

COLOR Y CARACTERÍSTICAS NUTRACÉUTICAS DE TORTILLAS DE MAÍCES (*Zea mays* L.) NATIVOS PREPARADAS CON DIFERENTES DOSIS DE ALCALI Y REFRIGERADAS

COLOR AND NUTRACEUTICAL CHARACTERISTICS OF NATIVE MAIZE (*Zea mays* L.) TORTILLAS PREPARED WITH DIFFERENT DOSES OF ALKALI AND REFRIGERATED

Margarita Gutiérrez-Llanos¹, Ivone Alemán-de la Torre², Yolanda Salinas-Moreno^{2*}, Alberto Santillán-Fernández³, José Luis Ramírez-Díaz² y Alejandro Ledesma-Miramontes²

¹Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Chapingo, Estado de México, México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Centro-Altos de Jalisco, Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. ³Catedrático CONACYT, Colegio de Postgraduados, Campus Campeche, Sihochac, Champotón, Campeche, México.

*Autor de correspondencia (yolasm@gmail.com)

RESUMEN

La nixtamalización del grano de maíz con antocianinas causa pérdida considerable (50-75 %) de estos compuestos en su proceso de transformación hacia tortillas. Existe poca información del efecto del pH alcalino de la tortilla durante su almacenamiento en refrigeración. El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de diferentes concentraciones de álcali durante la nixtamalización sobre color, variables fenólicas y capacidad antioxidante (CA) de tortillas elaboradas con granos de maíces con antocianinas y almacenadas en refrigeración. Se utilizó una variedad de maíz de grano azul morado (AZM) y otra de grano rojo cereza (RC). Las concentraciones de álcali fueron 0.5, 0.7, 1.0 y 1.5 %, y los tiempos de almacenamiento de las tortillas fueron de 1, 6 y 12 días. Las variables fenólicas incluyeron contenido de antocianinas totales (CAT) y fenoles solubles totales (FST). La capacidad antioxidante (CA) se midió con los métodos ABTS [ácido 2,2'-azinobis (3-étilbenzotiazolina-6-sulfónico)] y FRAP (poder antioxidante reductor férrico). El efecto del álcali sobre el color de la tortilla fue diferente de acuerdo con el color del grano. La tortilla de maíz AZM intensificó su color azul al incrementarse el álcali a 1.0 %; en concentraciones mayores predominó un tono amarillento, mientras en la RC, el color rosado prevaleció hasta la concentración de 0.7 %, mayores concentraciones indujeron tono amarillento. Al final del almacenamiento, la tortilla AZM perdió entre 61 y 76.8 % de su CAT inicial, en la tortilla RC las pérdidas variaron entre 23 y 45.5 %, según la concentración de álcali empleada. La CA de las tortillas se conservó durante el almacenamiento cuando se emplearon concentraciones bajas de álcali. El efecto de la cantidad de álcali durante la nixtamalización sobre el color, CAT, FST y CA difiere según el color del grano, e influye en la estabilidad de las antocianinas durante el almacenamiento de las tortillas.

Palabras clave: *Zea mays* L., antocianinas, capacidad antioxidante, fenoles solubles, refrigeración.

SUMMARY

Nixtamalization of maize grain with anthocyanins causes considerable loss (50-75 %) of these compounds in its transformation process to tortillas. Little information exists on the effect of different alkaline pH of tortilla during storage in refrigeration. The aim of this study was to determine the effect of different alkali concentrations during nixtamalization on color, phenolic variables and antioxidant capacity (AC) of tortillas made with maize kernels with anthocyanins and stored in refrigeration. A purple blue grain maize

variety (AZM) and a cherry red grain maize variety (RC) were used. Alkali concentrations were 0.5, 0.7, 1.0 and 1.5 %, and tortilla storage times were 1, 6 and 12 days. Phenolic variables included total anthocyanin content (TAC) and total soluble phenols (TSF). Antioxidant capacity (AC) was measured with the ABTS [2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] and FRAP (ferric reducing antioxidant power) methods. The effect of alkali on the color of tortilla was different according to the color of the grain. The AZM maize tortilla intensified its blue color when the alkali was increased to 1.0 %; in higher concentrations a yellowish tone predominated, while in RC, the pink color prevailed up to the concentration of 0.7 %; higher concentrations induced a yellowish tone. At the end of storage, the AZM tortilla lost between 61 and 76.8 % of its initial CAT, while in the RC tortilla the losses varied between 23 and 45.5 %, depending on the dose of alkali used. The CA of the tortillas was preserved during storage when low concentrations of alkali were used. The effect of the amount of alkali during nixtamalization of the grain on the color, CAT, FST and CA differs according to the color of the grain, and influences the stability of anthocyanins during the storage of tortillas.

Index words: *Zea mays* L., antioxidant capacity, anthocyanins, refrigeration, soluble phenolics.

INTRODUCCIÓN

Las tortillas elaboradas con maíces de granos de color por la presencia de antocianinas contienen mayor cantidad de antioxidantes (~40 %) que las tortillas elaboradas con maíz de grano blanco (Colín-Chávez et al. 2020; Hernández-Martínez et al. 2016). El mayor contenido de antioxidantes se debe a las antocianinas que permanecen en el grano después del proceso de nixtamalización; estos antioxidantes son más activos que los ácidos fenólicos que son comunes en tortillas preparadas con maíces de grano azul morado (AZM) o blanco (Colín-Chávez et al. 2020). Un mayor consumo de antioxidantes está asociado con menor incidencia de enfermedades crónico-degenerativas (Poljsak et al., 2021).

Durante la transformación de grano a tortilla en maíces

de color AZM o rojo cereza (RC) se pierde una cantidad importante (50 a 75 %) de antocianinas (Herrera-Sotero *et al.*, 2017; Salinas-Moreno *et al.*, 2003). Los factores relacionados con tales pérdidas son el pH elevado (11 a 13) y la temperatura alta (80 a 90 °C) que se presentan durante la nixtamalización del grano; de estos factores, el pH es el más crítico para pérdida de antocianinas (Salinas *et al.*, 2017) debido a su impacto en la estabilidad de la estructura de estos compuestos.

El color es de los atributos más importantes para el consumidor al momento de elegir sus productos alimenticios porque lo asocia con la calidad y frescura de los mismos (Cömert *et al.* 2020; Spence, 2015). En las tortillas de maíces con pigmentos tipo antociano, el color se ve afectado por las condiciones del proceso de nixtamalización; particularmente, la cantidad de álcali usada en la etapa del cocimiento altera el color de los productos finales (Salinas *et al.* 2017), no solo por su efecto directo en la degradación de antocianinas, sino porque el pH modifica la estructura química de estos flavonoides (Brouillard, 1982).

Las tortillas azules son cada vez más comunes en los supermercados de zonas con alto poder adquisitivo en la Ciudad de México, donde los consumidores las prefieren por su color, origen nativo y porque las asocian con un producto saludable (Colín-Chávez *et al.*, 2020). Las tortillas elaboradas con maíces de grano RC, de color rosado, son aún poco conocidas. Actualmente, el consumidor urbano adquiere la tortilla comúnmente para su consumo semanal y la conserva en refrigeración. Existe poca información sobre la estabilidad de las antocianinas en tortilla durante su almacenamiento refrigerado; no obstante, debido al pH alcalino de este producto, se esperarían pérdidas adicionales a las ocurridas al transformar el grano en tortilla. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de diferentes dosis de álcali durante la nixtamalización de maíces de grano azul morado (AZM) y rojo cereza (RC) sobre el color y contenido nutracéutico de la tortilla, así como evaluar la estabilidad de las antocianinas durante su almacenamiento refrigerado.

MATERIALES Y METODOS

Material de estudio

Se utilizó un maíz de grano AZM de la raza Elotes Cónicos y otro de grano RC de la raza Elotes Occidentales. El maíz AZM se obtuvo en el municipio de Ixtlahuaca, Estado de México; el maíz de grano RC se cultiva en la región de Tepatitlán, Jalisco, México. Ambos maíces se cultivaron en condiciones de temporal.

