.3 a 159.1 mg (EAG)/100 g, bs, en 5 maíces nativos de Sinaloa (blanco, amarillo, azul, rojo y blanco comercial). Así como también son superiores a los reportados por Gaxiola-Cuevas (2017), quien obtuvo un contenido de fenólicos totales de 244 mg (EAG)/100 g, bs para grano crudo, y 121.4 mg (EAG)/100 g para tortilla nixtamalizada. Las diferencias observadas podrían atribuirse a factores de tipo genético, propiedades físicas, método de extracción empleado, así como a las condiciones agronómicas y ambientales a las que estos maíces fueron expuestos (Adom y Liu 2002; Mora-Rochín y col 2010). El contenido de fenólicos libres del grano de maíz sin procesar mostró un valor promedio en base seca de 63.18 mg (EAG/100 g), en contraste, se mostró un aumento ($p < 0.05$) en el contenido de fenólicos solubles cuando el

Cuadro 8. Compuestos fenólicos y antocianinas en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul

		Contenido de fenólicos (mg EAG/100 g, bs)			Contenido de antocianinas (mg ECG/100 g, bs)
	Muestra	Libres	Ligados	Totales	Totales
Maíz Azul	Crudo	63.18±1.1 ^b	208.05±3.2 ^a	271.23±2.1 ^a	24.52 ±0.2 ^a
A-512	TN	81.91±1.3 ^a (129.65%)	102.63±1.3 ^b (49.33%)	184.54±1.3 ^b (68.03%)	9.76 ±0.2 ^b (39.80%)

*TN: Tortilla Nixtamalizada

*Las medidas se separaron por columnas, aplicando la prueba Tukey. Medias con la misma letra no son diferentes (p<0.05).

grano fue transformado en tortilla 81.91 mg (EAG/100 g) .

La mayor contribución en el contenido de fenólicos totales, la aportó la fracción ligada (>80%), su presencia se manifestó en un rango de 102.63 a 208.05.6mg (EAG) /100 g, bs, (**Cuadro 8**), siendo el grano crudo quien presentó el mayor valor ($p < 0.05$). Resultados similares fueron obtenidos por Urías-Lugo y col (2015), quienes reportaron que la fracción de fenólicos ligados en maíz azul originario de Chihuahua y Querétaro, representaron del 85 al 93 % de contribución. Así mismo Urías-Peraldi y col (2013), reportaron un rango de concentración de fenólicos ligados de 189-294.1 mg EAG/ 100 g b,s, similar a lo obtenido en esta investigación.

El maíz azul sin procesar presentó un contenido de antocianinas de 24.52 mg equivalentes de cianidina-3-glucosido (ECG)/100 g, bs (**Cuadro 8**). Los datos obtenidos en este trabajo se encuentran en el rango reportado por Mora-Rochín (2016) quienes en un estudio con 6 genotipos de maíces azules nativos del estado de Sinaloa, reportaron valores de antocianinas totales en un rango de 14.1 a 33.1 mg ECG/100 g, bs.

La tortilla de maíz azul presentó un contenido de antocianinas de 9.76 mg ECG/100 g, bs, mostrando un decremento ($p < 0.05$) del 60% respecto al grano sin procesar. Las disminuciones encontradas en este estudio son similares a lo reportado por Mora-Rochín y col (2010) y Aguayo-Rojas y col (2012) en tortillas obtenidas por el mismo proceso. Sánchez-Madrigal y col (2015) reportaron que las pérdidas en el contenido de antocianinas se incrementan con el pH alcalino y elevadas temperaturas, afectando la estabilidad de las antocianinas, el color y apariencia de la tortilla.

E Actividad antioxidante química del grano crudo y tortilla de maíz criollo azul

La capacidad antioxidante del grano crudo y sus tortillas producidas por nixtmalización se evaluaron utilizando los ensayos químicos ABTS y DPPH (**Cuadro 9**). Los ensayos de capacidad antioxidante empleados se basan en transferencia de un solo electrón (Huang y col, 2005). Es decir, miden la capacidad donante de átomos de hidrógeno de los antioxidantes. Los valores promedio oscilaron entre 7,198.9 – 4,746.5, para ABTS y 3,164.0 – 1,997.5 $\mu\text{mol ET} / 100\text{g bs}$, para DPPH. Estos resultados son similares a lo reportado por Gaxiola-Cuevas (2017) (7,614.8 – 6,281.6 y 3,164.8 - 1,903.7 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g, bs}$, respectivamente), para maíz azul procedente del estado de Sinaloa. Los fenólicos ligados de los granos crudos fueron los principales contribuyentes (82.36 a 88%) a la capacidad antioxidante total. Diferentes investigaciones han reportado que los polifenoles ligados son los contribuyentes más importantes al contenido de antioxidantes y esta fracción representa aproximadamente el 98% del contenido total de antioxidantes en el maíz (Mora-Rochín y col, 2010; Gaxiola-Cuevas, 2017). Independientemente de la metodología utilizada, se observó que el proceso de elaboración de tortilla causó decrementos ($p < 0.05$) del 30 y 37 % en su actividad antioxidante total.

Debido a que la reactividad de los compuestos fenólicos es dependiente de las estructuras químicas que lo conforman (Zhao y col, 2008), los resultados obtenidos por ambos métodos pueden ser sesgados. En mecanismos descritos se conoce que el radical DPPH reacciona con polifenoles (catequinas,

Cuadro 9. Capacidad antioxidante química del grano crudo y tortilla de maíz criollo azul

Actividad antioxidante				
ABTS	Muestra	Libres	Ligados	Totales
	Crudo	832.8±26.2 ^a	6,367.0±108.1 ^a	7,198.8±67.2 ^a
	TN	735.1±12.9 ^b (88.27%)	4,011.5±130.1 ^b (63.0%)	4,746.5±71.5 ^b (65.93%)
DPPH	Crudo	557.6±22.5 ^a	2,606.4±46.0 ^a	3,164±34.3 ^a
	TN	450.5±28.6 ^a (80.79%)	1,546.9±179.0 ^b (59.35%)	1,997.5±103.8 ^b (63.13%)

*TN: Tortilla Nixtamalizada

*Las medidas se separaron por columnas para cada prueba, aplicando la prueba Tukey. Medias con la misma letra no son diferentes ($p < 0.05$). La actividad antioxidante se expresa en $\mu\text{mol ET} / 100 \text{ g, bs.}$

proantocianidinas), pero no con los ácidos fenólicos y azúcares (Kaneda y col 1995). Por lo tanto, la absorbancia cuantificada en las actividades antioxidantes determinada por DPPH y ABTS, son parcialmente diferentes. La principal ventaja del radical ABTS es su alta reactividad, de tal manera que la capacidad de reacción química es con una gama más amplia de antioxidantes en comparación con el método DPPH (Floegel y col, 2011). La elevada capacidad antioxidante presente tanto en grano crudo como en tortilla, podría estar directamente relacionada con la concentración de compuestos bioactivos, tales como, antocianinas y fenólicos, ya que estos son considerados potentes antioxidantes.

F Compuestos bioactivos en Fracciones ricas en Polifenoles y Antocianinas en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul

El contenido de fenólicos (expresado como miligramos equivalentes de ácido gálico/g EL) y antocianinas (expresado como miligramos de Cianidina-3-glucósido/g EL) totales de Fracciones ricas en Polifenoles (FP) y Antocianinas (FA) en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul, se muestran en el **Cuadro 10**.

El contenido de fenólicos totales del grano de maíz para las FP y FA fue de 26.5 y 22.3 mg equivalentes de ácido gálico (EAG/g EL) , respectivamente; sin embargo, se mostró un decremento ($p < 0.05$) cuando el grano fue transformado en tortilla para ambas fracciones, obteniendo un total de de 16.9 y 14.6 mg equivalentes de ácido gálico (EAG/g EL) de FP y FA, respectivamente. Por otro lado, el contenido de fenólicos totales para la fracción rica en antocianinas procedente de la tortilla nixtamalizada, incrementó 5 veces (80.8 mg EAG/g EL) con respecto a la fracción del grano crudo azul. Este incremento pudiera deberse

Cuadro 10. Compuestos fenólicos y antocianinas de Fracciones ricas en Polifenoles y Antocianinas en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul

		Contenido de fenólicos (mg EAG/ g, EL)	Contenido de antocianinas (mg ECG/ g, EL)
Muestra		Totales	Totales
FP	Crudo	26.5 ^a	8.9 ^a
	TN	16.9 ^b (63.77%)	4.3 ^b (48.31%)
FA	Crudo	22.3 ^a	7.4 ^a
	TN	14.6 ^b (65.47%)	3.8 ^b (51.35%)

*TN: Tortilla Nixtamalizada

*FP: Fracción rica en Polifenoles

*FA: Fracción rica en Antocianinas

*Las medidas se separaron por columnas, aplicando la prueba Tukey. Medias con la misma letra no son diferentes ($p < 0.05$).

a que el tratamiento térmico causa cambios en la matriz del grano de maíz que permiten la liberación de los compuestos ligados a pared celular (Xu y Chang, 2009; Hiemori y col, 2009), por lo que de acuerdo a nuestros resultados, se observa que es posible la preservación e incremento de estos compuestos en tortillas obtenidas por el proceso de nixtamalización.

