



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

**EFFECTO DE LA FERMENTACIÓN LÁCTICA OPTIMIZADA
SOBRE LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE
SOCA DE MAÍZ (*Zea mays* L.)**

Por:

Octavio Valdez Baro

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA PRODUCTOS
AGRÍCOLAS DE ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

Como requisito para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

APROBACIÓN

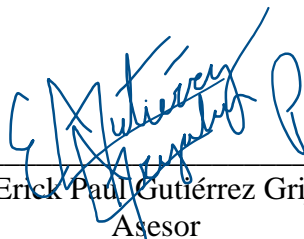
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Octavio Valdez Baro la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



Dr. José Basilio Heredia
Director de Tesis



Dr. Ramón Ignacio Castillo López
Co-director de Tesis



Dr. Erick Paul Gutiérrez Grijalva
Asesor



MC. Laura Aracely Contreras Angulo
Asesora

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Efecto de la Fermentación Láctica Optimizada sobre la Extracción de Compuestos Bioactivos de Soca de Maíz (*Zea mays* L.)” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor Octavio Valdez Baro, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

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



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

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Pablo Wong González", written over a horizontal line.

Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo prestado durante el posgrado.

A Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (CIAD, A. C.) por darme la oportunidad de ser formado en su institución.

Al Dr. José Basilio Heredia por darme la oportunidad de ser su estudiante y apoyarme en toda mi formación profesional, además de confiar en mí en todo momento y no dudar que puedo afrontar esta investigación.

Al Dr. Ramón Ignacio Castillo López por afrontar el reto de ser parte de mi dirección de tesis y servir como guía.

A la MC. Laura A. Contreras Angulo por estar siempre a disposición de los conocimientos técnicos y científicos que necesité, además de guiarme y aconsejarme en todo momento.

Al Dr. Erick P. Gutiérrez Grijalva por su apoyo y seguimiento tanto en la realización de esta tesis como en la escritura de la misma.

Al Dr. Luis Ángel Cabanillas Bojórquez por su apoyo a pesar de no ser parte de mi comité, sirviendo sobre todo como ejemplo a seguir y un amigo en el que se puede confiar incondicionalmente.

A mis padres por siempre estar apoyándome incondicionalmente, dándome palabras de aliento y consejos para nunca rendirme y ser mejor persona y profesionista.

A mi esposa por estar presente en cada momento, ayudándome, aconsejándome, motivándome y, sobre todo, siempre creer que saldré adelante y que puedo dar más para ser cada vez mejor.

A todos los técnicos, investigadores y compañeros de laboratorio donde me tocó realizar algún experimento. Les agradezco por su tiempo en capacitarme, ayudarme con los experimentos y brindarme sus conocimientos y experiencia.

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
CONTENIDO	5
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE CUADROS	8
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUCCIÓN	11
2. ANTECEDENTES	13
2.1 Maíz	13
2.2 Soca de Maíz	13
2.2.1 Aplicación.....	14
2.3 Compuestos Bioactivos de Soca de Maíz.....	15
2.3.1 Compuestos Fenólicos	15
2.3.2 Saponinas	16
2.3.3 Alcaloides	17
2.4. Métodos de Extracción de Compuestos Bioactivos de Soca de Maíz.....	18
2.4.1 Métodos Convencionales	18
2.4.2 Método Ácido	19
2.4.3 Método Alcalino	20
2.4.4 Extracción por Fermentación.....	21
2.4.4.1 <i>Lactobacillus plantarum</i>	22
2.4.4.2 Fermentación con <i>L. plantarum</i> de soca de maíz.....	23
3. HIPÓTESIS	25
4. OBJETIVOS	26
4.1. Objetivo General.....	26
4.2. Objetivos Específicos	26
5. MATERIALES Y MÉTODOS	27
5.1 Materia Prima	27
5.2 Reactivos Químicos	27
5.3 Inoculación del Microorganismo y Fermentación	27
5.4 Tratamientos Control.....	28
5.5 Tratamiento Post-extracción	28
5.6 Extracción de Compuestos Fenólicos Ligados	29
5.7 Análisis Fitoquímicos y de Antioxidantes.....	29
5.7.1 Determinación de Saponinas Totales.....	29

CONTENIDO (continuación)

5.7.2 Determinación de Alcaloides Totales	30
5.7.3 Determinación de Capacidad Reductora Total	30
5.7.4 Determinación de Flavonoides Totales.....	31
5.7.5 Perfil de Ácidos Fenólicos y Flavonoides	31
5.7.6 Determinación de Actividad Antioxidante por el Método TEAC	32
5.7.7 Determinación de la Actividad Antioxidante por el Método ORAC.....	32
5.7.8 Determinación de la Actividad Antioxidante por el Método DPPH	33
5.7.9 Determinación de Actividad Antioxidante por el Método FRAP.....	33
5.8 Optimización	34
5.9 Análisis Estadístico	34
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
6.1 Optimización de Fermentación Láctica de Soca de Maíz	35
6.1.1 Capacidad Antioxidante ABTS	36
6.1.2. Capacidad Antioxidante ORAC.....	41
6.2 Optimización	46
6.3 Análisis Nutracéuticos de Extractos de Soca de Maíz	48
6.3.1 Saponinas Totales	49
6.3.2 Alcaloides Totales.....	50
6.3.3 Flavonoides Totales	51
6.3.3.1 Flavonoides totales libres.....	51
6.3.3.2 Flavonoides totales ligados	52
6.3.4 Capacidad Reductora Total.....	53
6.3.4.1 Capacidad reductora total libres.....	54
6.3.4.2 Capacidad reductora total ligados	55
6.3.5 Perfil de Ácidos Fenólicos	56
6.3.5.1 Perfil de ácidos fenólicos libres	56
6.3.5.2 Perfil de ácidos fenólicos ligados.....	58
6.3.6 Perfil de Flavonoides	59
6.3.6.1 Perfil de flavonoides libres	59
6.3.6.2 Perfil de flavonoides ligados.....	61
6.3.7 Capacidad Antioxidante.....	63
6.3.7.1 Capacidad antioxidante libres	63
6.3.7.2 Capacidad antioxidante ligados	65
7. CONCLUSIONES.....	67
8. RECOMENDACIONES.....	68
9. REFERENCIAS	69

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Gráficos de contorno que muestran el efecto de las variables tiempo vs temperatura (a), tiempo vs relación sólido/líquido (b) y relación sólido/líquido vs temperatura (c) sobre la variable de respuesta ABTS.....	39
2	Gráficos de superficie que muestran el efecto de las variables tiempo vs temperatura (a), tiempo vs relación sólido/líquido (b) y relación sólido/líquido vs temperatura (c) sobre la variable de respuesta ABTS.....	40
3	Gráficos de contorno que muestran el efecto de las variables tiempo vs temperatura (a), tiempo vs relación sólido/líquido (b) y relación sólido/líquido vs temperatura (c) sobre la variable de respuesta ORAC.....	44
4	Gráficos de superficie que muestran el efecto de las variables tiempo vs temperatura (a), tiempo vs relación sólido/líquido (b) y relación sólido/líquido vs temperatura (c) sobre la variable de respuesta ORAC.....	45
5	Gráfico mostrando la región con la mejor combinación de variables del proceso para maximizar las capacidades antioxidantes (ORAC y ABTS).....	47

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Diseño experimental (central compuesto rotatable de la metodología de superficie de respuesta) para la fermentación láctica de soca de maíz	36
2	Análisis de varianza para la variable ABTS	37
3	Análisis de varianza para la variable ORAC.....	42
4	Reporte de confirmación de fermentación láctica optimizada.....	48
5	Contenido de saponinas totales de extractos de soca de maíz	50
6	Contenido de alcaloides totales de extractos de soca de maíz	50
7	Contenido de flavonoides totales libres de extractos de soca de maíz.....	52
8	Contenido de flavonoides totales ligados de extractos de soca de maíz.....	53
9	Capacidad reductora total libres de extractos de soca de maíz	54
10	Capacidad reductora total ligados de extractos de soca de maíz	55
11	Perfil de ácidos fenólicos libres en extractos de soca de maíz.....	58
12	Perfil de ácidos fenólicos ligados en extractos de soca de maíz.....	59
13	Perfil de flavonoides libres en extractos de soca de maíz.....	61
14	Perfil de flavonoides ligados en extractos de soca de maíz	62
15	Capacidad antioxidante libres de extractos de soca de maíz.....	65
16	Capacidad antioxidante ligados de extractos de soca de maíz.....	66