Tratamientos y diseño experimental

Los factores estudiados fueron: dos tipos de maíz, AZM y RC, cuatro dosis de álcali 0.5, 0.7, 1.0 y 1.5 % y tres tiempos de almacenamiento 1, 6 y 12 días a una temperatura de 4 °C. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con arreglo factorial con dos repeticiones. La combinación de factores y niveles produjo un total de 24 tratamientos y el tamaño de muestra fue de tres tortillas con muestreo sin reemplazo.

Características físicas del grano

Las variables registradas fueron color de grano, medido con un colorímetro Hunter-Lab Mini Scan (Hunter Associates, Reston, Virginia, EUA), de acuerdo con la metodología descrita por Salinas-Moreno *et al.* (2021) en una muestra de granos sanos. Se obtuvieron los valores de L (luminosidad, 0: negro y 100: blanco), a* (+a* tinte rojo, -a* tinte verde y b (+b* tinte amarillo, -b* tinte azul). Se calculó el ángulo de tono (Hue) y el índice croma de saturación de color. La humedad (H) y el peso hectolítico (PH) se midieron con un equipo Dickey-John (modelo GAC21000b, Auburn, Illinois, EUA), el cual determina las dos variables. El peso de cien granos (PCG), la densidad verdadera (DV) y dureza de grano medida con el índice de flotación (IF) se realizaron de acuerdo con Salinas y Vázquez (2006).

Nixtamalización y preparación de tortillas

La nixtamalización se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Salinas y Vázquez (2006). Se usaron 150 g de maíz y cuatro concentraciones de álcali (0.5, 0.7, 1.0 y 1.5 %), calculadas con relación al peso del grano, y una relación agua grano de 2:1. Con base en la dureza del grano (índice de flotación) se calculó el tiempo de cocimiento a ebullición para cada maíz, para el maíz AZM fue de 30 min y de 25 min para el maíz RC. Concluido el cocimiento, las muestras se dejaron en reposo por 16 h. El nixtamal se separó del nejayote y se enjuagó con agua potable, para luego molerse en un molino de piedras (marca Arenas, Hidalgo, México). La masa obtenida se amasó con agua potable hasta lograr una textura apropiada para preparar las tortillas. Porciones de 20 g de masa se moldearon a discos de 11 cm de diámetro con una prensa manual y se cocieron en una plancha metálica calentada con gas butano (220 a 270 °C). Como testigo se utilizó harina nixtamalizada azul comercial marca Maseca para preparar tortillas, adquirida a través del portal de Mercado Libre (México). Las tortillas envueltas en mantas de algodón y dentro de una bolsa plástica, se almacenaron en condiciones de refrigeración a 4 °C por 12 días.

Medición de pH en nejayote y tortillas

Se determinó el pH del nejayote antes de enjuagar el nixtamal. Esta variable se midió con un potenciómetro (Beckman, PHI 45, Brea, California, EUA) en una alícuota de 50 mL. En la tortilla, la determinación se realizó con el método 02-52 de la AACC (2000). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

Color en tortillas

Se registró el día en que se prepararon las tortillas, y posteriormente cada tres días, durante el periodo de almacenamiento, se realizaron tres lecturas en diferentes puntos sobre la superficie de la tortilla, en la cara contraria a la formación de la ampolla, con un colorímetro (Hunter-Lab Mini Scan, Reston, Virginia, EUA). Los datos de las variables *a** y *b** obtenidos con el equipo se usaron para calcular las variables de hue y croma. El tamaño de muestra en cada muestreo fue de tres tortillas.

Preparación de las muestras para análisis

El día de la preparación, y posteriormente cada seis días, se tomaron tres tortillas que se deshidrataron en condiciones de oscuridad y a temperatura ambiente por 24 h; posteriormente, se molieron en un molino tipo ciclónico (UDY, 3010-030, Fort Collins, Colorado, EUA) provisto con malla de 0.5 mm. La extracción de compuestos fenólicos se realizó a partir de 1.0 g de harina de tortilla o grano, según el caso, y 15 mL de metanol acidificado al 1 % con ácido trifluoracético. La mezcla se sónico por 15 min en un baño sonificador (Branson, modelo 2510R-MT, Brookfield, Connecticut, EUA) y se refrigeró por 105 min. La mezcla se centrifugó en una centrífuga (Hettich Zentrifugen, Universal 32, Westfalia, Alemania) durante 10 min a 4000 rpm, se separó el sobrenadante y se filtró con papel Whatman 4. El volumen de extracto se midió y se colocó en tubo de vidrio, almacenándose a -20 °C protegido de la luz, hasta su análisis. A partir de este extracto se realizó la determinación de las variables nutraceuticas [antocianinas totales (CAT), fenoles solubles totales (FST) y capacidad antioxidante (CA)].

Antocianinas totales (CAT) y fenoles solubles totales (FST)

El CAT se cuantificó usando el método descrito por Salinas *et al.* (2005). Los resultados se presentan en mg equivalentes de cianidina 3-glucósido (ECG) kg⁻¹ de muestra seca, para lo cual se elaboró una curva patrón de cianidina 3-glucósido (Extrasynthase, Genway, Francia). Para determinar los FST se aplicó el método de Folin-Ciocalteau (Singleton y Rossi, 1965). El contenido de FST

se calculó con base en una curva patrón de ácido gálico, los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (EAG) kg⁻¹ de muestra seca.

Capacidad antioxidante

Método ABTS [ácido 2,2'-azino-bis (3-etylbenzotiazolina-6-sulfónico)]

Se empleó la metodología de Re *et al.* (1999). Para correr el ensayo, a 200 µL de extracto se agregaron 2.8 mL de la solución de radical ABTS, la muestra se agitó y se dejó reaccionar por 30 min a temperatura ambiente y en oscuridad; posteriormente, se midió la absorbancia a 734 nm. El porcentaje de ABTS reducido se calculó con la fórmula: % ABTS = (1 - AM/AB) × 100, donde: % ABTS es el porcentaje de ABTS reducido, la absorbancia de la muestra y la absorbancia del blanco. Se preparó una curva patrón de Trolox a concentraciones de 25, 50, 75, 100, 125 y 150 µM.

Método FRAP (Poder antioxidante reductor férrico)

Se realizó de acuerdo con el método descrito por Benzie y Strain (1996), se prepararon 90 µL de extracto, 270 µL de agua destilada y 2700 µL de reactivo FRAP, se incubó a 37 °C por 30 min. La toma de lectura se realizó a 593 nm. Con los resultados obtenidos de los puntos de curva se calculó la absorbancia corregida. $\Delta Abs = AM - AB$, donde: ΔAbs es el incremento en la absorbancia, AM la absorbancia de la muestra y AB la absorbancia del blanco. Se preparó una curva patrón con concentraciones de 50, 150, 250, 350, 450, 550 y 650 µM de trolox. La asociación entre valores de Δabs (593 nm) y las concentraciones de trolox se hizo mediante un análisis de regresión lineal simple. La CA de las tortillas por los dos métodos se midió sólo al inicio y al final del almacenamiento.

Análisis estadístico

Se aplicó análisis de varianza y las diferencias entre las medias del efecto de los tres factores y sus niveles, en las variables respuesta CAT, FST, ABTS y FRAP se hicieron mediante comparaciones múltiples aplicando la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Por la prueba de análisis de varianza se encontró que el factor tiempo de almacenamiento tuvo efectos significativos en las variables nutraceuticas analizadas, los factores tipo de maíz y niveles de álcali no resultaron significativos en la variable ABTS (Cuadro 1); sin embargo, las interacciones entre los tres factores en sus diferentes

niveles, resultaron significativas para las variables CAT y ABTS. La combinación del tipo de maíz con los diferentes niveles de álcali fue significativa en las cuatro variables. Las interacciones significativas indican que los efectos de los factores sobre la variable respuesta no son aditivos y por tanto no pueden separarse los efectos de los factores; es decir, el efecto de la combinación de los factores en la variable respuesta no puede explicarse por la suma de los efectos de los factores por separado (Montgomery, 2014).