La mayor concentración de antocianinas totales ($p < 0.05$) se observó en la fracción rica en polifenoles (8.9 mg cianidina 3 glucósido/g EL) de grano crudo (**Cuadro 10**), seguida de la fracción rica en antocianinas del grano crudo con 7.4 mg cianidina 3 glucósido/g EL. No obstante, se observó un decremento cuando el grano fue transformado en tortilla para ambas fracciones de 4.3 (FP) y 3.8 (FA) mg Cianidina- 3-glucósido/g EL. A pesar de que el tratamiento térmico pudiera permitir la liberación de compuestos ligados a la pared celular del grano, este mismo tratamiento afecta el contenido total de antocianinas. En el 2015, Sánchez-Madrigal y col, reportaron que las pérdidas en el contenido de antocianinas se incrementan con el pH alcalino y elevadas temperaturas, afectando la estabilidad de la molécula, y por ende el color y apariencia de la tortilla.

G Actividad antioxidante química en Fracciones ricas en Polifenoles y Antocianinas en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul

En el **Cuadro 11** se muestra la capacidad antioxidante total de las fracciones ricas en polifenoles y fracciones ricas en antocianinas por los métodos de ABTS y DPPH. Por el método de DPPH se obtuvieron valores promedio de 161.3 y 79.6 $\mu\text{mol ET /EL}$, para las FP y FA, respectivamente, para grano azul sin procesar; mientras que por el método de ABTS se obtuvieron valores promedio

Cuadro 11. Capacidad antioxidante química de Fracciones ricas en Polifenoles y Antocianinas en grano crudo y tortilla de maíz criollo azul

Actividad antioxidante total			
	Muestra	FP	FA
ABTS	Crudo	1,147.6 ± 25.6 ^a	1,005.3 ± 9.1 ^a
	TN	633.5 ± 43.9 ^b (55.2 %)	883.2 ± 36.3 ^b (87.9 %)
DPPH	Crudo	161.3 ^a	79.6 ^b
	TN	79.2 ^b (49.1 %)	74.9 ^b (94.1 %)

*TN: Tortilla Nixtamalizada

*FP: Fracción rica en Polifenoles

*FA: Fracción rica en Antocianinas

*Las medidas se separaron por filas, aplicando la prueba Tukey. Medias con la misma letra no son diferentes ($p < 0.05$). La actividad antioxidante se expresa en $\mu\text{mol ET / g, EL}$.

de 1,147.6 (FP) y 633.6 (FA) $\mu\text{mol ET /EL}$. Nuestros resultados se encuentran dentro del rango reportado por López Martínez y García Galindo (2010), quienes evaluaron la capacidad antioxidante de extractos acuosos y metanólicos de diferentes variedades de maíz, obteniendo un contenido de compuestos fenólicos que varió de entre 65.75 a 3400 mg/100 g y de antocianinas entre 1.5 a 2052.75 mg/100 g de harina de maíz, por los métodos de ABTS y DPPH, respectivamente.

En el caso de la tortilla nixtamalizada por ABTS, se observó una retención del 55.2% para la fracción rica en polifenoles, y del 87.9 % para la fracción rica en antocianinas. Por el método de DPPH, se obtuvo una retención de 49.1% y 94.1% para las mismas. Como se puede observar, hay una disminución ($p < 0.05$) de antocianinas en la tortilla nixtamalizazda respecto al grano crudo por el método de ABTS, sin embargo, por el método DPPH encontramos una pérdida de capacidad antioxidante menor. En este estudio, consideramos que en la extracción y purificación de antocianinas de maíz y tortilla azul no co-eluyeron compuestos interferentes, por lo que presumimos que la actividad antioxidante es debido al efecto sinérgico de las antocianinas presentes en el extracto. Estos resultados concuerdan con los reportados por Jiménez Nevárez (2018), quien ubtuvo valores de retención para la tortilla nixtamalizada de por el método de DPPH similares a los presentados en este estudio, y del 73% y 85.7% por ABTS para las FP y FA, respectivamente. Así como también se encuentran dentro del rango reportado por Hijar Mateos y col (2015) quienes reportan un porcentaje del contribución del 55%, para antocianinas presentes en tortitilla nixtamalizada de maíz azul y, al igual que en este estudio, atribuyen la pérdida de estos compuestos al proceso de nixtamalización.

Diversos estudios han sugerido que el contenido de antocianinas y su actividad antioxidante contribuyen con un efecto protector contra las enfermedades crónicas degenerativas y diversas enfermedades infecciosas; su ingesta diaria va de 180 a 215 mg por día (Abdel Aal y col, 2006)

H Evaluación de la capacidad inhibitoria del crecimiento bacteriano de compuestos bioactivos de maíz criollo azul

En esta investigación se utilizaron tres cepas bacterianas obtenidas de aislados clínicos y una cepa de referencia; *Escherichia coli* productora de Toxina Shiga (STEC), STEC Multi resistente, *Staphylococcus aureus* Meticilino resistente (MRSA) y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con la finalidad de analizar la especificidad de los extractos fitoquímicos fraccionados hacia la inhibición del crecimiento bacteriano. Se emplearon las dosis de 10, 20 y 40 mg/mL de la Fracción rica en Polifenoles y de la Fracción rica en Antocianinas de granos de maíz criollo azul crudo B-512, así como de sus tortillas elaboradas por el proceso de nixtamalización.

1 Capacidad bactericida de extractos polifenólicos y de antocianinas de maíz criollo azul crudo

En la **Figura 8A** se observa, que tras la primera hora de haber suministrado los diferentes tratamientos de la Fracción rica en Polifenoles de Maíz crudo (FPc) frente a *Escherichia coli* productora de Toxina Shiga (STEC), a las concentraciones de 10, 20 y 40 mg/mL no hubo un efecto inhibitorio ($p < 0.05$) respecto al control negativo (caldo Mueller-Hinton + cepa). Sin embargo, a las 2 h post tratamiento, la concentración a 40 mg/mL inhibió completamente el

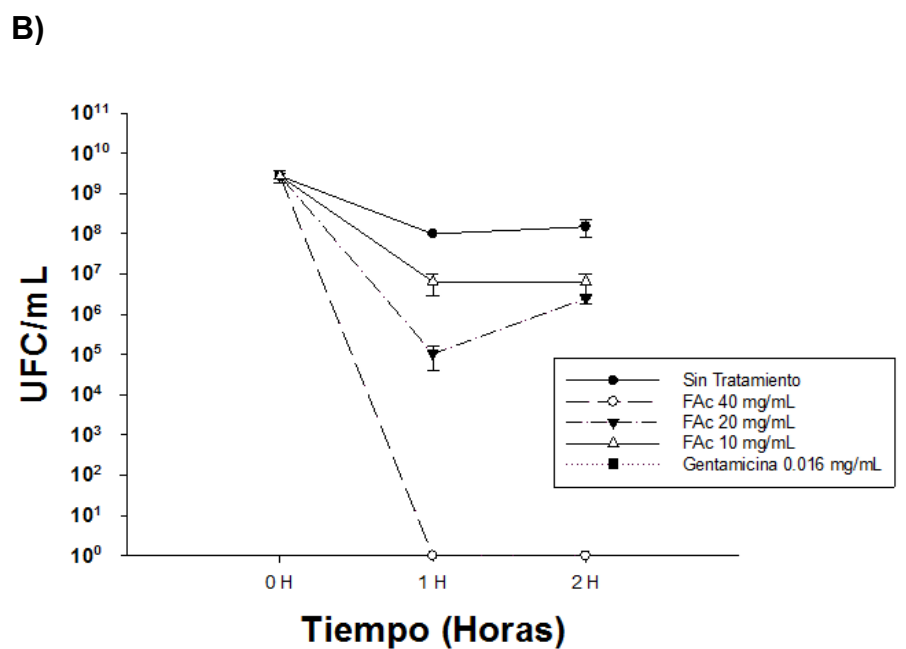
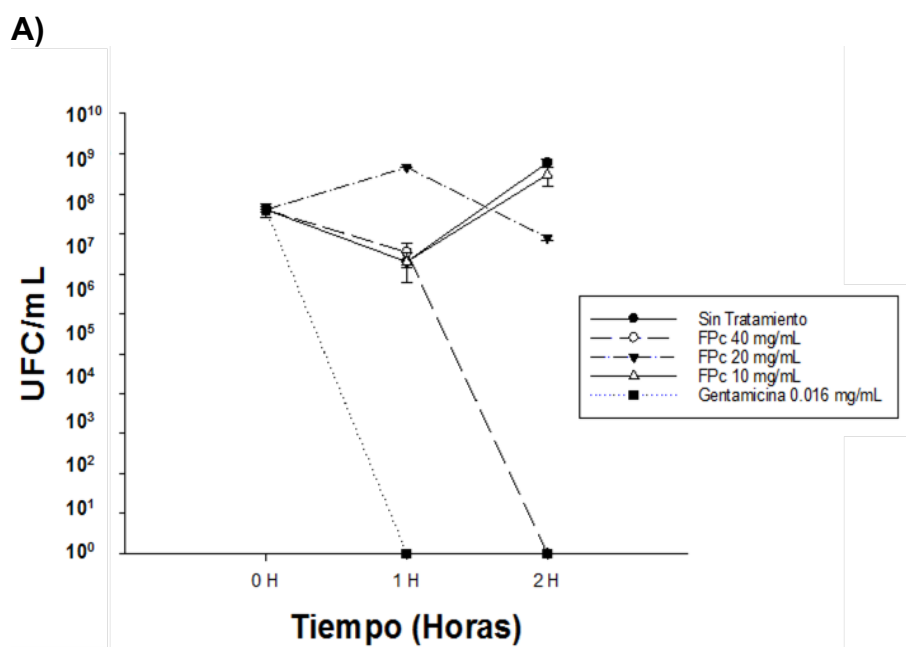