RESUMEN

El maíz es de los cereales más importantes y producidos tanto en México y el resto del mundo. Las altas producciones de granos de maíz generan gran cantidad de biomasa denominada soca, la cual no suele ser aprovechada; aunado a ello su mal manejo puede llegar a ser una problemática ambiental. En la actualidad, se buscan alternativas para la valorización de estos subproductos, donde una de ellas es la obtención de compuestos bioactivos de la soca. En estudios previos se ha demostrado que la soca contiene fitoquímicos como compuestos fenólicos, saponinas, alcaloides, entre otros, los cuales muestran potencial antioxidante y funcionalidad biológica. La principal forma de extraer estos compuestos bioactivos de la soca es por medio de solventes orgánicos, los cuales generan residuos con impacto ambiental. Otras alternativas es la extracción biológica, empleando bioprocesos como la fermentación o la hidrólisis enzimática, donde dichas extracciones no presentan un problema ambiental. Entre los tipos de fermentación para la extracción de compuestos bioactivos, la fermentación láctica es una de las más utilizadas por todas las ventajas que esta presenta, donde uno de los microorganismos más utilizados y representativos es *Lactobacillus plantarum*. El objetivo de esta investigación fue determinar el potencial de la fermentación láctica optimizada sobre la extracción de compuestos bioactivos de soca de maíz (*Zea mays* L.). Las condiciones óptimas que maximizaron la capacidad antioxidante fueron: 33.58 h, 9.5 mg/mL y 28.6 °C. El tratamiento fermentado obtuvo mejores resultados en los valores de compuestos ligados (capacidad reductora total, flavonoides totales y capacidad antioxidante) y menores en los compuestos libres (alcaloides totales, saponinas totales, capacidad reductora total y flavonoides totales). Los principales ácidos fenólicos obtenidos de la fermentación fueron: ácido ferúlico, cumárico, gálico, quínico y clorogénico. Los flavonoides más abundantes en el extracto fermentado fueron: quercetina, apigenina, apigenina-8-O-glucósido, hesperidina, genistéina y naringenina. La fermentación ayuda a la liberación de compuestos hidrofílicos como ácidos fenólicos, flavonoides; así mismo, saponinas, alcaloides y flavonoides glicosilados pueden estar sufriendo una biotransformación por la acción metabólica de *L. plantarum*, lo que podría estar formando otras moléculas principalmente agliconas que aumentan la capacidad antioxidante.

Palabras clave: Soca de maíz, optimización, fermentación, *L. plantarum*, compuestos bioactivos.

ABSTRACT

Corn is one of the most important cereals produced in Mexico and in the rest of the world. The high production of corn grains generates a large amount of biomass called corn stover that is not commonly used and, in some cases, mishandling causing an environmental problem. Research projects are in process to develop new methods to get value-added products from corn stover, like the extraction of bioactive compounds. Previous studies have shown that corn stover has phytochemicals such as phenolic compounds, saponins, alkaloids, among others, which show antioxidant potential and biological functionality. The conventional way of extracting the bioactive compounds from this biomass is through organic solvents, that may cause a negative environmental impact due to chemical residues. Other alternatives are biological extraction, using bioprocesses such as fermentation or enzymatic hydrolysis that do not represent an environmental hazard. Among the many types of fermentation for the extraction of bioactive compounds, lactic fermentation is one of the most used for all the advantages it presents, where one of the most used and representative microorganisms is *Lactobacillus plantarum*. In this research, we aimed to determine the potential of optimized lactic fermentation for the extraction of bioactive compounds from corn stover (*Zea mays* L.). The optimal conditions that maximized the antioxidant capacity were 33.58 h, 9.5 mg/mL and 28.6 °C. The fermented treatment was superior in obtaining all analyzes of bound compounds (total reducing capacity, total flavonoids, and antioxidant capacity) and lower in obtaining total alkaloids, total saponins, total reducing capacity, and total flavonoids. The main phenolic acids favored by fermentation were ferulic, coumaric, gallic, quinic and chlorogenic acid. The most abundant flavonoids in the fermented extract were quercetin, apigenin, apigenin-8-O glycoside, hesperidin, genistein and naringenin. The fermentation helps the release of hydrophilic compounds such as phenolic acids, flavonoids. Likewise, saponins, alkaloids and glycosylated flavonoids may be affecting a biotransformation due to the metabolic action of *L. plantarum*, which leads to the formation of other molecules, mainly aglycones, that increase antioxidant capacity.

Keywords: Corn stover, optimization, fermentation, *L. plantarum*, bioactive compounds.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años el consumo y producción de maíz ha aumentado significativamente, siendo uno de los cereales con mayor demanda productiva tanto a nivel mundial como a nivel nacional y estatal (SIAP, 2022; USDA, 2022).

El aprovechamiento del maíz se enfoca más en la utilización del grano, dejando de lado a la biomasa o soca residual de la cosecha. Por lo tanto, debido a que el maíz es uno de los cultivos más productivos en todo el mundo, genera una gran cantidad de biomasa o soca (Li *et al.*, 2014). Esta biomasa puede ser utilizada como alimento para ganado, el resto que queda en campo puede ser reincorporada al suelo, con la finalidad de mantener su productividad (Li *et al.*, 2014; Ruan *et al.*, 2019). A pesar de estos usos, algunos productores llevan a cabo prácticas inadecuadas para la disposición de esta biomasa, como la incineración o arrojándola a cuerpos de agua. Estas prácticas no solo le restan el posible valor si se aprovechara, también ocasiona una gran contaminación de aire y a los cuerpos de agua (Pang *et al.*, 2008).

La soca de maíz está compuesta por un material lignocelulósico, compuesto por lignina y carbohidratos como la celulosa y hemicelulosa (Ruan *et al.*, 2019). La utilidad de esta soca se enfoca en el aprovechamiento de estos carbohidratos, ya sea en incorporación a la dieta de rumiantes, producción de biocombustibles, entre otros productos fermentados. Sin embargo, el hecho de que estos carbohidratos estén enlazados químicamente a los compuestos bioactivos, los hace menos aprovechables, por lo que se tiene que encontrar primero una separación adecuada de los compuestos bioactivos de los carbohidratos (Ruan *et al.*, 2019).

A pesar de los múltiples reportes que indican que los fitoquímicos presentes en la soca de maíz tienen potencial bioactivo, los esfuerzos actuales a nivel industrial no se enfocan en el aprovechamiento de estos compuestos bioactivos, lo que conlleva a no tomarles importancia y dejar de lado estos compuestos, ya que entorpece el aprovechamiento de los carbohidratos (Pang *et al.*, 2008; Ruan *et al.*, 2019).

Dentro de los métodos de extracción tenemos a los convencionales y no convencionales o emergentes para la obtención de los compuestos bioactivos. Los métodos convencionales utilizan solventes orgánicos para la extracción de compuestos bioactivos de las matrices vegetales, sin embargo, el uso de estos solventes podría generar residualidad y ser tóxicos para los seres vivos,

además de contaminar el medio ambiente. Es por esto que el uso de métodos no convencionales, ha tomado interés en los últimos años, ya que una de sus ventajas es que no presentan impacto tóxico (Joshi y Adhikari, 2019).

Las extracciones de compuestos bioactivos por bioprocesos (método no convencional) presenta cada vez más interés, ya que son extracciones que no generan residuos tóxicos, son de bajo costo operativo y presentan una alta aplicabilidad, ya sea en formulaciones de extractos para plantas, incorporación en la dieta animal y formulación de alimentos funcionales con beneficio en la salud humana (Weinberg y Szakacs, 2016; Weinberg y Szakacs, 2018).