Características físicas y químicas del grano

El contenido de humedad del grano osciló entre 9 y 11.2 % para los maíces RC y AZM, respectivamente, estos valores son bajos si se considera que el grano se comercializa con una humedad cercana al 14 %. El PH mayor se registró en el maíz AZM con respecto al RC. Los valores de IF de los maíces AZM y RC corresponden a durezas de grano intermedia y muy suave, respectivamente (Salinas y Vázquez, 2006) (Cuadro 2).

La densidad del grano varió entre 1.17 y 1.03 g mL⁻¹, con el valor mayor en el maíz AZM. Estos valores se ubican cerca del intervalo 1.09-1.27 g mL⁻¹ reportado en 15 accesiones de maíz AZM de la raza Elotero de Sinaloa (Uriarte-Aceves et al. 2015). El PCG mostró valores de 31.2 y 38.8 g, con el mayor valor en la muestra RC, que posee un grano ligeramente más ancho y de mayor espesor que el AZM. En relación con el color de grano, el maíz AZM presentó menor luminosidad (L) que el maíz RC, indicativo de un grano más oscuro.

El hue del maíz AZM corresponde a un tono azul morado, ya que el tono azul se ubica en 270°; al incrementarse el hue, se tiene un tono morado, y al tener un croma bajo, resulta el color azul morado oscuro. En el caso del maíz RC, su hue revela un color rojo, que en combinación con los valores mayores de luminosidad y croma, corresponde a un color rojo claro.

En las variables químicas, el maíz AZM presentó 66.6 % más CAT y 20.7 % más FST que el maíz RC. El mayor CAT en maíces de grano AZM con relación a los de grano RC ha sido reportado por otros investigadores (de la Parra et al., 2007; Salinas et al., 1999) y se atribuye a factores genéticos.

Alcalinidad de nejayote y tortillas de los diferentes tratamientos de álcali

El pH del nejayote varió entre 9 y 12.1, y mostró relación positiva con la cantidad de álcali utilizada hasta la concentración de 1 %, sin diferencias en pH entre la concentración de 1.0 y 1.5 % (Figura 1).

La tortilla modificó ligeramente su pH con las diferentes cantidades de álcali utilizadas en la nixtamalización; este incremento fue más notorio en las del maíz RC, debido a que se trata de un grano más harinoso y posiblemente más poroso que el AZM. Los valores de pH en las tortillas de los dos maíces nixtamalizados con 0.5 y 1.0 % de álcali fueron similares a los informados por Sefa-Dedeh et al. (2004) en harinas nixtamalizadas de maíz de grano blanco obtenidas

Cuadro 1. Análisis de varianza para el efecto del tipo de maíz, nivel de álcali en el proceso de nixtamalización, días de almacenamiento y sus interacciones en variables nutracéuticas de las tortillas.

Fuente	DF	Variables nutracéuticas					
		CAT (n = 96)		FST (n = 96)		ABTS (n = 32)	
		Pr > F	Pr > F	Pr > F	Pr > F	Pr > F	
Maíz	1	<.0001***	<.0001***	1	0.9359 NS	<.0001***	
Álcali	3	<.0001***	<.0001***	3	0.0557*	0.0327**	
Almacén	2	<.0001***	<.0001***	1	0.0037***	0.0113**	
Maíz × Álcali	3	<.0001***	<.0001***	3	0.0002***	0.0003***	
Maíz × Almacén	2	<.0001***	0.1690 NS	1	0.0009***	0.3471 NS	
Álcali × Almacén	6	<.0001***	0.5441 NS	3	0.2279 NS	0.0745**	
Maíz × Álcali × Almacén	6	<.0001***	0.3757 NS	3	0.0174**	0.1145 NS	
Cuadrado medio del error		129.7660	3750.4670		1.0599	1.5731	
R ²		0.9949	0.8163		0.8514	0.8602	

*Significativo con P ≤ 0.1, **significativo con P ≤ 0.05, ***significativo con P ≤ 0.01, NS: no significativo, CAT: antocianinas totales, FST: fenoles solubles totales, ABTS: ácido 2,2'-azinobis (3-etylbenzotiazolina-6-sulfónico), FRAP: poder antioxidante reductor férrico.

Cuadro 2. Comparación múltiple de medias de características físicas y químicas del grano de los maíces azul morado (AZM) y rojo cereza (RC) utilizados en el estudio.

Maíz	Características físicas					Color de grano		
	H (%)	PH (kg hL ⁻¹)	IF (%)	D (g mL ⁻¹)	PCG (g)	L (%)	hue (°)	Croma
AZM	11.2 ± 0.0a	74.6 ± 0.4a	75.0 ± 1.0a	1.165 ± 0.0a	31.2 ± 1.6b	18.6 ± 0.0b	306.2 ± 2.1a	0.35 ± 0.04b
RC	9.0 ± 0.0b	63.3 ± 0.1b	100.0 ± 0.0b	1.025 ± 0.0b	38.8 ± 1.6a	30.7 ± 0.2a	21.4 ± 0.9b	19.7 ± 0.24a
Características químicas								
		CAT (mg ECG/kg MS)			FST (mg EAG/kg MS)			
AZM		888.9 ± 28.7a			1195.3 ± 163.8a			
RC		296.6 ± 39.2b			947.6 ± 35.2a			

AZM: azul morado, RC: rojo cereza, H: humedad, PH: peso hectolítico, IF: índice de flotación, D: densidad de grano, PCG: peso de cien granos, L: luminosidad, CAT: contenido de antocianinas totales, FST: fenoles solubles totales.

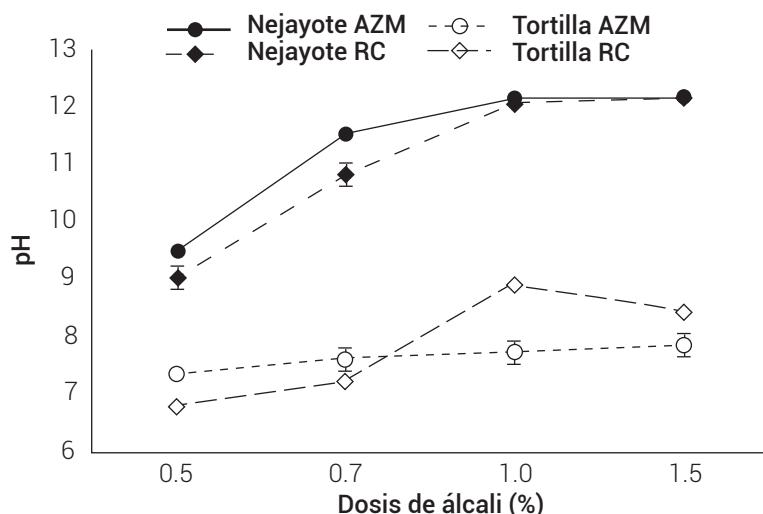


Figura 1. Valores de pH en nejayote y tortilla de los tratamientos de nixtamalización con diferentes concentraciones de álcali de los maíces de grano azul morado (AZM) y rojo cereza (RC).

con las mismas cantidades de álcali. La cantidad de álcali durante la nixtamalización se relaciona en forma directa con la velocidad de desintegración del pericarpio (Salinas *et al.*, 2017), aunque su impacto en el pH de la tortilla es mínimo, de acuerdo con el patrón observado en el maíz de grano AZM.

Color en tortillas preparadas con diferentes dosis de álcali

La luminosidad (L^*) de la tortilla se redujo al incrementarse la cantidad de álcali en la nixtamalización, patrón que se mantuvo hasta la concentración de 1.0 % para ambos maíces; a partir de este punto, una mayor

cantidad de álcali produjo tortillas más luminosas (Figura 2), atribuido a una mayor degradación de las antocianinas. En las tortillas del maíz AZM los valores de a^* fueron negativos, indicativo de una tonalidad verde, que aumentó hasta la concentración de 1.0 %; en las tortillas RC los valores de a^* fueron positivos, indicativo de una tonalidad rosa, que decreció al incrementarse la cantidad de álcali.