Figura 8. Efecto de extractos polifenólicos polifenólicos **(A)** y de antocianinas **(B)** de grano crudo de maíz criollo azul, en el crecimiento bacteriano de STEC

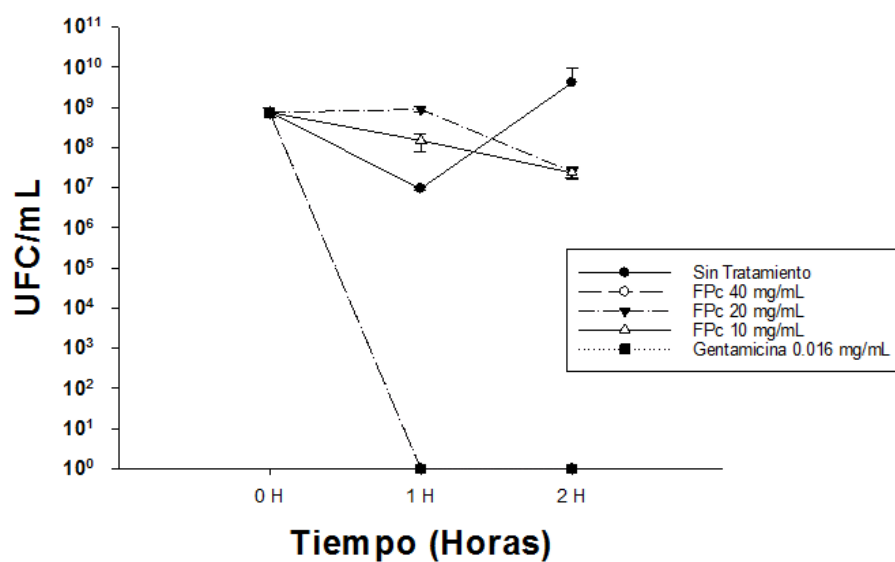
crecimiento de esta bacteria; comportamiento similar al presentado por gentamicina, antibiótico utilizado como control positivo. Por otra parte, al exponer a STEC a la presencia de la Fracción rica en Antocianinas de maíz crudo (FAc) (**Figura 8B**) y se encontró que tras la primer hora de exposición al tratamiento, las dosis de 10 y 20 mg/mL disminuyeron la concentración bacteriana en 3 y 4 logaritmos, respectivamente; sin embargo, considerando el control negativo podemos decir que esta disminución no fue significativa ($p < 0.05$). Caso contrario que la dosis de 40 mg/mL, la cual demostró inhibición bacteriana desde la primer hora post tratamiento. Este comportamiento fue similar en las cepas de STEC_{MDR} (**Figura 9A/B**), donde no se encontró diferencia ($p < 0.05$) entre los tratamientos a 10 y 20 mg/mL de los extractos crudos de polifenoles y antocianinas, pero se observó un efecto inhibitorio total a la 1er hora post tratamiento con 40 mg/mL para ambas fracciones.

Para el caso de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (**Figura 10A/B**), los tratamientos a 10 y 20 mg/mL de FPc y FAc no presentaron un efecto ($p < 0.05$) en la inhibición del crecimiento bacteriano a las 2 h post tratamiento; sin embargo, el tratamiento a 40 mg/mL de FPc inhibió hasta diez unidades logarítmicas la concentración de *Staphylococcus aureus* a 1 h después de exponer a la bacteria frente al extracto. Este comportamiento fue similar en las cepas de MR-*Staphylococcus aureus* (**Figura 11A/B**).

2 Capacidad bactericida de extractos polifenólicos y de antocianinas de tortillas de maíz criollo azul

Al exponer las cuatro cepas bacterianas frente a extractos polifenólicos y de antocianinas de tortilla de maíz criollo azul nixtamalizada (**Figura 12-15**), se

A)



B)

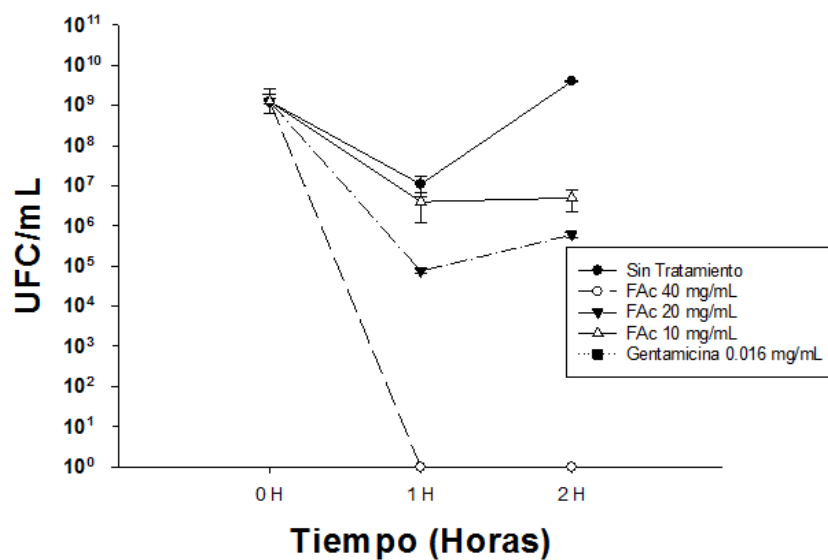
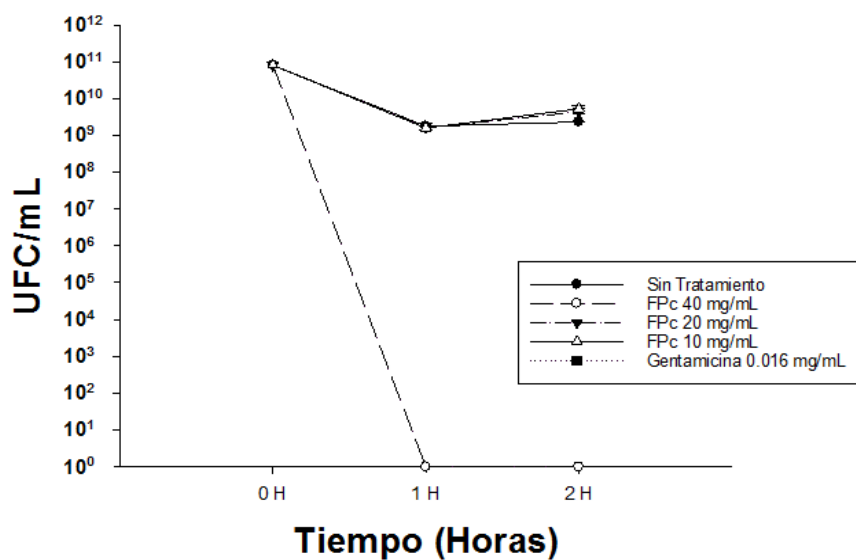


Figura 9. Efecto de extractos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de grano crudo de maíz criollo azul, en el crecimiento bacteriano de STEC_{MDR}

A)



B)

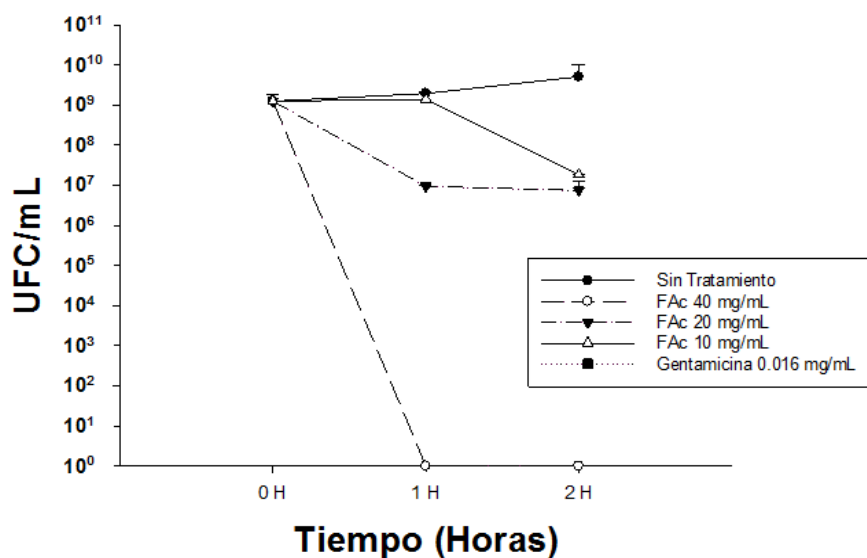
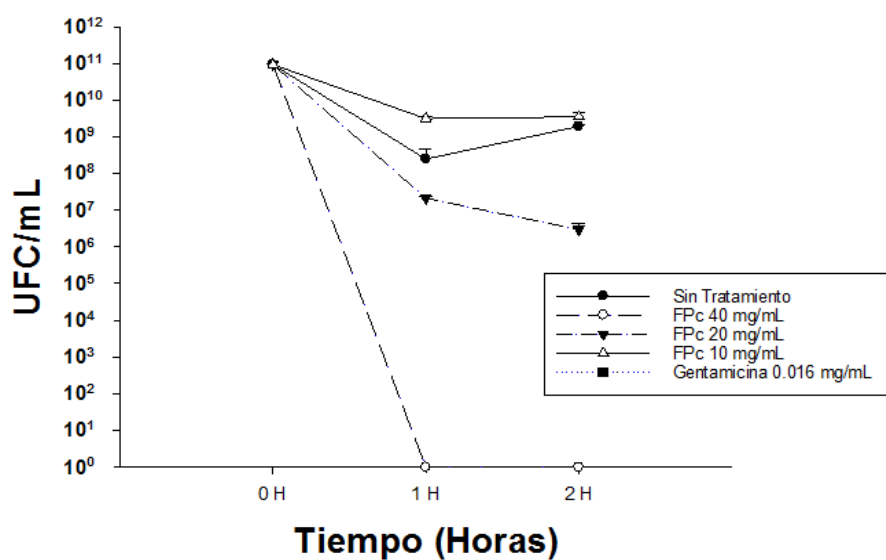