Dentro de los bioprocesos, las fermentaciones con microorganismos ácido lácticos han demostrado sintetizar las enzimas necesarias para facilitar la extracción de compuestos bioactivos de soca de maíz. *Lactobacillus plantarum* es uno de los microorganismos más utilizados para la extracción de compuestos bioactivos, esto debido a que produce una serie de enzimas como peptidasas, lipasas, amilasas, ferulasas, tanasas, carotenoides sintasas, β -glucosidasas, entre otras que facilitan la liberación de compuestos bioactivos, además de sintetizar otros compuestos con potencial antioxidante (Ayed y Hamdi, 2002; Choi *et al.*, 2020; Knockaert *et al.*, 2012; Kuppusamy y Vasantha Kumar, 2015).

Por lo anterior, el objetivo del presente proyecto es obtener las mejores condiciones de proceso para la extracción de compuestos bioactivos de soca de maíz por fermentación láctica. Donde se espera que dicha fermentación sea efectiva en la liberación de compuestos bioactivos de la matriz de la soca de maíz, lo que facilita su extracción, cuantificación y aprovechamiento.

Se utilizó la metodología de superficie de respuesta mediante el empleo de un diseño central compuesto rotatable, donde las variables de proceso son, el tiempo de fermentación, relación sólido/líquido y temperatura, mientras que las variables de respuesta son la capacidad antioxidante ORAC y ABTS.

2. ANTECEDENTES

2.1 Maíz

El maíz es un cereal que consiste en más del 50 % o superior de granos enteros dentados sin cáscara, cuyo nombre científico es *Zea mays* L. (USDA, 2022). Se divide dentro de 3 categorías basadas en su color, siendo el blanco, amarillo y las mezclas de color o criollos, de los cuales el más comercializado a nivel mundial es el amarillo (USDA, 2022). La producción mundial de maíz fue de 1,216,070,000 de toneladas en el año 2021, con un área de cultivo de 206.47 millones de hectáreas y un rendimiento de 5.89 toneladas/hectárea; siendo Estados Unidos el mayor productor (USDA, 2022).

México se posiciona en 7^{to} lugar a nivel mundial, con una producción de 27,550,000 toneladas en el año 2021, con un área de cultivo de 7.10 millones de hectáreas y un rendimiento de 3.88 toneladas/hectárea (USDA, 2022). El estado de Sinaloa es el mayor productor nacional, con una producción de 5,648,240 toneladas, aportando un 20.38 % de la producción nacional, con un área de cultivo de 804,442.28 hectáreas y un rendimiento de 7.02 toneladas/hectárea; lo que permite al estado de Sinaloa ser más eficiente que la media tanto en la producción mundial como nacional (SIAP, 2022).

Dentro de los maíces comerciales, el maíz híbrido blanco y amarillo son los de mayor importancia económica, ya que los maíces criollos son de poca producción comercial en comparación con los híbridos y no suelen estar registrados en las bases de datos públicas. En México, el maíz híbrido blanco aporta el 89.3 % de la producción nacional total, dejando al maíz amarillo con un aproximado de 10.7 % (SIAP, 2022).

2.2 Soca de Maíz

La soca de maíz es la mezcla de los subproductos que quedan de la cosecha de maíz, cuyos

componentes son los tallos, hojas, cáscaras, olote y espiga. Su composición química esta principalmente formada por 35 % de celulosa, 20 % de hemicelulosa y 12 % de lignina y otros compuestos bioactivos (Ruan *et al.*, 2019).

La producción de soca de maíz es aproximadamente la mitad de peso de la parte aérea de la planta de maíz, por lo cual, en base a la producción de maíz en el mundo, se genera un aproximando de mil millones de toneladas de soca de maíz seca, con una relación de 1 kg seco de soca de maíz/kg seco de grano de maíz (Li *et al.*, 2014).

2.2.1 Aplicación

La soca de maíz generada por los agricultores, por lo general, más de la mitad de esta biomasa no es aprovechada, con lo que buscan eliminar la soca, ya que les representa un subproducto innecesario. Las prácticas más comunes para eliminar la soca son incinerarla y tirarlas a cuerpos de agua, lo que conlleva a un serio problema ambiental (Pang *et al.*, 2008). Después de la cosecha de maíz, una gran parte de soca de maíz se reincorpora al suelo, con el fin de mantener la productividad del mismo (Coulter, 2009). Una de las aplicaciones más comunes de la soca de maíz es la incorporación a la alimentación de los rumiantes (Li *et al.*, 2014).

En base a la composición química de la soca de maíz, sus aplicaciones se pueden derivar por el aprovechamiento de carbohidratos o por el lado de la obtención de compuestos bioactivos. El aprovechamiento industrial de la soca de maíz debido a su alto contenido de celulosa y hemicelulosa deriva en la producción de biocombustibles como el etanol de segunda generación, biogás y bioaceites, entre otros (Li *et al.*, 2014). Derivado de la hidrólisis de estos carbohidratos, se generan compuestos químicos de alto valor industrial como xilanos, glucanos, furfural, entre otros (Ruan *et al.*, 2019). Una vez hidrolizados los carbohidratos, no solo se pueden fermentar para la producción de biocombustibles, sino también para la producción de otros productos químicos como ácidos orgánicos de cadena corta como láctico, málico, succínico, acético, propiónico, levúlico, además de sustancias como xilitol, dioles, y producción de enzimas como celulasas y xilanasas (Ruan *et al.*, 2019).

Dejando de lado los carbohidratos, lignina tiene un amplio potencial debido a sus compuestos

bioactivos como los compuestos fenólicos. Estos compuestos bioactivos de lignina tienen una amplia aplicación como fuente de antioxidantes naturales (Vazquez-Olivo *et al.*, 2019).

2.3 Compuestos Bioactivos de Soca de Maíz

Los compuestos bioactivos de soca de maíz son moléculas que no forman parte del metabolismo primario, sino del metabolismo secundario, donde las funciones principales son proteger de los depredadores o patógenos y las condiciones ambientales extremas. Dentro de todos los compuestos bioactivos presentes en la soca, los compuestos hidrofílicos como los compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, lignina), saponinas, alcaloides, son los que están presentes en mayor abundancia, por lo cual, son de mayor interés. Estos compuestos están distribuidos en todo el material vegetal, sin embargo, en cada parte de la soca se concentra un tipo específico de compuestos, donde dichos compuestos pueden estar libres o ligados (Nawaz *et al.*, 2018).

Los compuestos bioactivos libres son aquellos que están disueltos en el citoplasma y almacenados comúnmente en la vacuola celular; donde estos grupos pueden ser compuestos fenólicos, saponinas, alcaloides, entre otros, los cuales pueden ser solubilizados con métodos convencionales mediante el empleo de un disolvente acorde a su solubilidad. Los compuestos ligados son principalmente de naturaleza fenólica, donde dichos compuestos son insolubles con métodos convencionales, esto debido a la fuerte interacción molecular que estos compuestos tienen con los carbohidratos que forman la pared celular como la celulosa y hemicelulosa; donde dichos compuestos ligados principalmente son ácidos fenólicos e hidroxicinámicos, flavonoides, taninos y lignina (Rispaill *et al.*, 2005).

2.3.1 Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos son todas aquellas moléculas donde en su estructura poseen un grupo fenol o hidroxibenceno. Estas moléculas están presentes en todo el reino vegetal, ya que forman

parte importante de las funciones biológicas como protección contra depredadores y patógenos, atraer polinizadores, señalizadores y como antioxidante (Rojas y Buitrago, 2019). Los compuestos fenólicos pueden ser clasificados por su estructura, donde los principales grupos de compuestos fenólicos son ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, chalconas, xantonas, lignanos, taninos, entre otros (Vuolo *et al.*, 2019).