Una dosis de álcali de 1.5 % ocasionó un cambio en la dirección en esta variable, hacia un mayor valor en las tortillas de ambos maíces. Los valores de b^* se redujeron ligeramente en las tortillas AZM al incrementarse la cantidad de álcali durante la nixtamalización, hasta la concentración 1.0 %; con la dosis de 1.5 % el valor de b^*

incrementó considerablemente, lo que se significa que la tortilla intensificó su tinte amarillo. El incremento en la concentración de álcali durante la nixtamalización tuvo poco impacto en el tinte amarillo de las tortillas del maíz RC. En harina nixtamalizada de maíz de grano blanco, no incluida en el estudio, se han reportado variaciones similares a las obtenidas en las tortillas de los maíces bajo estudio, al modificar la cantidad de álcali durante la nixtamalización (Sefa-Dedeh *et al.*, 2004).

El color de las tortillas elaboradas con las diferentes concentraciones de álcali en la nixtamalización se aprecia en la Figura 3. En el maíz AZM, la tortilla de color azul más intenso se obtuvo con 1.0 % de álcali, mientras que para el maíz RC, la de tono más rosa se logró con 0.7 %.

Los cambios en el color de las tortillas por efecto de las concentraciones de álcali usadas en la nixtamalización no se pueden explicar completamente por las modificaciones en el pH de la matriz alimenticia, ya que las variaciones fueron mínimas, particularmente en la tortilla AZM (Figura 1). En soluciones acuosas de cianidina 3-glucósido puras se ha observado que los valores de croma, que es un parámetro relacionado con el índice de saturación de color, cambian de dirección al pasar el pH de 7.2 a 7.3, pero este patrón no se observó cuando la solución de antocianinas fue 10 veces más baja, a la cual se mantuvo el incremento del croma con el pH (Torskangerpoll y Andersen, 2005). Lo anterior muestra que el comportamiento del color ante cambios de pH de un producto o alimento es influenciado también por la concentración de antocianinas que posea.

Concentraciones de álcali en la nixtamalización y su efecto en los compuestos fenólicos de la tortilla

La cantidad de álcali en la nixtamalización de los maíces afectó los compuestos fenólicos. En las tortillas de los dos maíces el álcali redujo significativamente ($P \leq 0.05$) el CAT con respecto al del grano, esta reducción fue mayor en las tortillas AZM con relación a las RC (Cuadro 3). De acuerdo con los valores de CAT observados en las tortillas del maíz AZM preparadas con las diferentes dosis de álcali, las tortillas de color azul más intenso no fueron las de mayor CAT. La ausencia de relación entre color azul en la tortilla de maíces de grano AZM y su CAT ha sido previamente reportado (Salinas *et al.* 2017), y posiblemente se relacione con el incremento del color polimérico por efecto de las elevadas temperaturas, fenómeno que se ha reportado en purés de fresa (Teribia *et al.*, 2021).

La pérdida de antocianinas en la tortilla se incrementó al emplear una mayor concentración de álcali durante la nixtamalización. Este resultado posiblemente se relacione con el hecho de que una mayor concentración de álcali acelera la solubilización del pericarpio durante la nixtamalización (Salinas *et al.*, 2017) y las antocianinas de la capa de aleurona quedan expuestas al entorno donde proliferan los iones OH⁻ que provocan la apertura de la estructura de tres carbonos que une los dos anillos aromáticos de la antocianina, que pierde su poder pigmentante y se transforma en chalcona ionizada incolora (Marçò *et al.*, 2011). Las antocianinas son inestables a pH neutro o alcalino y temperatura elevada (90 a 95 °C), factores que caracterizan la etapa de nixtamalización dentro del proceso de transformación del grano a tortilla (Kamau *et al.*, 2020).

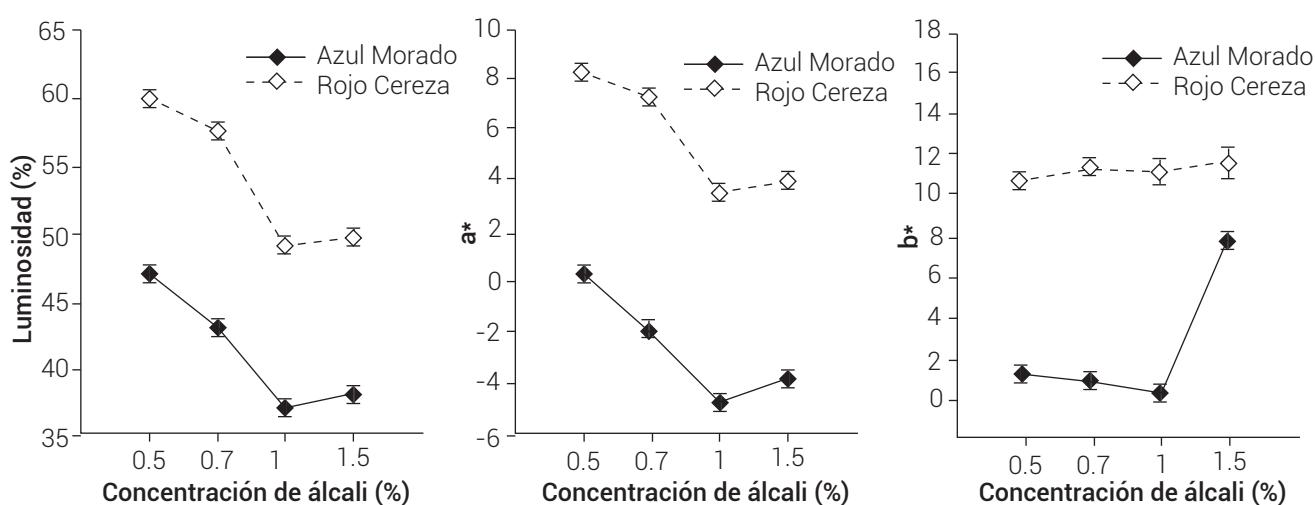


Figura 2. Efecto de la cantidad de álcali usada en la nixtamalización del grano de maíz azul morado y rojo cereza sobre el color de sus tortillas.

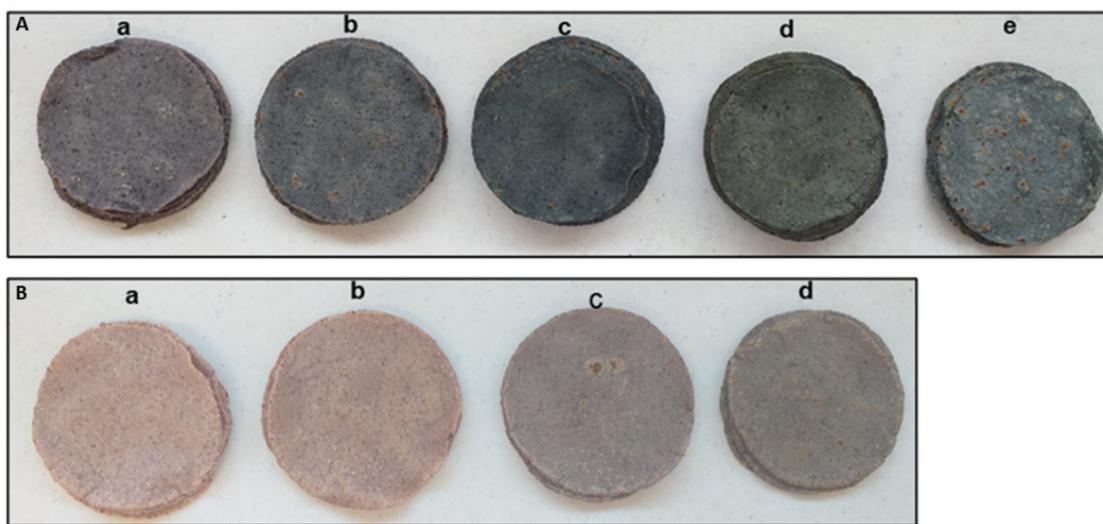


Figura 3. Color de tortillas recién preparadas con maíz azul morado (A) y rojo cereza (B) preparadas con diferentes concentraciones de álcali. a) 0.5 %, b) 0.7 %, c) 1.0 %, d) 1.5 %, e) tortilla preparada a partir de harina comercial de maíz azul.