Figura 10. Efecto de extractos polifenólicos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de grano crudo de maíz criollo azul, en el crecimiento bacteriano de *S. aureus*

A)



B)

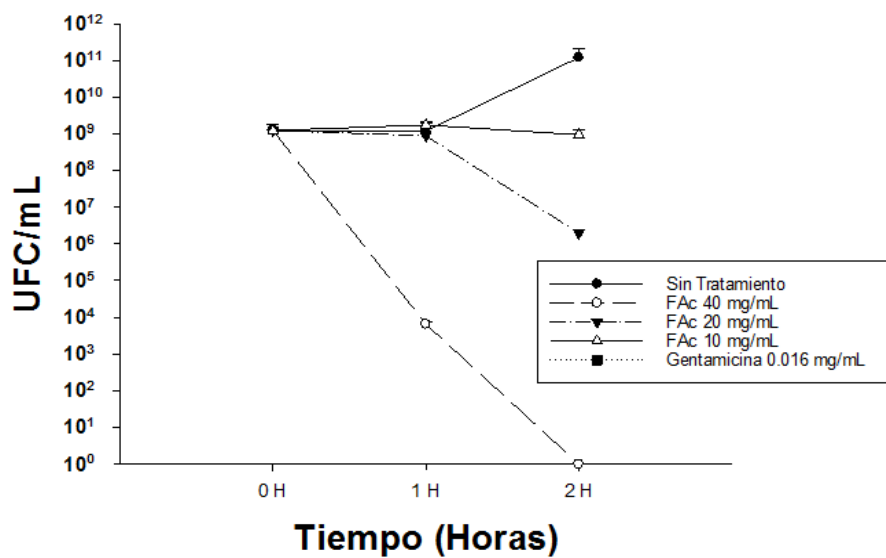


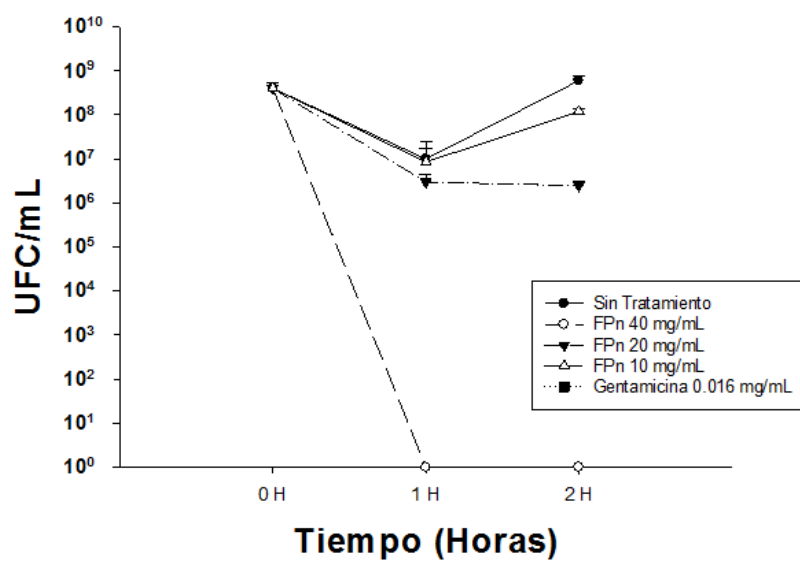
Figura 11. Efecto de extractos polifenólicos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de grano crudo de maíz criollo azul, en el crecimiento bacteriano de MR-S. aureus

obtuvieron resultados similares a los presentados en grano de maíz criollo azul crudo (**Figura 8-12**).

Se observó que el efecto del tratamiento con la Fracción rica en Polifenoles de maíz nixtamalizado (FPn) a 10 y 20 mg/mL (**Figura 12**) no fue significativo ($p < 0.05$). No obstante, la inhibición del crecimiento bacteriano de STEC tras ser expuesta a la concentración de 40 mg/mL fue notable desde la primer hora después de administrado el tratamiento. Por otra parte, al exponer a STEC a FAn (**Figura 12**) se encontró que tras la primer hora de exposición al tratamiento, las dosis de 10 y 20 mg/mL disminuyeron la concentración bacteriana en 3 y 4 logaritmos, respectivamente; sin embargo, considerando el control sin tratamiento podemos decir que esta disminución no fue significativa ($p < 0.05$). Caso contrario que el de la dosis de 40 mg/mL, la cual demostró inhibición bacteriana desde la primer hora post tratamiento para ambas fracciones. Este comportamiento fue similar en las cepas de STEC_{MDR} (**Figura 13A/B**), donde no se encontró diferentecia ($p < 0.05$) entre los tratamientos a 10 y 20 mg/mL de los extractos nixtamalizados de polifenoles y antocianinas, pero se observó un efecto inhibitorio total tras la primer hora post tratamiento con 40 mg/mL para ambas fracciones.

El efecto del tratamiento con FPn a 20 y 40 mg/mL inhibió cuatro y diez unidades logarítmicas la concentración bacteriana de *Staphylococcus aureus* (**Figura 14**), respectivamente, y después de 2 h de suministrado tratamiento el efecto a 20 mg/mL inhibió completamente el crecimiento de dicha bacteria. Para el caso de MR-*Staphylococcus aureus* (**Figura 15A/B**), como ya se mencionó, se reportó un efecto similar a las cepas anteriores, donde no se encontró diferentecia ($p < 0.05$) entre los tratamientos a 10 y 20 mg/mL de los extractos nixtamalizados

A)



B)

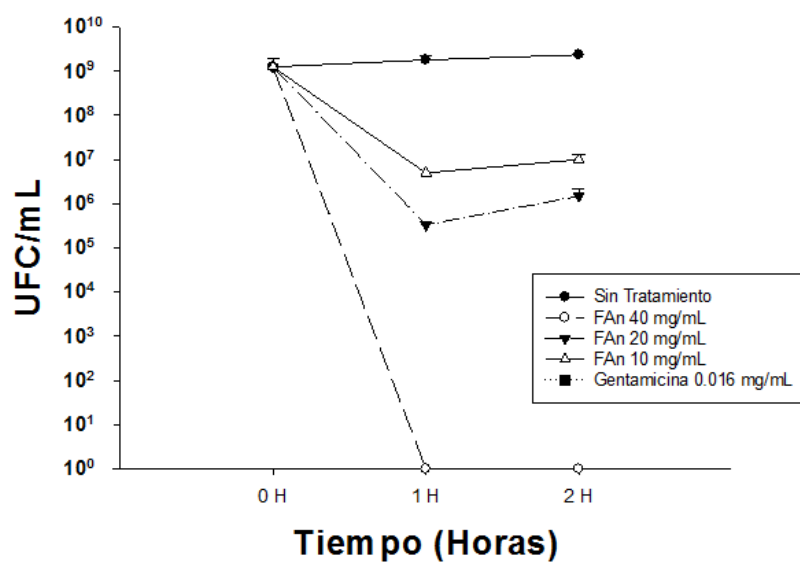
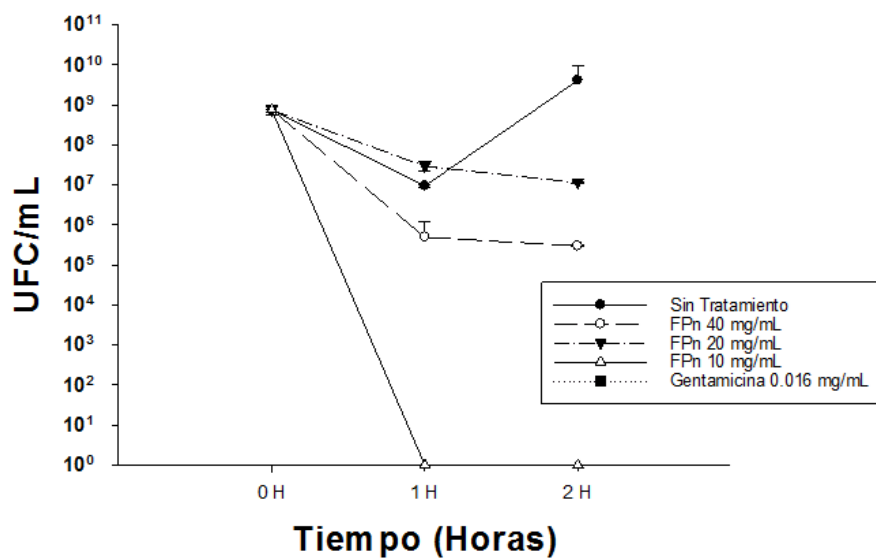


Figura 12. Efecto de extractos polifenólicos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de totilla nixtamalizada de maíz criollo azul, en el crecimiento bacteriano de STEC