Vázquez-Olivo *et al.* (2019) determinó que los compuestos fenólicos más abundantes en las distintas partes de la soca de maíz son los compuestos fenólicos ligados, donde la cáscara representa el mayor contenido de compuestos ligados con $1,276.49 \pm 221.91$ mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de peso seco y en los compuestos fenólicos libres la raíz y el tallo son los más abundantes con 490.82 ± 60.70 mg EAG/100 g DW. Entre los compuestos fenólicos más abundantes y representativos de la soca de maíz son el ácido *p*-cumárico y ferúlico, los cuales, principalmente están entrelazados en la pared celular. Por su parte, Galeana-López *et al.* (2020) evaluaron los compuestos fenólicos en hoja de maíz tanto libres como ligados, donde los compuestos fenólicos libres fueron 171.33 ± 7.33 mg GAE/100 g DW y los compuestos fenólicos ligados fueron $1,837.37 \pm 136.64$ mg GAE/100 g DW, lo cual demuestra que los compuestos fenólicos ligados son hasta 10 veces mayores que en la fracción ligada. Esta diferencia en la cantidad de compuestos libres y ligados se debe a un aumento en los compuestos ligados de más de 100 veces en la cantidad de ácido ferúlico, más de 700 veces en ácido *p*-cumárico y más de 70 veces en ácido *p*-hidroxibenzoico. Por último, Torre *et al.* (2008) obtuvieron compuestos fenólicos ligados de olote de maíz, en el que también determinaron que los compuestos fenólicos más abundantes son los ácidos fenólicos, en particular el ácido ferúlico y *p*-cumárico.

2.3.2. Saponinas

Las saponinas son un grupo de fitoquímicos de la familia de los glucósidos anfipáticos, donde presentan una estructura con una parte apolar compuesta por un triterpeno y una parte polar compuesta por un glucósido. Por su amplia diversidad en su estructura, ya sea en el tipo de glucósido y triterpeno, las saponinas presentan una gran cantidad de propiedades bioactivas principalmente en la protección de la planta contra agentes externos como los depredadores, plagas,

bacterias, hongos, entre otros agentes causantes de daño biótico (Yang *et al.*, 2021; Zaynab *et al.*, 2021).

Emmanuel *et al.* (2016) evaluaron mediante un tamizaje fitoquímico que la seda de maíz presenta cantidades considerables de saponinas, las cuales pueden llegar a tener un potencial antimicrobiano. Similar lo encontrado por Sabiu *et al.* (2016), donde por medio de un tamizaje fitoquímico a un extracto de seda de maíz encontraron la presencia de saponinas, las cuales contribuyen a un efecto hipoglicemiante. Así mismo, Ahmed (2018) determinaron mediante tamizaje fitoquímico que hay presencia de saponinas, esta vez en el brote de maíz, sin embargo, no hubo presencia en la raíz de maíz, lo que en la determinación de la soca en la parte no área es difícil encontrar una gran cantidad de saponinas. Por último, Owoyele *et al.* (2010) demostró por tamizaje fitoquímico que no hay presencia de saponinas en extractos de hoja de maíz. Esto nos indica que en la soca completa algunas partes aportan más contenido de saponinas que otras.

2.3.3. Alcaloides

Los alcaloides son un grupo de fitoquímicos cuya característica distintiva al resto es la presencia de uno o más grupos nitrogenados que forman parte del metabolismo secundario de las plantas. Una de las principales funciones de los alcaloides en el reino vegetal es la de proporcionar una respuesta para la defensa de la planta contra factores tanto bióticos como abióticos para el buen funcionamiento del metabolismo de la planta (Roberts *et al.*, 2010; Thippeswamy *et al.*, 2021).

Emmanuel *et al.* (2016) determinaron que el extracto de seda de maíz presenta alcaloides, esto determinado mediante tamizaje fitoquímico, los cuales se pueden ser bioactivos contra bacterias patógenas, lo que podría representar un potencial antimicrobiano. De manera similar, Sabiu *et al.* (2016), encontraron por medio de tamizaje fitoquímico en un extracto de seda de maíz la presencia de alcaloides, las cuales, en combinación con otros fitoquímicos podrían tener un efecto antidiabético. Así mismo, Owoyele *et al.* (2010) identificaron por tamizaje fitoquímico que el extracto de hoja de maíz no presenta alcaloides. Lo que determina que no todas las partes de la soca de maíz necesita la síntesis de alcaloides, todo esto en base a las necesidades fisiológicas y metabólicas de cada parte de la planta. Por último, Ahmed (2018) evaluaron mediante tamizaje

fitoquímico que hay presencia de alcaloides tanto en la raíz como en el brote de maíz, lo que podría demostrar que en la parte no área de la soca de maíz es una zona donde los alcaloides son sintetizados por sus funcionalidades.

2.4 Métodos de Extracción de Compuestos Bioactivos de Soca de Maíz

Existen diferentes tipos de extracción en base a múltiples factores que afectan la efectividad y tipo de compuestos bioactivos a obtener. En la soca de maíz, los principales tipos de compuestos presentes son de naturaleza hidrofílica como los compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, lignina, taninos), saponinas, alcaloides, entre otros (Lam *et al.*, 2015; Nawaz *et al.*, 2018). La elección del método de extracción también depende de la accesibilidad de los compuestos bioactivos, siendo los que se encuentran en forma libres los más fáciles de extraer mediante métodos convencionales como la maceración con solventes y los compuestos bioactivos localizados en forma ligada requieren métodos más agresivos como ácidos, alcalinos, hidrólisis enzimática o fermentaciones que liberen estos compuestos bioactivos de la red polimérica lignocelulósica de la soca (Nawaz *et al.*, 2018).

2.4.1 Métodos Convencionales

Los métodos convencionales consisten en la extracción de compuestos bioactivos tanto en la interacción líquido/líquido o sólido/líquido. Dichas extracciones suelen ser eficientes en cuestión de rendimiento, sin embargo, no garantizan la seguridad del extracto final ni la selectividad de ciertos metabolitos, lo que puede aumentar los costos de purificación y posibles trazas de solventes orgánicos tóxicos como hexano, diclorometano, cloroformo, metanol, entre otros (Cruz-Casillas *et al.*, 2021).

Vázquez-Olivo *et al.* (2019) obtuvieron compuestos fenólicos de soca de maíz mediante la utilización de maceración con etanol al 80 %, con una relación sólido/líquido de 50 mg/mL, durante

2 h, con una agitación de 200 rpm y a temperatura ambiente de 25 °C. Por su parte, Jung *et al.* (2014) extrajeron compuestos fenólicos y flavonoides de tallos de maíz empleando maceración con metanol al 80 %, con una relación sólido/líquido de 100 mg/mL, durante 24 h y a una temperatura ambiente de 25 °C. Así mismo, Emmanuel *et al.* (2016) obtuvieron compuestos bioactivos de seda de maíz utilizando maceración con metanol, con distintas relaciones sólido/líquido, durante 3 d y sin agitación. Resultados similares lo obtuvieron Yang y Zhai (2010), al extraer flavonoides de olote de maíz morado mediante maceración con metanol, con una relación sólido/líquido de 250 mg/mL, durante 24 h, sin agitación, bajo oscuridad y a temperatura de 4 °C. Por su parte, El-Ghorab *et al.* (2007) obtuvieron compuestos volátiles de seda de maíz mediante el método de hidrodestilación, con una relación sólido/líquido de 200 mg/mL de agua destilada, durante 4 h, seguido de una extracción líquido/líquido con diclorometano, en un extractor continuo líquido-líquido durante 6 h. De igual forma, Khampas *et al.* (2015) extrajeron antocianinas de olote de maíz morado ceroso por maceración con metanol acidificado con 1 % de ácido cítrico 1 M, con una relación sólido/líquido de 20 mg/mL, durante 24 h y una temperatura de 4 °C. Por último, Masciangelo (2013) obtuvieron compuestos bioactivos de distintas variedades de maíz con extracción por maceración con metanol, con una relación sólido/líquido de 10 mg/mL, durante 2 h, a una temperatura ambiente y en ausencia de luz.

2.4.2 Método Ácido

El método ácido o hidrólisis ácida consiste en la utilización de un ácido inorgánico de alto poder hidrolizante, que es capaz de convertir las grandes macromoléculas como las de la pared celular (celulosa, hemicelulosa, lignina) en monómeros de dichas macromoléculas (glúcidos, ácidos fenólicos). Una vez hidrolizado, se extraen los compuestos bioactivos derivados de estas moléculas como los compuestos fenólicos o liberar los que permanecían de manera ligada a la pared celular (Fuadi *et al.*, 2018).