Cuadro 3. Efecto de las concentraciones de álcali en la nixtamalización sobre el contenido de compuestos fenólicos de tortillas elaboradas con maíz azul morado (AZM) y rojo cereza (RC) en el día 1 de almacenamiento.

Tipo de maíz	Álcali	CAT	FST
AZM	0.5 %	522.8 ± 9.0a (-41.2)	1345.9 ± 13.4a (+12.6)
	0.7 %	450.6 ± 28.2b (-49.3)	1321.1 ± 39.9a (+10.5)
	1.0 %	209.3 ± 3.4c (-76.5)	1117.9 ± 35.7b (-6.5)
	1.5 %	108.3 ± 3.3d (-87.8)	1025.5 ± 58.5c (-14.2)
	TCA	234.7 ± 8.2c NA	1066.6 ± 46.2bc NA
RC	0.5 %	189.7 ± 8.4a (-36.4)	1028.2 ± 54.9b (+8.5)
	0.7 %	189.3 ± 2.7a (-36.5)	1092.1 ± 39.2ab (+15.2)
	1.0 %	101.4 ± 14.6b (-65.8)	1168.7 ± 93.4a (+23.3)
	1.5 %	78.1 ± 12.1c (-73.7)	1146.0 ± 21.0ab (+20.9)

Medias con la misma letra por columna y tipo de maíz no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$). El valor entre paréntesis representa el porcentaje de reducción o incremento de la variable con relación al grano crudo. NA: no aplica. AZM: azul morado, RC: rojo cereza, CAT: contenido de antocianinas totales, FST: fenoles solubles totales, TCA: tortilla de harina de maíz azul comercial.

Los FST se comportaron diferentes al CAT con las diferentes dosis de álcali. En la tortilla AZM con dosis menores de álcali los FST fueron mayores que los del grano crudo, mientras que con las dosis altas de álcali se observó reducción significativa ($P \leq 0.05$) de los FST con respecto al del grano crudo. En la tortilla RC, el contenido de FST fue mayor que en grano crudo en las cuatro dosis de álcali evaluadas. Estos resultados se explican a partir de la proporción de CAT en los FST del grano crudo para cada tipo de maíz. Para el maíz AZM la proporción fue 74.4 %, en tanto que para el maíz RC sólo representó 31.3 %. En

el maíz AZM, la tortilla obtenida con dosis bajas de álcali presentó pérdida de CAT menor que 50 %, es posible que la liberación de ácidos fenólicos ligados a componentes de la pared celular que ocurre durante la nixtamalización, particularmente de ácido ferúlico (de la Parra *et al.* 2007; Salinas-Moreno *et al.* 2017) sea mayor que la pérdida de CAT, lo que se traduce en un balance positivo de FST en la tortilla con respecto al grano. En el maíz RC, en cada dosis de álcali, la tortilla incrementó el contenido de FST hasta la concentración de 1.0 %, de manera que con esta dosis de álcali se tuvo un incremento de FST con relación

al grano. El maíz RC tiene menos antocianinas que el maíz AZM, por lo que la pérdida de estos compuestos debido al álcali en la nixtamalización posiblemente se compensó con la liberación de ácidos fenólicos por la nixtamalización, lo que pudo favorecerse al tener el maíz RC una densidad de grano menor en relación con la del maíz AZM.

Antocianinas, fenoles solubles totales y capacidad antioxidante de tortillas durante su almacenamiento refrigerado

Con el almacenamiento, el CAT de las tortillas de los dos maíces se redujo, de manera que al final del periodo de evaluación, las del maíz AZM elaboradas con 0.5, 0.7, 1.0 y 1.5 % de álcali perdieron 61.0, 53.2, 63.6 y 76.8 %, en ese orden. El CAT de la tortilla elaborada con harina comercial de maíz azul (TCA) se comportó durante el almacenamiento de forma similar al de la tortilla obtenida con una concentración de 1.0 % de álcali. En el caso de las tortillas de maíz RC, las pérdidas fueron 23.1, 25.5, 23.3 y 45.5 %, para las respectivas concentraciones de álcali (Figuras 4A y 4B). Las mayores pérdidas de antocianinas en la tortilla AZM con relación a la tortilla RC podrían deberse al tipo de antocianinas predominantes en cada caso. En maíces AZM destacan los derivados de cianidina, en tanto que en maíces RC las antocianinas que predominan son derivados de pelargonidina (Salinas *et al.*, 1999). La cianidina posee dos grupos OH en el anillo B de su estructura química, y la pelargonidina sólo un grupo OH. A mayor número de grupos OH en el anillo B de la estructura de la antocianina, menor es su estabilidad en pH alcalino (Fleschhut *et al.*, 2006). La tortilla AZM elaborada con 0.7 % de álcali durante la nixtamalización mantuvo su CAT hasta por 6 días de almacenamiento refrigerado.

A diferencia de lo observado en las antocianinas, la variación de los FST en las tortillas AZM y RC durante su almacenamiento refrigerado fue menor (Figuras 4C y 4D). Para la tortilla AZM las mayores pérdidas ocurrieron con las concentraciones 0.5 y 0.7 % de álcali (Figura 4C), atribuido a la pérdida de antocianinas; lo contrario se observó en la tortilla RC, en la cual la mayor reducción de FST se presentó en los tratamientos de nixtamalización con 1.0 y 1.5 % de álcali (Figura 4D).

Los FST representan todos los compuestos extraídos con el solvente usado, entre los que predominan los ácidos fenólicos, antocianinas y otros flavonoides (Salinas-Moreno *et al.*, 2017). En la tortilla de maíz predominan los ácidos fenólicos que provienen de los contenidos iniciales en el grano y los liberados por la hidrólisis alcalina durante la nixtamalización. Otra fuente de éstos es la degradación de las antocianinas que genera ácido protocatecuico (Sadilova *et al.* 2006), entre otros compuestos fenólicos.

La CA de las tortillas AZM, medida con los dos métodos (ABTS y FRAP), en el día 1 de almacenamiento mostró tendencia a disminuir al incrementarse la cantidad de álcali en la nixtamalización del grano. Este efecto se observó a partir de las concentraciones altas (1.0 y 1.5 %), ya que las tortillas elaboradas con las concentraciones bajas (0.5 y 0.7 %) mostraron igual CA; sin embargo, no existieron diferencias estadísticas ($P \geq 0.05$) de la CA de las tortillas entre las diferentes concentraciones de álcali utilizadas (Cuadro 4), atribuido a la liberación de ácidos fenólicos que ocurre con la nixtamalización. Los valores de CA obtenidos con el método ABTS fueron más elevados que los obtenidos con el método FRAP, lo que coincide con lo informado para maíz por otros autores (Ramírez-García *et al.*, 2022). En las tortillas AZM elaboradas con diferentes dosis de álcali, la CA estuvo estrechamente ligada con el CAT de las tortillas. La CA de la tortilla elaborada con harina nixtamalizada comercial (TCA) mostró valores numéricos parecidos a los de la tortilla AZM obtenida con 1.0 % de álcali en la nixtamalización, aunque sin diferencia estadística.

En las tortillas RC los resultados de CA fueron contrarios a los obtenidos en las tortillas AZM, ya que esta variable mostró tendencia a aumentar con el incremento en la cantidad de álcali empleada en la nixtamalización, aunque sin diferencia estadística ($P \geq 0.05$) entre las concentraciones de álcali.