A)



B)

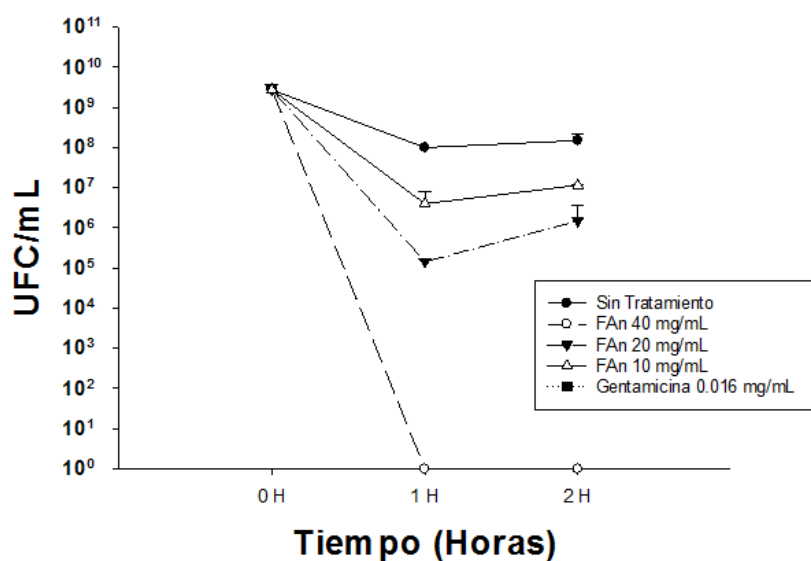
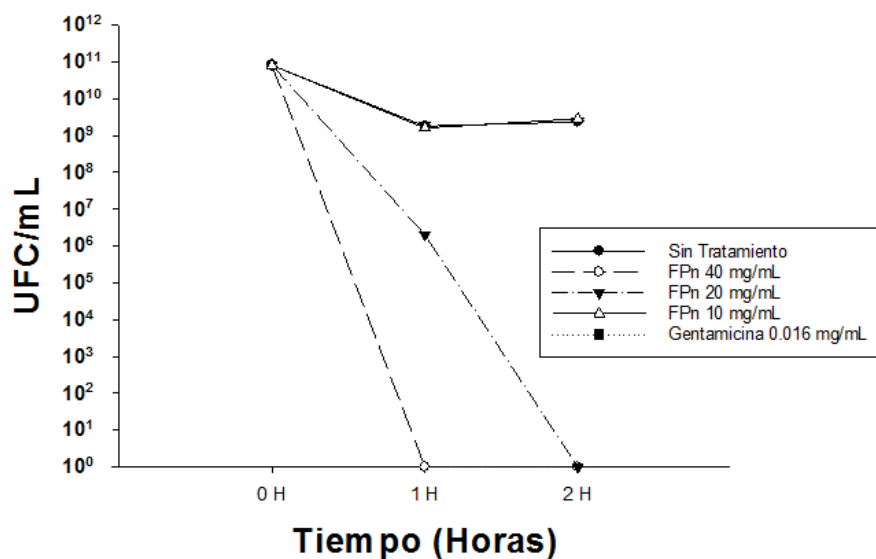


Figura 13. Efecto de extractos polifenólicos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de totilla nixtamalizada de maíz criollo azul, en el crecimiento bacteriano de STEC_{MDR}

A)



B)

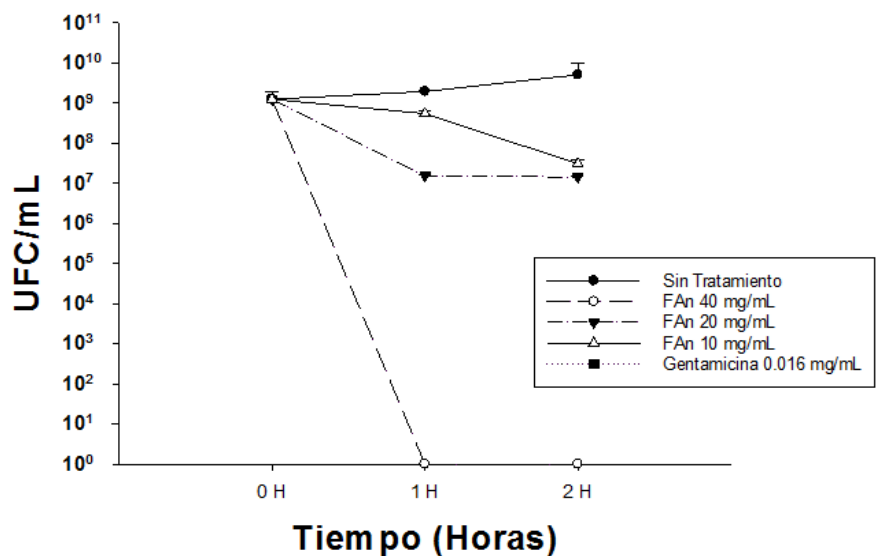


Figura 14. Efecto de extractos polifenólicos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de totilla nixtamalizada de maíz criollo azul, en el crecimiento bacteriano de *S. aureus*

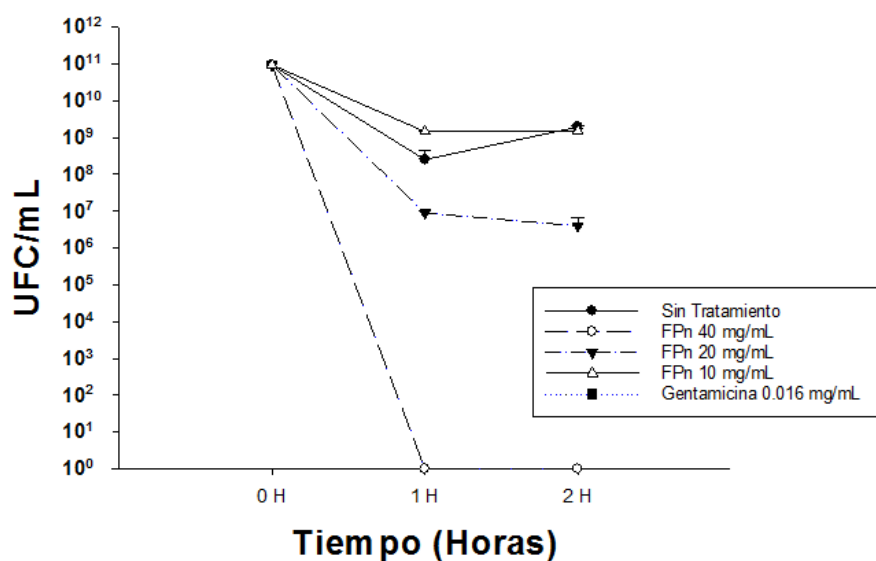
de polifenoles y antocianinas, pero se observó un efecto inhibitorio total desde la primer hora post tratamiento con 40 mg/mL para ambas fracciones.

3 Concentración mínima inhibitoria

Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de extractos fitoquímicos fraccionados de maíz criollo azul crudo y sus tortillas nixtamalizadas, frente a las cuatro cepas anteriormente mencionadas; las cuales fueron expuestas a diferentes concentraciones (10, 20 y 40 mg/mL) de cada extracto. De acuerdo con los resultados obtenidos (**Cuadro 10**), se pudo observar que la fracción rica en antocianinas de maíz criollo azul crudo la menor CMI de 10 mg/mL ($p < 0.05$) para STEC susceptible a antibióticos, STEC Multi resistente, *Staphylococcus aureus* Meticilino resistente (MRSA) y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Por otra parte, con esta misma fracción pero para maíz nixtamalizado se obtuvo una CMI de 20 mg/mL ($p < 0.05$), comportamiento similar al observado en las FPc y FPn frente a las mismas cuatro cepas. Estudios recientes realizados en otras especies vegetales, como *Calendula officinalis*, *Tagetes elliptica* y *Acalypha monostachya* han reportado una concentración mínima inhibitoria de 32, 164, 125 y 93.7 mg/mL frente a cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente (Khalid y Teixeira, 2012; Pimentel-Ramírez y col, 2015; Macías y col, 2009). En un estudio realizado por Govardhan-Singha y col (2013), encontraron que extractos fenólicos de harina de semillas de *Moringa oleífera* frente a *Staphylococcus aureus* presentaron una CMI de 1.17 g/mL y para *Escherichia coli* de 1.90 mg/mL.