Min *et al.* (2018) optimizaron las condiciones de extracción ácida asistida por microondas de soca de maíz, utilizando metodología de superficie de respuesta, donde los factores fueron concentraciones de ácido sulfúrico de 0 a 1 mol, con tiempos de extracción entre 40 a 240 s.

Mientras que Zhang y Vadlani (2015), lograron extraer lignina de soca de maíz por solubilización de carbohidratos, agregando a 300 mg de soca en polvo 3 mL de ácido sulfúrico al 72 % a 30 °C durante 60 min. Con este proceso los carbohidratos se hidrolizaron en glucosa y xilosa, los cuales son filtrados, donde el sólido es lignina. Por su parte, Zevallos Torres *et al.* (2021) obtuvieron compuestos fenólicos de biomasa de palma con ácidos diluidos. Los factores que se utilizaron fueron tipo de ácido (ácido clorhídrico y sulfúrico), concentración de ácido (1.5 y 3.5 %), tiempo (20 y 60 min), a una temperatura de 130 °C, después de la aplicación de los tratamientos la parte líquida se filtró y los sólidos son los que contienen lignina. Así mismo, Coral-Medina *et al.* (2016) lograron purificar sólidos de la soca de palma que contienen ácidos fenólicos mediante un pretratamiento de hidrólisis de carbohidratos con ácido sulfúrico diluido al 1 % a 121 °C por 60 min, al final del tratamiento se filtró la fase líquida con los carbohidratos disueltos y el sólido es el que contiene los fenoles. Por último, Alzagameem *et al.* (2019) extrajeron lignina del licor negro residual de la industria del papel mediante precipitación ácida, donde se agregó ácido sulfúrico y clorhídrico variando parámetros de pH, temperatura y tiempo.

2.4.3 Método Alcalino

El método alcalino o hidrólisis alcalina se encarga de hidrolizar el enlace tipo éster entre los carbohidratos de la pared celular (celulosa y hemicelulosa) y los compuestos bioactivos, liberándolos al medio líquido. Para liberar estos compuestos bioactivos ligados normalmente se utilizan sustancias alcalinas fuertes como NaOH, esto evitando la degradación de compuestos como los fenólicos, que son estables a pH alcalino (Chen *et al.*, 2022).

Mittal *et al.* (2017) lograron obtener lignina de soca de maíz mediante un pretratamiento con amoníaco anhídrido, seguido de un tratamiento con hidróxido de sodio. El pretratamiento se llevó a cabo con una concentración de amoníaco de 3 g/g de soca de maíz seca de 25 a 130 °C durante 60 a 90 min. Seguido del pretratamiento se adicionó hidróxido de sodio en concentraciones de 0.025 a 0.1 M a temperaturas de 25 a 75 °C por 2 h. El líquido es rico en lignina y los sólidos son carbohidratos no solubilizados en condiciones ácidas. Los compuestos fenólicos de carbohidratos de soca de maíz fueron separados utilizando un tratamiento con hidróxido de sodio al 1 % en una

relación sólido/líquido de 1/10 a 90 °C durante 1 h (Geng y Henderson, 2012). El líquido contiene disueltos a los ácidos fenólicos mientras que los sólidos se destinan para otras aplicaciones. De igual forma, Yoo *et al.* (2011) realizaron un tratamiento utilizando amoníaco en soca de maíz, donde el tiempo de tratamiento varió de 1 hasta 168 h a una temperatura de 40 a 120 °C. Después del tratamiento se procedió a una sacarificación y fermentación alcohólica, donde el residuo sólido de la fermentación son compuestos fenólicos. Además, Dong *et al.* (2011), extrajeron lignina de soca de maíz que fue utilizada para obtención de bioetanol. A este residuo se adicionó hidróxido de sodio al 4 % en una relación sólido/solvente de 1:4 a una temperatura de 95 °C durante 120 min. El líquido se acidificó a pH de 3.5, lo cual precipitó a lignina. Por su parte, Guo *et al.* (2018) aplicaron a soca de maíz un tratamiento con amoníaco gaseoso con un flujo de 6.9 L/min durante 30 min. El producto de este tratamiento se sometió a hidrólisis enzimática, donde se solubilizan los carbohidratos y el sólido es rico en lignina, el cual se adicionó 48 mL de hidróxido de sodio al 4 % en una relación de sólido/solvente de 1:4. Por último, Kalinoski *et al.* (2020) extrajeron compuestos fenólicos de soca de maíz utilizando hidróxido de sodio en una relación sólido/líquido de 1:12 a una temperatura de 92 °C durante 2 h. Con este proceso se logró solubilizar a los compuestos fenólicos, separándola de los carbohidratos.

2.4.4 Extracción por Fermentación

Los compuestos fenólicos son extraídos por fermentación de manera indirecta, ya que a nivel industrial la soca de maíz es utilizada con el fin de aprovechar los carbohidratos para obtener bioetanol de segunda generación, dejando como subproducto a los compuestos fenólicos (Chen y col., 2021). A nivel de bioproceso, los esfuerzos por aprovechar los carbohidratos hacen que los compuestos fenólicos entrelazados a estos polisacáridos sea un material no deseado, debido a que su presencia hace menos eficiente el aprovechamiento de los carbohidratos. Normalmente se busca deslignificar el material lignocelulósico, esto con el fin de separar los compuestos fenólicos de los carbohidratos, con la consecuencia que ocurran cambios químicos como oxidación de lignina, lo que provoca un menor aprovechamiento del potencial de estos compuestos fenólicos (Wan y Li, 2010).

Los microorganismos utilizados para extraer compuestos fenólicos de socas son hongos y bacterias, los cuales producen enzimas capaces de separarlos de carbohidratos (Haq *et al.*, 2020). Los principales microorganismos utilizados para la deslignificación del material lignocelulósico son los hongos de la pudrición blanca, los cuales producen enzimas como lacasas, lignina peroxidasas y peroxidasas de manganeso, cuya función es la degradación de lignina (Lundell *et al.*, 2010). Estos microorganismos se reproducen mediante fermentación en estado sólido, donde factores como la humedad, tamaño de partícula, concentración de sustrato, aeración, pH, temperatura y tiempo son las variables de control más determinantes (Reid, 1989; Sun *et al.*, 2011).

2.4.4.1 *Lactobacillus plantarum*. *L. plantarum* es una bacteria perteneciente a la familia *Lactobacillaceae*, la cual pertenece al género *Lactobacillus* de la especie *L. plantarum*. Esta bacteria presenta una serie de características que lo distinguen como ser una bacteria Gram (+), es homofermentativo, produciendo únicamente ácido láctico, fermenta bajo condiciones anaerobias, su rango de pH óptimo es de 4 a 6, necesita un intervalo de temperatura para su actividad fermentativa de 15 a 45 °C, presenta una tolerancia a la sal de hasta un 4 %, entre otras características (Wheater, 1955).

Debido a que está presente en la microbiota de los seres vivos ayudando al metabolismo de compuestos no digeribles por los humanos y animales, este microorganismo es considerado probiótico, metabolizando una gran cantidad de compuestos prebióticos, otorgando todos los beneficios que los probióticos ejercen en la salud humana y animal (Zheng *et al.*, 2020).

El ser considerado probiótico hace que *L. plantarum* tenga una gran aplicabilidad en el consumo de alimentos fermentados por esta bacteria. Mediante múltiples estudios aprobados, es por lo que instituciones legisladoras de alimentación importantes como la FDA aprueban el consumo de alimentos fermentados con este microorganismo, denominándolo como reconocido seguro para el consumo humano o GRAS (FDA, 2019).