Al final del almacenamiento (día 12), las tortillas AZM, en la dosis más baja de álcali, mantuvieron su CA igual que al inicio, resultado que se atribuye a que el CAT en estas tortillas no cambió. Las tortillas elaboradas con las dosis subsiguientes de álcali redujeron su CA, que fue menor que la de las tortillas elaboradas con 0.5 % de álcali, lo que indica que la concentración de álcali afecta la estabilidad de las antocianinas durante su almacenamiento, y por ende la CA. Este patrón fue común con los dos métodos empleados para medir la CA de las tortillas. La tortilla TCA redujo su CA de forma similar a la tortilla AZM elaborada con 1.0 %. (Figura 3)

Las tortillas RC no mostraron diferencia estadística de su CA entre las diferentes concentraciones de álcali usadas en la nixtamalización después de 12 días de almacenamiento refrigerado, con los dos métodos utilizados para medir esta variable. Este resultado se atribuye a que la CA en estas tortillas está asociada con los FST, que están integrados por ácidos fenólicos principalmente, ya que la proporción de antocianinas es baja en relación con lo observado para las tortillas AZM. Los ácidos fenólicos poseen CA y son más estables que las antocianinas a variaciones de pH y temperatura en el medio que los contiene (Rashmi y Negi, 2020).

Existen reportes sobre el efecto de diferentes concentraciones de álcali en la nixtamalización de maíz de grano blanco (Pappa *et al.*, 2010), aunque no se localizaron estudios sobre este tema en maíces con presencia de antocianinas en los que se evalúe su estabilidad durante el almacenamiento de las tortillas; sin embargo, en pan elaborado con trigos que contienen antocianinas se reportan pérdidas de estos flavonoides hasta de 46.6 % después de ser almacenado por 24 h a temperatura ambiente. La reducción de antocianinas durante el almacenamiento se relacionó con el contenido y tipo de antocianinas dominante en cada genotipo de trigo. Los panes elaborados con trigos con alto contenido de antocianinas y con predominancia de delfinidinas perdieron más antocianinas que aquellos con menor contenido y predominancia de peonidinas y cianidinas (Eliášová *et al.*, 2020).

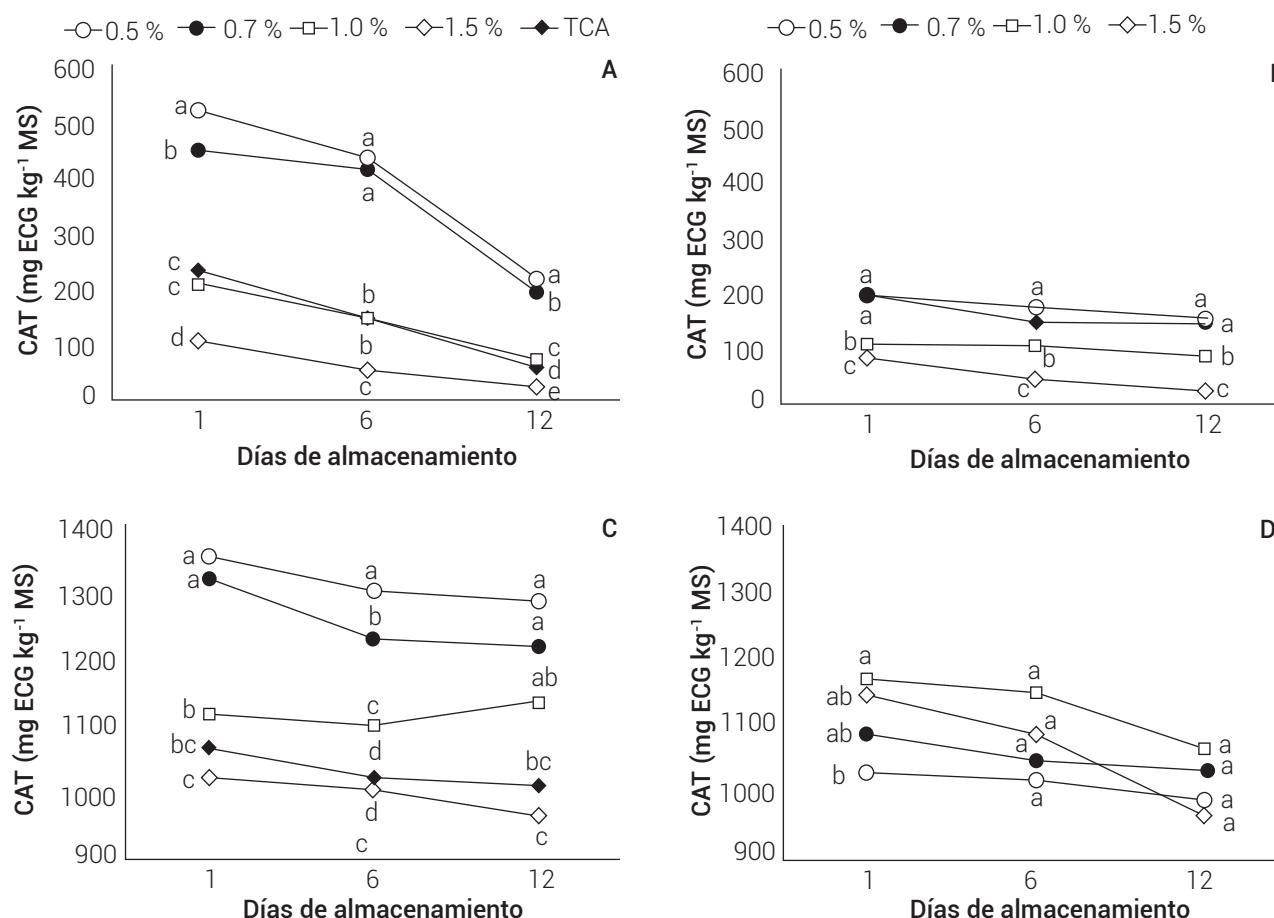
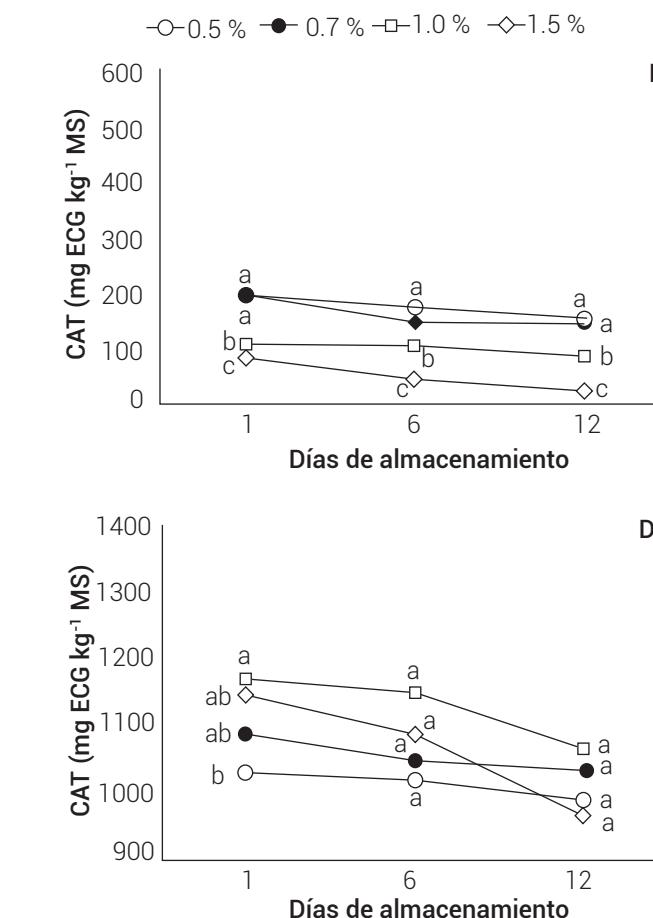


Figura 4. Contenido de antocianinas totales (CAT) en tortillas de maíz AZM (A) y RC (B) y contenido de fenoles solubles totales (FST) en tortillas de maíz AZM (C) y RC (D) elaboradas con diferentes niveles de álcali y almacenadas bajo refrigeración. TCA: tortilla elaborada con harina azul comercial. Medias con la misma letra por días de almacenamiento no son estadísticamente significativas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Color de la tortilla durante su almacenamiento

Con el almacenamiento, los valores de luminosidad (L^*) se mantuvieron en las tortillas AZM obtenidas con 0.5 y 0.7 % de álcali; las preparadas con dosis elevadas (1.0 y 1.5 %) la incrementaron, lo que significa que fueron más luminosas y por tanto menos oscuras. Este mismo patrón se observó en la tortilla elaborada con harina azul comercial (TAC) (Figura 5A). Las tortillas RC presentaron un comportamiento similar a las tortillas AZM (Figura 5B). Los incrementos en los valores de L^* se pueden asociar con la pérdida de antocianinas durante el almacenamiento.