Estos resultados son contrastantes a los encontrados en este trabajo de investigación, ya que se requiere menor concentración de extracto de maíz para

A)



B)

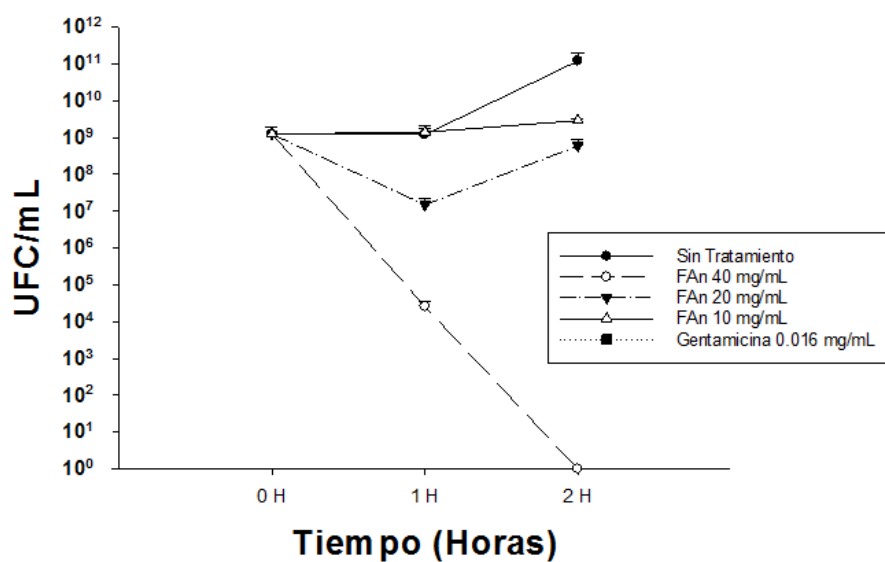


Figura 15. Efecto de extractos polifenólicos polifenólicos (A) y de antocianinas (B) de totilla nixtamalizada de maíz criollo azul, en el crecimiento bacteriano de MR-S. aureus

Cuadro 12. Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de extractos polifenólicos y de antocianinas de maíz criollo azul crudo y de tortillas nixtamalizadas frente a cepas bacterianas de aislados clínicos

CEPA	FPc MIC (mg/mL)	FPn MIC (mg/mL)	FAc MIC (mg/mL)	FAn MIC (mg/mL)
STEC Susceptible	20 ^a	20 ^a	10 ^b	20 ^a
STEC MDR	40 ^a	20 ^b	10 ^c	20 ^{b,d}
<i>S. aureus</i> Susceptible	20 ^a	20 ^a	10 ^b	20 ^a
MRSA	10 ^a	20 ^b	10 ^a	20 ^b

*FPc: Fracción rica en Polifenoles de grano crudo

*FPn: Fracción rica en Polifenoles de tortilla de maíz criollo azul

*FAc: Fracción rica en Antocianinas de grano crudo

*FAn: Fracción rica en Antocianinas de tortilla de maíz criollo azul

*Las medidas se separaron por filas, aplicando la prueba Tukey. Medias con la misma letra no son diferentes ($p < 0.05$).

obtener un efecto inhibitorio de crecimiento bacteriano.

En este estudio se muestra que STEC, STEC_{MDR}, *S. aureus* y MR-*S. aureus* fueron sensibles a los cuatro extractos analizados (**Figura 8-15**), encontrando que la inhibición del crecimiento bacteriano a las 2 h post tratamiento con 40 mg/mL de FPc, FPn, FAc y FAn fueron similares al efecto bactericida presentado por gentamicina, antibiótico utilizado como control positivo. Por otra parte, la concentración mínima inhibitoria de FPc, FPn y FAn fue de 20 mg/mL para las cepas analizadas, exceptuando a los FPc para STEC MDR y MR-*S. aureus*, cuya CMI fue de 40 y 10 mg/mL ($p < 0.05$), respectivamente. Esta diferencia se pudiera justificar por las diferencias estructurales de la pared celular de ambas bacterias, siendo la Gram negativa (STEC) la que más presenta resistencia a ser atacada por antimicrobianos, sin embargo, esta concentración se encuentra dentro de las reportadas por otros autores para la inhibición de *E. coli* por extractos de maíz azul (Rábago-Monzón, 2017; Sepúlveda-García, 2017). Así como se encuentran por encima de las reportadas para otras partes anatómicas de la planta de maíz (Abdullah-Surjee y Hady-Zwain, 2015; Morshed e Islam; 2015), quienes encontraron actividad antibacteriana frente una amplia variedad de patógenos Gram negativos y Gram positivos en concentraciones que van de los 8.15 a los 13.17 mg/mL; sin embargo, no pudieron combatir el crecimiento de *E. coli*.

En comparación con otras investigaciones, encontramos que el maíz criollo azul crudo y sus tortillas, son una fuente viable de compuestos bioactivos para inhibir el crecimiento bacteriano de cepas susceptibles y multi resistentes a antibióticos desde bajas concentraciones. Esto resalta la importancia que tiene el incluir maíces pigmentados en nuestra alimentación como medio preventivo;

además, no se descarta su uso terapéutico para futuras investigaciones.

IX CONCLUSIONES

1. Las características físicas del grano de maíz azul se encuentran dentro del rango establecido por la industria para ser utilizado en la industria de la masa y la tortilla.

2. El contenido total de antocianinas totales fue de 24.52 y 9.76 mg (ECG)/100 g bs, para maíz azul y tortilla respectivamente. Las tortillas azules retuvieron el 39.80% del contenido total de antocianinas con respecto al grano crudo.
3. El proceso de nixtamalización generó disminuciones en la capacidad antioxidante por diferentes métodos químicos (ABTS y DPPH). Para los dos métodos se observaron retenciones de 65.93% y 63.13%, respectivamente.
4. Para los extractos purificados, el proceso de nixtamalización y de elaboración de tortilla presentaron un porcentaje de retención 44 y 91%. La disminución de antocianinas en la fracción sometida a un segundo procedimiento de purificación podría estar asociada a una degradación de las mismas debido al mayor tiempo de exposición a la luz, temperatura y cambios de pH durante el proceso.
5. Los extractos ricos en antocianinas de maíz crudo, presentaron la menor Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 10 mg/mL. Sin embargo, de manera general, la concentración de 20 mg/mL combatió el crecimiento bacteriano de as cuatro cepas analizadas. Exceptuando a FPc frente a STEC_{MDR} y MR-*Staphylococcus aureus*, cuya CMI fue de 40 mg/mL y 10 mg/mL, respectivamente.
6. Los resultados obtenidos en la presente investigación, demuestran que el maíz criollo azul crudo y sus tortillas, son una fuente viable de compuestos bioactivos que inhiben el crecimiento bacteriano de cepas susceptibles y multi resistentes a antibióticos desde bajas concentraciones.

X BIBLIOGRAFÍA

- AACC.1995.** Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 11th Edition. Method 55-10-01. Revisado: Agosto, 2016.
<http://methods.aaccnet.org/summaries/55-10-01.aspx>
- Abdel-Aal ESM, Huel P. 1999.** A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry*, 76: 350-354
- Adom KK y Liu RH. 2002.** Antioxidant activity of grains. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50:6182-6187.
- Agama-Acevedo E, Salinas-Moreno Y, Pacheco-Vargas G y Bello-Pérez LA. 2011.** Características físicas y químicas de dos razas de maíz azul: morfología del almidón. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 2(3): 317-329.
- Aguayo-Rojas J, Mora-Rochín S, Cuevas-Rodríguez EO, Serna-Saldivar SO, Gutierrez-Urbe J y col. 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.
- Amézquita-López BA, Quiñones B, Soto-Beltrán M, Lee BG, Yambao JC. 2016.** Antimicrobial resistance profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and Non-O157 recovered from domestic farm animals in rural communities in Northwestern Mexico. *Antimicrobial resistance and infection control*. 5(1): 1.
- AOAC. 1999.** Association of Official Analytical Chemists. 16th Edition. Washington, DC, EUA. Methods 925.19; 960.52; 920.39; 934.01.
- Arroyave Rivera S, Atehortúa Barragán D y Jaimes Barragán F. 2014.** Actualización en Bacteriemia por *Staphylococcus Aureus*. *Medicina U.P.B.* 33(1): 48-55.
- Babbar N, Oberoi H S y Sandhu S K. 2015.** Therapeutic and Nutraceutical Potential of Bioactive Compounds Extracted from Fruit Residues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55:3, 319-337
- Bañuelos-Corrales AB. 2016.** Identificación de Biocompuestos en Maíces (*Zea mays L.*) Criollos Amarillos y Rojos. Efecto del Proceso sobre su Actividad

Antioxidante en Células HepG2. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán Rosales, México.

- Brand-Williams W, Cuvelier M-E y Berset C. 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*. 28(1): 25-30.
- Becerra G, Plascencia A, Luévanos A, Domínguez M y Hernández I. 2009.** Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias. *Enf Inf Microbiol*. 29(2): 70-76.
- Buhner SH. 2002.** Antibióticos naturales, Obelisco.
- Bush K, Courvalin P, Dantas G, Davies J, Eisenstein B, Huovinen P, Jacoby GA, Kishony R, Kreiswirth BN, Kutter E, **y col. 2011.** Tackling antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol*; 9:894-6.
- Cabrera CE, Gómez RF y Zúñiga AE. 2013.** La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación.
- Calvo MA, Angulo E, Costa P, Shiva C, Adelantado C y Vicente A. 2006.** Natural Plant Extracts and Organic Acids: Synergism and Implication on Piglet's Intestinal Microbiota. *Biotechnology* 5(2): 13-142.
- Calvo J y Martínez-Martínez L. 2008.** Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 34(10): 44-52.
- Celis CN, Rivero PE, Isaza JH, Stashenko EE y Martínez JR. 2007.** Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de *Lippia alba*, *Lippia origanoides* y *Phyla dulcis*, especies de la familia Verbenaceae. *Scientia et technica*. 1(33).
- Cerón-Carrillo T, Munguía-Pérez R, García S y Santiesteban-López NA. 2014.** Actividad antimicrobiana de extractos de diferentes especies de chile (capsicum). *Revista Iberoamericana de Ciencias*. 1: 213-221.
- Cervera C, Almela M, Martínez-Martínez JA, Moreno A y Miró JM. 2009.** Risk factors and management of Gram-positive bacteraemia. *International journal*

of antimicrobial agents. 34: S26-S30.