L. plantarum es uno de los microorganismos más utilizados para la extracción de compuestos fenólicos, ya que al momento de su reproducción y metabolismo se producen unas enzimas extracelulares que ayuda a la hidrólisis o liberación de compuestos como los ácidos fenólicos y flavonoides. Dichas enzimas son del tipo ferulasas, tanasas, peptidasas, amilasas, lipasas, carotenoides sintasas, β -glucosidasas, entre otras; que cuando entran en contacto con la matriz

alimentaria pueden liberar al medio líquido los compuestos fenólicos, lo que aumenta el potencial bioactivo de estos extractos o alimentos fermentados con esta bacteria (Ayed y Hamdi, 2002; Choi *et al.*, 2020; Knockaert *et al.*, 2012; Kuppusamy y Vasantha Kumar, 2015).

2.4.4.2 Fermentación con *L. plantarum* de soca de maíz. Algunos estudios realizados mediante fermentación con esta bacteria en soca de maíz demuestran sus múltiples efectos benéficos.

Pang *et al.* (2011) aislaron e identificaron el tipo de bacterias ácido lácticas presentes en la soca de maíz, encontrando que *L. plantarum* está presente en un 33.3 % del total de bacterias ácido lácticas en esta soca. Esto indica que este microorganismo es muy compatible con la soca de maíz, por lo que es un primer paso para la decisión de utilizar esta bacteria para la extracción de los compuestos fenólicos de esta soca. De manera similar, Lynch *et al.* (2012) fermentaron soca de maíz con dos especies de *L. plantarum* y con una especie de *L. buchneri*. Las condiciones de fermentación fueron a 15 °C, por 3, 10, 35 y 130 d, y una concentración de inóculo de 1×10^6 UFC/g. En los análisis se encontró que el ensilaje fermentado en menos de 10 d de fermentación con *L. plantarum* reduce la contaminación con otros microorganismos patógenos y mejora las propiedades de conservación a largo plazo, lo cual es debido a la producción de ácido láctico que puede llegar a inhibir a microorganismos ajenos a la microflora natural de la soca de maíz.

Así mismo, Yan *et al.* (2019) fermentaron soca de maíz y raigrás italiano con *L. plantarum*. Las condiciones de fermentación fueron un tiempo de 42 d, una concentración de inóculo de 1×10^5 UFC/g y condiciones anaerobias. Se concluyó que la adición de soca de maíz y *L. plantarum* mejora considerablemente la estabilidad y conservación de este ensilaje. Por su parte, Zhang y Vadlani (2015) hidrolizaron los carbohidratos de soca de maíz con tratamientos químicos para fermentar los azúcares producidos con *L. plantarum* y *L. brevis* bajo una agitación de 100 rpm, 37 °C, pH de 6.5, 5 % (v/v) de inóculo a una concentración de 1×10^9 UFC/mL, tiempo de fermentación de hasta 60 h y condiciones anaerobias. Se determinó que las variables más importantes para una buena fermentación con *L. plantarum* es la concentración del sustrato, temperatura, tiempo y concentración de inóculo.

Por su parte, Xu *et al.* (2017) fermentaron soca de maíz con dos lactobacillus diferentes los cuales fueron *L. plantarum* y *L. buchneri*. Las condiciones de fermentación fueron anaerobias, a un tiempo de 90 d, fermentación en estado sólido, un pH inicial de 5.08 y una concentración de inóculo de

1×10^6 UFC/g. Identificaron más de 316 metabolitos diferentes, donde encontraron que el fermentado con *L. plantarum* libera más compuestos bioactivos como ácido linoleico, ácido ferúlico, ácido hidroxibenzoico, entre otros, estos por encima de lo producido por *L. buchneri*.

Por último, Dordevic *et al.* (2019) fermentaron soca de maíz pretratada con 1 % de ácido sulfúrico en autoclave a 121 °C durante 30 min, enseguida inocularon con el 15 % de *L. plantarum*, a una temperatura de 37 °C y 3 d de fermentación. Transcurrida la fermentación, extrajeron 3 veces con metanol en baño ultrasónico por 15 min por cada extracción en una relación sólido/líquido de 1:20; el sobrenadante se secó con rotavapor y el sólido se resuspendió en agua destilada. Los resultados obtenidos de compuestos fenólicos totales, en la muestra fermentada tuvo un aumento con respecto a la no fermentada de 21.6 %, donde los principales ácidos fenólicos que aumentaron fueron ácido cinámico, ferúlico, cafeico, e hidroxibenzoico. Así mismo en cuanto al contenido de flavonoides totales, la muestra fermentada aumentó en un 45 %, siendo quercetina, rutina y miricetina los flavonoides que aumentaron con respecto a la muestra no fermentada. La capacidad antioxidante por el método DPPH se determinó mediante IC_{50} , dando como resultado que la muestra fermentada necesitó una concentración de hasta 10 veces menor que la no fermentada para inhibir el 50 % del radical DPPH, aumentando considerablemente su capacidad antioxidante. La capacidad antioxidante por el método FRAP dio como resultado que la muestra fermentada aumentó en un 42 % con respecto a la no fermentada. Los aumentos en las capacidades antioxidantes de la muestra fermentada surgen por el aumento en las concentraciones de ácidos fenólicos y flavonoides altamente antioxidantes como los ya mencionados.

3. HIPÓTESIS

1. Los factores de la fermentación de soca de maíz que maximizan la capacidad antioxidante son el tiempo de fermentación, la relación sólido/líquido y la temperatura.
2. Los compuestos bioactivos presentes en la soca de maíz son compuestos fenólicos (ácidos fenólicos y flavonoides), saponinas y alcaloides.
3. El rendimiento de compuestos bioactivos de la soca de maíz fermentada se incrementa tras la liberación de estos compuestos de la matriz compleja lignocelulósica, siendo los compuestos fenólicos los más abundantes.
4. El perfil de compuestos fenólicos de la soca de maíz fermentada son ácidos fenólicos como: ferúlico, cumárico, gálico, quínico y clorogénico; además de flavonoides como: quercetina, luteolina, rutina, naringenina, mangiferina y apigenina.
5. La capacidad antioxidante de la soca de maíz fermentada optimizada (ORAC) es de 0.8 a 1.2 mmol TE/g ES y (ABTS) de 0.25 a 0.35 mmol TE/g ES.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Determinar el potencial antioxidante de compuestos bioactivos de soca de maíz (*Zea mays* L.) obtenidos por fermentación láctica optimizada.

4.2 Objetivos Específicos

1. Optimizar el bioproceso de fermentación láctica para la extracción de compuestos bioactivos de soca de maíz.
2. Evaluar el contenido de compuestos bioactivos libres y ligados (compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas y alcaloides) de la soca de maíz fermentada.
3. Evaluar el perfil cromatográfico (UPLC-MS) de los compuestos fenólicos (ácidos fenólicos y flavonoides) de la soca maíz fermentada.
4. Evaluar la capacidad antioxidante (ABTS, ORAC, DPPH y FRAP) de los extractos de la soca de maíz fermentada.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Materia Prima

Se recolectó soca de maíz (*Zea mays* L.) híbrido blanco P3289W cultivado en la región de Navolato Sinaloa en las coordenadas 24°43'29.1''N 107°43'41.6''W. Las muestras se procesaron y se eliminó todo material vegetativo que no es grano ni raíces, posteriormente se limpió de suciedad; enseguida se molió la soca en un pulverizador semi industrial marca Pulvex® modelo 300, una vez obtenido el polvo, se suspendió en agua destilada, enseguida se esterilizó en una autoclave marca Yamato® modelo SK101C a 121 °C durante 15 min (Dordevic *et al.*, 2019).

5.2. Reactivos Químicos

Se utilizaron etanol (Golden Bell EUA), hidróxido de sodio (Sigma S5881), 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ Sigma T1253), FeSO₄ (Sigma F8633), Folin-Ciocalteu (Sigma F9252), carbonato de sodio (Na₂CO₃, Sigma 223530), ácido gálico (Sigma G7384), cloruro de aluminio (AlCl₃, Sigma 206911), acetato de potasio (CH₃CO₂K, Sigma 236497), 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH, Sigma D9132), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico (Trolox Sigma 238813), ABTS (Sigma 10102946001), persulfato de potasio (K₂S₂O₈, Sigma 216224), 2,2'-azobis (2-amidino-propano) dihidrocloruro (AAPH, Sigma 440914), fluoresceína (Sigma F6377) y quercetina (Sigma Q4951).