El tono de color Hue se modificó poco durante el almacenamiento de las tortillas (Figuras 5C y 5D), no así los valores de Croma, que se incrementaron, sobre todo en las tortillas elaboradas con las dosis más elevadas de álcali (Figuras 5E y 5F). En general, los mayores cambios en el color de las tortillas ocurrieron después de los seis



Cuadro 4. Capacidad antioxidante por los métodos ABTS y FRAP en tortillas de maíz AZM y RC elaboradas con diferentes concentraciones de álcali en la nixtamalización y almacenadas bajo refrigeración por 12 días.

Tipo de maíz		Concentraciones de álcali (%)				
		0.5	0.7	1.0	1.5	TCA
Día 1						
AZM	ABTS	19.8 ± 0.5a	19.5 ± 1.8a	16.1 ± 1.3a	15.0 ± 1.4a	17.2 ± 0.8a
	FRAP	16.4 ± 0.7a	17.6 ± 0.6a	12.6 ± 2.4a	12.8 ± 0.7a	14.8 ± 4.5a
RC	ABTS	17.2 ± 2.0a	19.2 ± 0.6a	19.6 ± 0.6a	20.2 ± 0.3a	NA
	FRAP	9.8 ± 0.4a	12.9 ± 1.8a	14.2 ± 1.6a	14.5 ± 2.1a	NA
Día 12						
AZM	ABTS	19.9 ± 0.5a	16.9 ± 1.2ab	18.0 ± 0.1ab	16.7 ± 1.2b	18.5 ± 0.2ab
	FRAP	16.0 ± 0.0a	15.2 ± 0.3a	13.5 ± 0.8ab	11.3 ± 0.9b	11.0 ± 1.2b
RC	ABTS	15.3 ± 0.2a	17.4 ± 0.2a	17.5 ± 1.2a	15.3 ± 0.7a	NA
	FRAP	11.4 ± 2.0a	11.4 ± 0.5a	11.6 ± 1.4a	10.3 ± 0.5a	NA

Medias con la misma letra por fila no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$). AZM: azul morado, RC: rojo cereza, TCA: tortilla elaborada con harina azul comercial, NA: no aplica.

días de almacenamiento y se asociaron con la pérdida de antocianinas.

CONCLUSIONES

Las diferentes concentraciones de álcali en la nixtamalización de maíces de grano azul morado y rojo cereza modificaron el color de las tortillas. El maíz azul morado intensificó su tono azul hasta la concentración de álcali de 1.0 %, en dosis más altas predominó la tonalidad amarilla. En el maíz de grano rojo cereza la concentración de álcali no alteró sustancialmente el color de la tortilla. La concentración de álcali afectó más al contenido de antocianinas en la tortilla que a los fenoles solubles totales. La intensidad azul en las tortillas no estuvo asociada con su contenido de antocianinas. La capacidad antioxidante en las tortillas del maíz azul morado se redujo al incrementar las cantidades de álcali, aunque en las tortillas de maíz rojo cereza no se modificó. Hubo pérdidas de antocianinas en las tortillas durante el almacenamiento refrigerado, en las del maíz azul morado se perdieron más que en las del rojo cereza. La cantidad de álcali en la nixtamalización afecta el color de la tortilla, la pérdida de antocianinas y su estabilidad durante el almacenamiento, con resultados diferentes, según el color del grano de maíz.

BIBLIOGRAFÍA

AACC, American Association of Cereal Chemists (2000) Approved Methods. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, Minnesota, USA. pp:15-16.

- Benzie I. F. F. and J. J. Strain (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239:70-76, <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Brouillard R. (1982) Chemical structure of anthocyanins. In: *Anthocyanins as Food Colors*. P. Markakis (ed.). Academic Press. New York, USA. pp:1-38, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-472550-8.50005-6>
- Colín-Chávez C., J. J. Virgen-Ortiz, L. E. Serrano-Rubio, M. A. Martínez-Téllez and M. Astier (2020) Comparison of nutritional properties and bioactive compounds between industrial and artisan fresh tortillas from maize landraces. *Current Research of Food Science* 3:189-194, <https://doi.org/10.1016/j.crfcs.2020.05.004>
- Cömert E. D., B. A. Mogol and V. Gökmén (2020) Relationship between color and antioxidant capacity of fruits and vegetables. *Current Research in Food Science* 2:1-10, <https://doi.org/10.1016/j.crfcs.2019.11.001>
- de la Parra C., S. O. Serna S. and R. H. Liu (2007) Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:4177-4183, <https://doi.org/10.1021/jf063487p>
- Eliášová M., Z. Kotíková, J. Lachman, M. Orsák and P. Martinek (2020) Influence of baking on anthocyanin content in coloured-grain wheat bread. *Plant, Soil and Environment* 66:381-386, <https://doi.org/10.17221/210/2020-PSE>
- Fleschhut J., F. Kratzer, G. Rechkemmer and E. S. Kulling (2006) Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins *in vitro*. *European Journal of Nutrition* 45:7-18, <https://doi.org/10.1007/s00394-005-0557-8>
- Hernández-Martínez V., Y. Salinas-Moreno, J. L. Ramírez-Díaz, G. Vázquez-Carrillo, A. Domínguez-López and A. G. Ramírez-Romero (2016) Color, phenolic composition and antioxidant activity of blue tortillas from Mexican maize races. *CYTA - Journal of Food* 14:473-481, <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1136842>
- Herrera-Sotero M. Y., C. D. Cruz-Hernández, C. Trujillo-Carretero, M. Rodríguez-Dorantes, H. S. García-Galindo and J. L. Chávez-Servía, ... and R. I. Guzmán-Gerónimo (2017) Antioxidant and antiproliferative activity of blue corn and tortilla from native maize. *BMC Chemistry* 11:110, <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0341-x>
- Kamau E. H., S. G. Nkhata and O. E. Ayua (2020) Extrusion and