- Collison A, Yang L, Dykes L, Murray S, Awika J M. 2015.** Influence of Genetic Background on Anthocyanin and Copigment Composition and Behavior during Thermoalkaline Processing of Maize. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 63:5528–5538
- Corey GR. 2009.** Staphylococcus aureus bloodstream infections: definitions and treatment. *Clinical Infectious Diseases*. 48(Supplement_4): S254-S259.
- Cos P, Rajan P, Vedernikova I, Calomme M, Pieters Ly col. 2002.** In vitro antioxidant profile of phenolic acid derivatives. *Free radical research*. 36(6): 711-716.
- Cué Brugueras M y Morejón García M. 1998.** Antibacterianos de acción sistémica: Parte I. Antibióticos betalactámicos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*. 14: 347-361.
- Cuevas Rodríguez EO. 2011.** Evaluación del potencial nutracéutico de zarzamoras silvestres y mejoradas. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán Rosales, México.
- Dasgupta A y Klein K. 2014.** Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements: Prevention and Treatment of Disease, Academic Press.
- David MZ y Daum RS. 2010.** Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clinical microbiology reviews*. 23(3): 616-687.
- De la Parra C, Serna-Saldívar SO y Lui RH. 2007.** Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn production of masa, tortillas and tortilla chip. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 4177-4183
- Delgado Olivares L, Betanzos Cabrera G y Sumaya Martínez MT. 2010.** Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia*. 50: 10-15.
- Delgado-Vargas F, Jiménez A y Paredes-López O. 2000.** Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis,

- processing, and stability. *Critical reviews in food science and nutrition*. 40(3): 173-289.
- Díaz PS. 2003.** Sistemas MDR y resistencia a los antimicrobianos. *Rev Esp Quimioterap*. 16(2): 172-187.
- Dover LG, Alderwick LJ, Brown AK, Futterer K y Besra GS. 2007.** Regulation of cell wall synthesis and growth. *Current molecular medicine*. 7(3): 247-276.
- Espino Ordóñez G. 2014.** "Antocianinas, los otros pigmentos del reino vegetal." Disponible en: <http://ubuscientia.blogspot.mx/2014/01/antocianinas-los-otros-pigmentos-del.html>. (Febrero 2017)
- FAO.2004.** FAOSTAT Agricultural Database. <http://faostat.fao.org>
- Flores AU. 2015.** Hierbas medicinales utilizadas en la atención de enfermedades del sistema digestivo en la ciudad de Taxco, Guerrero, México. *Revista de Salud Publica= Journal of Public Health*. 17(1): 85.
- Galli L. 2012.** Estudio de los factores de adherencia de cepas de Escherichia Coli productoras de toxina Shiga aisladas de bovinos, Facultad de Ciencias Veterinarias.
- García AÁ y Carril EP-U. 2011.** Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. 2(3).
- García García R y Palou García E. 2008.** Mecanismos de acción antimicrobiana de timol y carvacrol sobre microorganismos de interés en alimentos. *Temas selectivos de Ingeniería de Alimentos*. 2(2): 41-51.
- García C, Martínez A, Ortega J y Castro F. 2010.** Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales. *Revista Química Viva*. 2(9): 86-96.
- Guerrero-Rodríguez E, Solís-Gaona S, Hernández-Castillo FD, Flores-Olivas A, Sandoval-López Vy col. 2007.** Actividad Biológica in vitro de Extractos de Flourensia cernua DC en Patógenos de Postcosecha: Alternaria alternata (Fr.: Fr.) Keissl., Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz. y Sacc. y Penicillium digitatum (Pers.: Fr.) Sacc. *Revista mexicana de Fitopatología*. 25(1): 48-53.

- Gonzales É, Antiparra R y Villarreal F. 2009.** Aislamiento e identificación de una cepa de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y catalasa negativo. En: Anales de la Facultad de Medicina, UNMSM. Facultad de Medicina. 45-46.
- Halliwell B. 2006.** Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiol.* 141(2): 312-322.
- Homedes N y Ugalde A. 2012.** Mexican pharmacies and antibiotic consumption at the US-Mexico border. *Southern med review.* 5(2): 9.
- INEGI. 2017.** Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Conjunto de datos: Mortalidad general. Revisión: Enero, 2018.
http://www.inegi.org.mx/lib/olap/consulta/general_ver4/MDXQueryDatos.asp?#Regreso&c=11144
- Jiménez JN, Ocampo AM, Vanegas JM, Rodriguez EA, Mediavilla JR y col. 2013.** A comparison of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* reveals no clinical and epidemiological but molecular differences. *International Journal of Medical Microbiology.* 303(2): 76-83.
- Jing P, y M M Giutsi. 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*,72:363-368
- Kaper JB, Nataro J. and Mobley H. 2004.** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* 2: 123-140.
- Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt Fy col. 2010.** Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet infectious diseases.* 10(9): 597-602.
- Kunin CM. 1993.** Resistance to antimicrobial drugs—a worldwide calamity. *Annals of internal medicine.* 118(7): 557-561.
- Lázaro E y Oteo J. 2006.** Evolución del consumo y de la resistencia a antibióticos en España. *Sistema.* 549: 562.
- Lorenzo JC, Carrión SV, Barreto DG y Mateos AT. 2001.** Aspectos microbiológicos y epidemiológicos para el uso racional de antibióticos en

niños con gastroenteritis bacteriana aguda.

Madigan M. 2005. Brock biology of microorganisms.(11th edn), SciELO Espana.

Makvana S y Krilov LR. 2015. Escherichia coli Infections. *Pediatrics in Review*. 36(4): 167.

Martínez-Flórez S, González-Gallego J y Culebras JM. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp*. 17(6): 271-278.

Martínez J y Sánchez F. 2007. Mecanismo de acción de los antibióticos. *Jano*. 1660: 28-34.

Menchaca Armenta M. 2016. Compuestos Bioactivos de Maíz (*Zea mays L.*) Criollo Azul de la raza Elotero de Sinaloa. Efecto del Procesamiento sobre su Actividad Antioxidante. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán Rosales, México.

Mendoza Ticona CA, Velasquez Talavera R, Mercado Diaz L, Ballon Echegaray J y Maguiña Vargas C. 2003. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* sensible, con sensibilidad " BORDERLINE" y resistentes a la meticilina. *Revista Medica Herediana*. 14(4): 181-185.

Mesa Vanegas AM, Naranjo JP, Diez AF, Ocampo O y Monsalve ZL. 2017. Actividad antibacterial y larvicida sobre *Aedes aegypti* L. de extractos de *Ambrosia peruviana* Willd (Altamisa). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 22: 1-11.

Milán-Carrillo J, Gutiérrez-Dorado R, Perales-Sánchez JXK, Cuevas-Rodríguez EO, Ramírez-Wong By col. 2006. The optimization of the extrusion process when using maize flour with a modified amino acid profile for making tortillas. *International journal of food science & technology*. 41(7): 727-736.

Milán-Carrillo J, Gutiérrez-Dorado R, Cuevas-Rodríguez E, Garzón-Tiznado J y Reyes-Moreno C. 2004. Nixtamalized flour from quality protein maize (*Zea mays L.*). Optimization of alkaline processing. *Plant Foods for Human Nutrition*. 59(1): 35-44.

Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C, Camacho-Hernández IL, Rouzaud-Sandez O. 2002. Optimisation of extrusion process to transform hardened chickpeas

(*Cicer arietinum* L) into a useful product. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82: 1718 – 1728.

Milán-Carrillo J, Reyes Moreno C, Rodelo E A, Trejo A C y Mora-Escobedo R.

2000. Physicochemical and nutritional characteristics of extruded flours from fresh and hardened chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Lebensmittel Wissenschaft und- Technologie* 33: 217-223.

Modi SR, Collins JJ y Relman DA. 2014. Antibiotics and the gut microbiota. *J Clin*

Invest. 124(10): 4212-4218.

Mora-Rochin S, Gutierrez- Uribe JA, Serna-Saldívar SO, Sánchez-Peña P,

Reyes-Moreno C y Milan-Carrillo J. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented corns processed by conventional nixtamalization of extrusion cooking. *Journal Cereal Science*, 52: 502-508.

Murray CJL y Lopez AD. 1996. Evidence-Based Health Policy--Lessons from the

Global Burden of Disease Study. *Science*. 274(5288): 740-743.

Naber CK, Baddour LM, Giamarellos-Bourboulis EJ, Gould IM, Herrmann My

col. 2009. Clinical consensus conference: survey on Gram-positive bloodstream infections with a focus on *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Diseases*. 48(Supplement_4): S260-S270.

Nessa F, Ismail Z y Mohamed N. 2012. Antimicrobial activities of extracts and

flavonoid glycosides of corn silk (*Zea mays* L). *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*. 1(2): 115-120.

Neumayer P. 2000. Antibióticos naturales: métodos alternativos para combatir las

infecciones (aloe vera, ajo, cebolla, limón--), Integral.

Nordmann P, Poirel L, Walsh TR y Livermore DM. 2011. The emerging NDM

carbapenemases. *Trends in microbiology*. 19(12): 588-595.

OMS. 2017. Organización Mundial de la Salud (OMS). Inocuidad Alimentaria.

Revisión: Febero, 2018. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>

OMS. 2016. Organización Mundial de la Salud (OMS). Enfermedades Transmitidas

por Alimentos (ETA). Revisión: Febero, 2018.