5.3. Inoculación del Microorganismo y Fermentación

Se utilizó la bacteria *L. plantarum* subespecie *plantarum* CDBB-B-1115 para llevar a cabo la

fermentación láctica, la cual fue adquirida en la Colección Nacional de Cepas Microbianas y Cultivos Celulares del Centro de Investigación de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV). La bacteria *L. plantarum* se sembró en una placa con agar MSR durante 48 h a una temperatura de 37 °C. Una vez crecida las colonias, se resuspendieron en agua destilada. Una vez preparado el inóculo (3×10^8 UFC/mL) con agua destilada se procedió a inocular la solución bacteriana con la soca previamente esterilizada y enfriada a temperatura ambiente (Dordevic *et al.*, 2019). Para el proceso de fermentación, la soca, previamente esterilizada, se mezcló con el inóculo de la bacteria *L. plantarum* en un fermentador en ausencia tanto de luz como de oxígeno y un pH de 6 con una agitación de 250 rpm. La fermentación se mantuvo a una temperatura y tiempo indicados por el diseño experimental (Dordevic *et al.*, 2019).

5.4. Tratamientos Control

Como tratamientos control comparativos al fermentado, se realizó un extracto etanólico, acuoso y sin fermentar. El tratamiento etanólico y acuoso siguieron la misma metodología, donde se agregó soca de maíz con la relación sólido/líquido del tratamiento óptimo de fermentación, en el tratamiento etanólico se adicionó etanol absoluto y agua destilada para el extracto acuoso. Una vez adicionada la soca de maíz y su respectivo solvente, se procedió a una agitación durante 2 h a 250 rpm. El tratamiento sin fermentar, se colocó soca de maíz con agua destilada en la misma relación sólido/líquido que el tratamiento óptimo de la fermentación, seguido de una esterilización en autoclave a 121 °C por 15 min. Una vez transcurridos los tiempos de todos los tratamientos control, se somete a los mismos tratamientos post-extracción al igual que el fermentado.

5.5. Tratamiento Post-extracción

Una vez finalizado el tiempo de fermentación y de extracción de tratamientos control, la muestra se filtró utilizando tela de organza, donde el sólido (pellet) se almacenó y el líquido se sometió a la

centrifugación a 15,000 rpm, una temperatura de 4 °C durante 15 min. Una vez terminada la centrifugación, se recolectó el sobrenadante y se procedió a liofilizar el extracto a 0.080 mbar y -52 °C durante 5 d en un equipo Labconco Freezone (Labcon Co., Kansas, MO, USA). EL extracto seco (ES) se resuspendió en 2 mL de agua destilada. El extracto final se almacenó a -20 °C hasta sus respectivos análisis (Dordevic *et al.*, 2019).

5.6. Extracción de Compuestos Fenólicos Ligados

Después de separar el sobrenadante de los residuos sólidos (pellet), este último se sometió a una extracción de compuestos fenólicos ligados por la metodología descrita por Rispail *et al.* (2005). Al pellet, se le adicionó 10 mL de NaOH 2 N y se sometió a calentamiento a baño maría durante 30 min a 95 °C, con agitaciones cada 10 min. Al finalizar la hidrólisis alcalina, la muestra se mantuvo en agitación durante 1 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se adicionó 2 mL de HCl concentrado y se homogenizó en un vortex. Seguido se adicionó 10 mL de hexano para separación de lípidos, se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 min a 4 °C. El sobrenadante se desechó y el pellet se sometió a 5 lavados con 10 mL de acetato de etilo. Se recuperó la fracción líquida y se procedió a un secado en rota-evaporador a una temperatura de 35 °C. Por último, el extracto seco se resuspendió en 2 mL de etanol al 80 % y se almacenó hasta su posterior análisis.

5.7 Análisis Fitoquímicos y de Antioxidantes

5.7.1 Determinación de Saponinas Totales

Se tomó una alícuota de 250 µL de extracto a la cual se le adicionaron 250 µL del reactivo de vainillina al 8 %, la mezcla se colocó en baño de hielo; posteriormente se le agregaron 2.5 mL de ácido sulfúrico al 72 %, se agitó en vórtex durante 3 min y se llevó a calentamiento a una temperatura de 60 °C por 10 min. Luego, la mezcla se enfrió y se tomó la lectura en un lector de

microplacas Synergy HT a una longitud de onda de 470 nm. Los resultados fueron obtenidos mediante el área bajo la curva de diosgenina (0, 0.06, 0.12, 0.18, 0.24, 0.3, 0.36, 0.42 mg/mL) (Hiai *et al.*, 1976).

5.7.2 Determinación de Alcaloides Totales

Para la determinación de alcaloides totales se utilizó el método basado en la reacción con verde de bromocresol (BCG) con algunas modificaciones (Shamsa *et al.*, 2008). La muestra fue desgrasada, para lo cual se colocó 1 mL de muestra con 4.5 mL de hexano en constante agitación durante 4 h, posteriormente se eliminó el hexano mediante decantación. Al extracto desgrasado se le adicionó 2 mL de HCl 2 N, posteriormente se transfirió a un embudo de separación y se lavó con 5 mL de cloroformo, se separaron las fases acuosa y orgánica. El pH de la fase acuosa fue ajustado con NaOH 0.1 N hasta la neutralidad, a esta solución neutralizada se le agregaron 5 mL de cloroformo, así como la fase orgánica previamente obtenida (cloroformo). Posteriormente, se añadieron 5 mL de la solución de BCG, y buffer de fosfato pH 4.7. La mezcla se agitó vigorosamente y se colocó en un embudo de separación donde se colectó la fase orgánica (cloroformo), la cual contenía los alcaloides que fueron cuantificados mediante espectrofotómetro a una longitud de onda de 470 nm. Los resultados fueron calculados con el área bajo la curva de atropina, la cual fue preparada a partir de una solución patrón a una concentración de 220 µg/mL. Para la preparación de la curva, se tomaron alícuotas de la solución patrón y se les agregó 5 mL de solución de BCG y 5 mL una solución buffer de fosfato a pH 4.7. La mezcla se agitó, y el complejo formado fue extraído con 10 mL de cloroformo en un embudo de separación. Las absorbancias del complejo en cloroformo fueron medidas a una longitud de onda de 470 nm en un espectrofotómetro UV-Vis.

5.7.3 Determinación de Capacidad Reductora Total

La capacidad reductora total presente en las muestras se determinó por el método de Folin-Ciocalteu (Swain y Hillis, 1959). Se tomaron 10 µL de la muestra, la cual fue colocada en una

microplaca transparente de 96 pocillos donde se mezclaron con 230 μL de agua destilada y 10 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu al 2 N, las muestras se incubaron por 3 min. Posteriormente se añadieron 25 μL de Na_2CO_3 4 N y se incubaron a 25 $^\circ\text{C}$ por 2 h en ausencia de luz. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 725 nm en un lector de microplacas Synergy HT (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, Vt., USA). El ensayo se realizó por triplicado ($n=3$) y los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg EAG/g ES).

5.7.4 Determinación de Flavonoides Totales

Los flavonoides totales presentes en las muestras se determinaron por el método de AlCl_3 (Chang *et al.*, 2002), se tomaron 10 μL de la muestra la cual fue colocada en una microplaca transparente de 96 pocillos, donde se mezclaron con 250 μL de agua destilada, seguido de 10 μL de AlCl_3 al 10 %, posterior 10 μL de acetato de potasio 1 M, la mezcla se dejó incubar por 30 min en ausencia de luz. La absorbancia se medió a una longitud de onda de 415 nm en un lector de microplacas Synergy HT (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, Vt., USA). El ensayo se realizó por triplicado ($n=3$) y los resultados se expresaron en mg equivalentes de quercetina por gramo de extracto seco (mg EQ /g ES).