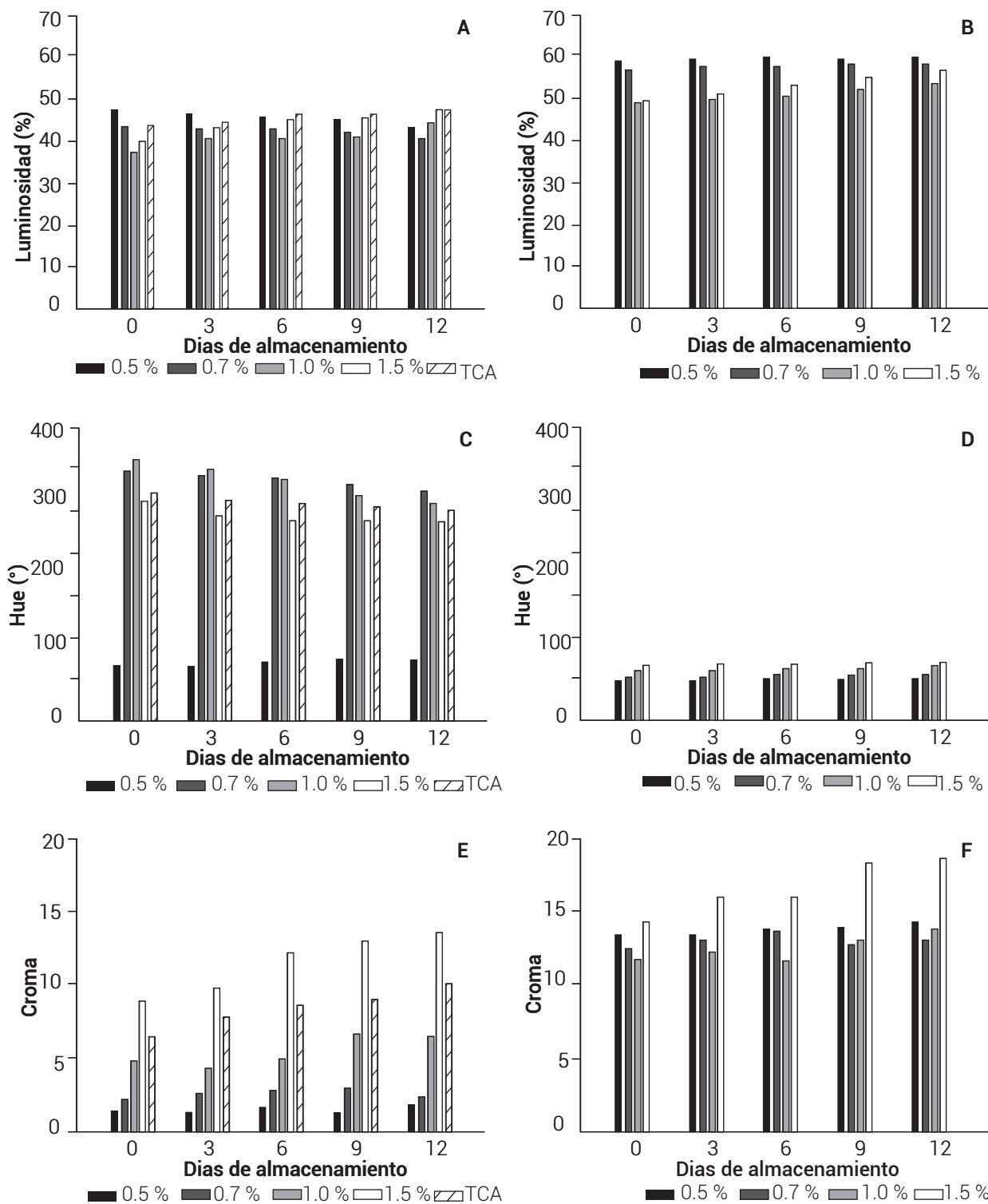


Figura 5. Variables de color en las tortillas de los maíces de grano AZM (A, C y E) y RC (B, D y F) con diferentes dosis de alcalí durante su almacenamiento bajo condiciones de refrigeración.

- nixtamalization conditions influence the magnitude of change in the nutrients and bioactive components of cereals and legumes. *Food Science and Nutrition* 8:1753-1765, <https://doi.org/10.1002/fsn3.1473>
- Marçó P. H., R. J. Poppi, I. S. Scarminio and R. Tauler (2011) Investigation of the pH effect and UV radiation on kinetic degradation of anthocyanin mixtures extracted from *Hibiscus acetosella*. *Food Chemistry* 125:1020-1027, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.005>
- Montgomery D. C. (2014) *Diseño y Análisis de Experimentos*. Vol. 2. Limusa-Wiley. México D. F. 692 p.
- Pappa M. R., P. Palacios P. and R. Bressani (2010) Effect of lime and wood ash on the nixtamalization of maize and tortilla chemical and nutritional characteristics. *Plant Foods for Human Nutrition* 65:130-135, <https://doi.org/10.1007/s11130-010-0162-8>
- Poljsak B., V. Kovač and I. Milisav (2021) Antioxidants, food processing and health. *Antioxidants* 10:433, <https://doi.org/10.3390/antiox10030433>
- Ramírez-García O., Y. Salinas-Moreno, A. Santillán-Fernández and M. T. Sumaya-Martínez (2022) Screening antioxidant capacity of Mexican maize (*Zea mays* L.) landraces with colored grain using ABTS, DPPH and FRAP methods. *Cereal Research Communication* 50:1075-1083, <https://doi.org/10.1007/s42976-021-00221-6>
- Rashmi H. B. and P. S. Negi (2020) Phenolic acids from vegetables: a review on processing stability and health benefits. *Food Research International* 136:109298, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109298>
- Re R., N. Pellegrini, A. P. Proteggente, M. Yang and C. Rice-Evans (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26:1231-1237, [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Sadilova E., F. C. Stintzing and R. Carle (2006) Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins. *Food Chemical Toxicology* 71:C504-C512, <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00148.x>
- Salinas M. Y., G. Salas S., D. Rubio H. and N. Ramos L. (2005) Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *Journal of Chromatographic Science* 43:483-487, <https://doi.org/10.1093/chromsci/43.9.483>
- Salinas M. Y. y G. Vázquez C. (2006) Metodologías de análisis de la calidad nixtamalera-tortillera en maíz. Folleto Técnico No. 23. Campo Experimental Valle de México, INIFAP. Chapingo Estado de México, México. 91 p.
- Salinas M. Y., M. R. Jaime F., J. L. Díaz-Ramírez and I. Alemán T. (2017) Factors influencing anthocyanin loss during nixtamalization of blue purple maize grain. *Journal of Food Science and Technology* 54:4493-4500, <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2932-x>
- Salinas M. Y., M. Soto H., F. Martínez B., V. González H. y R. Ortega P. (1999) Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 22:161-174.
- Salinas-Moreno Y., C. García-Salinas, J. L. Ramírez-Díaz and I. Alemán-de la Torre (2017) Phenolic compounds in maize grains and its nixtamalized products. In: *Phenolic Compounds - Natural Sources, Importance and Applications*. M. Soto-Hernandez, M. Palma-Tenango and M. R. García-Mateos (eds.). IntechOpen. London, UK. pp:215-232, <https://doi.org/10.5772/66893>
- Salinas-Moreno Y., F. Martínez-Bustos, M. Soto-Hernández, R. Ortega-Paczka and J. L. Arellano-Vázquez (2003) Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia* 6:615-628.
- Salinas-Moreno Y., J. L. Ramírez D., I. Alemán T., E. Bautista-Ramírez y A. Ledesma M. (2021) Evaluación de dos procedimientos de medición de color en granos de maíces pigmentados. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 12:1297-1303, <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i7.2276>
- Sefa-Dedeh S., B. Cornelius, E. Sakyi-Dawson and E. O. Afoakwa (2004) Effect of nixtamalization on the chemical and functional properties of maize. *Food Chemistry* 86:317-324, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.033>
- Singleton V. L. and J. A. Rossi (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144-158, <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Spence C. (2015) On the psychological impact of food colour. *Flavour* 4:21, <https://doi.org/10.1186/s13411-015-0031-3>
- Teribia N., C. Buve, D. Bonerz, J. Aschoff, P. Goos, M. Hendrickx and A. Van Loey (2021) Impact of processing and storage conditions on color stability of strawberry puree originated from different cultivars. *LWT, Food Science and Technology* 145:111270, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111270>
- Torskangerpoll K. and Ø. M. Andersen (2005) Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. *Food Chemistry* 89:427-440, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.002>
- Uriarte-Aceves P. M., E. O. Cuevas-Rodríguez, R. Gutiérrez-Dorado, S. Mora-Rochín, C. Reyes-Moreno, S. Puangpraphant and J. Milán-Carrillo (2015) Physical, compositional, and wet-milling characteristics of Mexican blue maize (*Zea mays* L.) landrace. *Cereal Chemistry* 92:491-496, <https://doi.org/10.1094/CCHEM-01-15-0001-R>