[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836%3A2015enfermedadestransmitidasporalimentoseta&catid=7678%3Aha
ccp&Itemid=41432&lang=pt](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836%3A2015enfermedadestransmitidasporalimentoseta&catid=7678%3Aha
ccp&Itemid=41432&lang=pt)

- OMS. 2010.** Organización Mundial de la Salud (OMS). Nuevos pesos de la discapacidad para la carga mundial de morbilidad. Revisión: Enero, 2018. <http://www.who.int/bulletin/volumes/88/12/10-084301/es/>
- Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. 2001.** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorocein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4619-4626
- Oxilia R M. 2010.** Oxidative Stress and Antioxidant Defense System. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 5(2):23-29
- Paredes-López O, Guevara Lara F, Bello Pérez L A. 2009.** La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias*, 92: 60–70.
- Peluso I, Miglio C, Morabito G, Ioannone F, Serafini M. 2015.** Flavonoids and Immune Function in Human: A Systematic Review. *Food Science and Nutrition*, 55:3, 383-395.
- Pérez-Jiménez J, Neveu V, Vos F, Scalbert A. 2010.** Systematic analysis of the content of 502 polyphenols in 452 foods and beverages: An application of the Phenol-Explorer database. *Journal of Agricultural. Food Chemistry*, 58(8):4959–4969.
- Pineda-Hidalgo KV, Méndez-Marroquín KP, Alvarez EV, Chávez-Ontiveros J, Sánchez-Peña Py col. 2013.** Microsatellite-based genetic diversity among accessions of maize landraces from Sinaloa in México. *Hereditas*. 150(4-6): 53-59.
- Procházková D, Boušová I y Wilhelmová N. 2011.** Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*. 82(4): 513-523.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang My col. 1999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. 26(9-10): 1231-1237.
- Reyes-Rodríguez NE, Talavera-Rojas M, Varela-Guerrero JA, Barba-León J y Gutiérrez-Castillo AdC. 2013.** Prevalencia y resistencia a antibióticos de

Escherichia coli O157: H7 aislada de canales de bovinos sacrificados en rastros del altiplano central Mexicano. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 4(2): 235-242.

Rocha Claudio, Reynolds Nathanael D y P. M. 2016. Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 32(1).

Rodríguez-Noriega E, León-Garnica G, Petersen-Morfín S, Pérez-Gómez HR, González-Díaz E. 2014. La evolución de la resistencia bacteriana en México, 1973-2013. *Biomédica*. 34(1).

Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I y Albán J. 2003. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*. 88(2): 199-204.

Roldán ML, Otero JL, Villarreal F, Baroni MR, Carrasco MSy col. 2011. Efecto inhibidor de *Lactobacillus casei* 206/1 contra *Escherichia coli* O157: H7. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 31(1): 37-41.

Ruiz MJ, Colello R, Padola NL y Etcheverría AI. 2017. Efecto inhibitorio de *Lactobacillus* spp. sobre bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos. *Revista Argentina de Microbiología*. 49(2): 174-177.

Salinas-Moreno Y, Martínez-Bustos F, Soto-Hernández M, Ortega-Paczka R y Arellano-Vázquez L. 2003. Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia*; 37,617-628

Sanabria G. 2014. Evolución de la resistencia en el *Staphylococcus aureus*. *Revista del Instituto de Medicina Tropical*. 3(2): 27-39.

Sánchez-Madrigal M A, 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.

Sarkar D y Shetty K. 2014. Metabolic stimulation of plant phenolics for food preservation and health. *Annual review of food science and technology*. 5: 395-413.

- Serna-Saldívar SO, Gómez MH y Rooney LW. 1990.** Technology, Chemistry and Nutritional Value of Alkaline-Cooked Corn Products. En "Advances in Cereal Science and Technology". Vol. X, Pomeranz (Ed). American Association of Cereal Chemists, St Paul, MN, EUA, pp. 243-307.
- Singleton VL, Orthofer R y Lamuele-Raventós RM. 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299: 152-165
- Shorr AF, Kunkel MJ y Kollef M. 2005.** Linezolid versus vancomycin for Staphylococcus aureus bacteraemia: pooled analysis of randomized studies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 56(5): 923-929.
- Sotero V, Maco M, Vela J, Merino C, Dávila Éy col. 2011.** Evaluación de la actividad antioxidante y compuestos fenólicos en pulpa y semillas de cuatro frutales amazónicos de la familia Sterculiaceae. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 77(1): 66-74.
- Soto Estrada G, Moreno Altamirano, L. & Pahua-Díaz, D. 2016.** Panorama epidemiológico de México, principales causas de morbilidad y mortalidad.
- Soto-Humaní HM. 2014.** Efecto Antibacteriano y Antifúngico comparativo de los extractos acuosos de *Zea Mays L.* (maíz morado), *Rubus glaucus* (mora andina); *Opuntia soherensii* (ayrampo) y Diseño de un gel de limpieza cutánea. Tesis de Licenciatura. Lima, Perú.
- SSA. 2016.** Secretaría de Salud (SSA). Morbilidad por grupo de edad y Estado. Revisión: Diciembre, 2017.
http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/morbilidad_grupo.html
- Sussmann O, Mattos L y Restrepo A. 2002.** Una revisión sobre la resistencia bacteriana.
- Tchaptchet S, and Hansen J. 2011.** The Yin and Yang of host-commensal mutualism. *Gut Microbes* 2: 347-352.
- Thiel Teresa and Ph D. 1999.** What is *E. coli* O157:H7. *Science in the Real World: Microbes in Action*.
- Tsioutis C, Kritsotakis E, Maraki S y Gikas A. 2010.** Infections by pandrug-resistant gram-negative bacteria: clinical profile, therapeutic management,

and outcome in a series of 21 patients. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. 29(3): 301-305.

- Urias-Peraldí M, Gutiérrez-Urbe J A, Preciado-Ortiz R E, Cruz Morales A S, Serna-Saldívar S O, y García-Lara S. 2013.** Nutraceutical profiles of improved blue maize (*Zea mays* L.) hybrids for subtropical regions. *Field Crops Research*, 141: 69–76
- Vallejos M C, Cerda A O, Valenzuela V M y Toledo A H. 2003.** Resistencia antimicrobiana en *Helicobacter pylori*: aspectos clínicos y moleculares. *Revista médica de Chile*. 131: 1313-1320.
- Vargas-Sánchez R, Torrescano-Urrutia G, Mendoza-Wilson A, Vallejo-Galland B, Acedo-Félix Ey col. 2014.** Mecanismos involucrados en la actividad antioxidante y antibacterial del propóleos. *Biotechnia*. 16(1): 32-37.
- Vázquez-Carrillo MG, Santiago-Ramos D, Gaytán-Martínez M, Morales-Sánchez E y de Jesús Guerrero-Herrera M. 2015.** High oil content maize: Physical, thermal and rheological properties of grain, masa, and tortillas. *LWT-Food Science and Technology*. 60(1): 156-161.
- Villalobos AP, Barrero LI, Rivera SM, Ovalle MV y Valera D. 2014.** Vigilancia de infecciones asociadas a la atención en salud, resistencia bacteriana y consumo de antibióticos en hospitales de alta complejidad, Colombia, 2011. *Biomédica*. 34(Sup1): 67-80.
- Vinderola CG y Reinheimer JA. 2003.** Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*. 36(9): 895-904.
- Wong F-C, Tan S-T y Chai T-T. 2016.** Phytochemical-mediated protein expression profiling and the potential applications in therapeutic drug target identifications. *Critical reviews in food science and nutrition*. 56(sup1): S162-S170.
- Xiao J. 2016.** Phytochemicals in food and nutrition. *Critical reviews in food science and nutrition*. 56(sup1): S1-S3.
- Zbikowska B, Franiczek R, Sowa A, Polukord G, Krzyzanowska By col. 2017.** Antimicrobial and Antiradical Activity of Extracts Obtained from Leaves of Five

Species of the Genus *Bergenia*: Identification of Antimicrobial Compounds.
Microb Drug Resist.

Zhang Y, Butelli E y Martin C. 2014. Engineering anthocyanin biosynthesis in plants. *Curr Opin Plant Biol.* 19: 81-90.

ABREVIATURAS

°C	Grados centígrados
ABTS	2,2-bis—azino)ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico
ANOVA	Análisis de Varianza
AVAD	Años de vida ajustados en función de la discapacidad
bs	base seca

CFT	Contenido de Fenólicos Totales
col	colaboradores
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EAG	Equivalente de Ácido Gálico
EGC	Equivalentes de cianidina-3-glucósido
ET	Equivalentes de Trolox
ET	métodos basados en la reacción de transferencia de electrones
Ex	excitación
Fig	figura
FL	fluoresceína
g	gramo
g	gravedades
h	horas
HAT	reacciones de transferencia de átomos de hidrógeno
HCl	ácido clorhídrico
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
Kg	kilogramo
L	litro
mg	miligramos
min	minuto
mL	mililitro
mm	milímetros
NaOH	hidróxido de sodio
NMX	Norma Mexicana
OMS	Organización Mundial de la Salud
ORAC	Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno
PBS	solución reguladora de fosfatos
ROS	Especies reactivas de oxígeno (por sus siglas en inglés)
rpm	revoluciones por minuto
s	segundos
SAGARPA	Secretaría de Agricultura y Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

TN	Tortillas elaboradas mediante el proceso tradicional de nixtamalización
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
UV	ultravioleta
µg	microgramo
µL	microlitros
µM	micromolar
µmol	micromol