5.7.5 Perfil de Ácidos Fenólicos y Flavonoides

Un sistema UPLC fue utilizado para separar los ácidos fenólicos y flavonoides de los extractos. El análisis se realizó en un equipo UPLC clase H (Waters Corporation, EUA) acoplado a un analizador de masas G2-XS QToF (cuadropolo y tiempo de vuelo). La separación se realizó en una columna Acquity UPLC BEH C18 1.7 μm 2.1 x 100 mm a 30 $^\circ\text{C}$. La fase móvil consistió en una mezcla de agua acidificada (0.1 % de ácido fórmico) (A) y acetonitrilo (B), empleándose el siguiente gradiente: 0 min, 95 % A; 2 min, 70 % A; 5 min, 65 % A; 8 min, 60 % A; 9 min, 20 % A; 10 min, 0 % A; y 11 min, 95 % A. El volumen de inyección fue de 0.5 μL y el flujo de 0.3 mL/min. La

muestra eluída del UPLC se ionizó en una fuente de ionización por electrospray (ESI). El equipo de masas se operó con los siguientes parámetros: voltaje de capilar 1.5 kV, cono de muestreo 30 V, temperatura de desolvatación 500 °C, gas de solvatación 800 L/h, el análisis se realizó en modo negativo, y se empleó una rampa de colisión de 0 a 20 V. Los espectros fueron identificados comparándolos con la base de datos MassBank of North American (MassBank of North America, 2018). Los resultados se expresaron como $\mu\text{g/g}$ ES. Los análisis se realizaron por triplicado ($n=3$). Los estándares utilizados fueron ácido cumárico, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido quínico, ácido clorogénico, ácido cafeico, luteolina-7-glucósido, luteolina, quercetina-3-o ramnósido, quercetina, apigenina-8-O-glucósido, apigenina, naringina, naringenina, mangiferina, rutina, hespiridina, genisteína, formononetina, floridzina y kaempferol.

5.7.6 Determinación de Actividad Antioxidante por el Método TEAC

La actividad antioxidante del extracto se determinó utilizando el método TEAC evaluando la inhibición del radical ABTS* (Thaipong *et al.*, 2006). 10 μL del extracto recuperado se mezclaron con 190 μL de solución ABTS (7.4 mM ABTS, 2.6 mM de persulfato de potasio $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ y etanol al 80 %) en una microplaca de 96 pocillos. La mezcla fue incubada por 2 h a temperatura ambiente y en ausencia de luz. La absorbancia se leyó a una longitud de onda de 734 nm utilizando un lector de microplacas Synergy HT (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, Vt., USA) utilizando una solución de metanol como blanco. El ensayo se realizó por triplicado ($n=3$) y los resultados se expresaron como milimoles equivalentes de Trolox por gramo de extracto seco (mmol ET/g ES).

5.7.7 Determinación de la Actividad Antioxidante por el Método ORAC

La capacidad antioxidante también se llevó a cabo mediante el método ORAC (Huang *et al.*, 2002). Para ello se tomó una muestra de 25 μL del extracto recuperado y se mezcló con 150 μL de fluoresceína 0.96 μM , después se agregó 50 μL de AAPH 95.8 μM en una microplaca de 96

pocillos. La mezcla se leyó por 70 minutos en un intervalo de lectura de 70 segundos/lectura. La absorbancia se leyó a una longitud de onda de 485 nm y 580 nm en un lector de microplacas Synergy HT (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, Vt., USA) utilizando una solución de metanol como blanco. El ensayo se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como milimoles equivalentes de Trolox por gramo de extracto seco (mmol ET/g ES).

5.7.8 Determinación de la Actividad Antioxidante por el Método DPPH

La capacidad antioxidante mediante el método DPPH sigue la siguiente metodología (Karadag *et al.*, 2009). Para ello se tomó una muestra de 10 μ L del extracto y se mezcló con 190 μ L de una solución de DDPH en una microplaca de 96 pocillos. La mezcla se incubó por 30 min a temperatura ambiente y en ausencia de luz. La absorbancia se leyó a una longitud de onda de 540 nm en un lector de microplacas Synergy HT (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, Vt., USA) utilizando una solución de metanol como blanco. El ensayo se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como milimoles equivalentes de Trolox por gramo de extracto seco (mmol ET/g ES).

5.7.9 Determinación de la Actividad Antioxidante por el Método FRAP

La capacidad antioxidante por el método de FRAP se realizó por lo establecido por Ghasemzadeh *et al.* (2012) con ligeras modificaciones. Se tomaron 30 μ L del extracto y se adicionaron 110 μ L del reactivo FRAP. Una vez adicionados al pocillo de la microplaca, se mezclaron mediante succión 3 veces con micropipeta multicanal. Se incubó por 4 min a temperatura ambiente en ausencia de luz y se mezcla con velocidad media por 1 min en el lector de microplacas Synergy HT (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, Vt., USA). La absorbancia de la muestra, curva de calibración y blanco se midió a 630 nm. El ensayo se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como milimoles equivalentes de Trolox por gramo de extracto seco (mmol ET/g ES).

5.8 Optimización

La optimización del proceso de fermentación se llevó a cabo utilizando un diseño experimental central compuesto rotatable de la metodología de superficie de respuesta, teniendo como variables de proceso el tiempo de fermentación, relación sólido/líquido y temperatura, mientras que las variables de respuesta fueron capacidad antioxidante ORAC y ABTS (Yan *et al.*, 2019b). Los rangos de valores para las variables de proceso fueron de 3.84 a 44.16 h para la variable tiempo, de 4 a 46 mg/mL para la variable relación sólido/líquido y 28.6 a 45.4 °C para la variable temperatura. Siendo un diseño de 3 factores con niveles altos (1), bajos (-1) y axiales (-1.68, 1.68), el número de tratamientos fue de 20 corridas con 3 réplicas.

5.9 Análisis Estadísticos

Los datos de capacidad reductora total, flavonoides totales, saponinas totales, alcaloides totales, capacidad antioxidante (métodos ABTS, DPPH, ORAC Y FRAP), flavonoides y ácidos fenólicos; fueron analizados utilizando el paquete estadístico Minitab 18 (Minitab Inc. USA). Se realizó una diferencia de medias por el método de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Cada experimento se realizó por triplicado y los resultados se expresan como media \pm desviación estándar.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Optimización de Fermentación Láctica de Soca de Maíz

En el **Cuadro 1** se encuentra las diferentes combinaciones de variables de proceso de la fermentación láctica (tiempo, relación sólido/líquido, temperatura) utilizadas en la fermentación de la soca de maíz. Dichas combinaciones muestran los valores obtenidos de las variables de respuesta (capacidad antioxidante ORAC y ABTS).

Con base en los datos experimentales expresados en **Cuadro 1**, se obtuvieron los distintos modelos predictivos tras el ajuste del polinomio:

$$\hat{Y}_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \quad (1)$$

donde dicha ecuación relaciona las variables de proceso (X_1 : Tiempo, X_2 : Relación sólido/líquido) y X_3 : Temperatura) con las variables de respuesta (ABTS y ORAC). Estos modelos se sometieron a una prueba de ajuste mediante un análisis de varianza (ANOVA).

Cuadro 1. Diseño experimental (central compuesto rotable de la metodología de superficie de respuesta) para la optimización de la fermentación láctica de soca de maíz.

Corrida	Variables de proceso			Variables de respuesta	
	X1: Tiempo (h)	X2: Relación S/L (mg/mL)	X3: Temperatura (°C)	ABTS (mmol ET/g ES)	ORAC (mmol ET/g ES)
1	-1 (12)	-1 (12.5)	-1 (32)	0.244 ± 0.012	0.667 ± 0.098
2	1 (36)	-1 (12.5)	-1 (32)	0.267 ± 0.026	0.956 ± 0.076
3	-1 (12)	1 (37.5)	-1 (32)	0.107 ± 0.025	0.517 ± 0.136
4	1 (36)	1 (37.5)	-1 (32)	0.135 ± 0.030	0.685 ± 0.125
5	-1 (12)	-1 (12.5)	1 (42)	0.246 ± 0.006	0.649 ± 0.014
6	1 (36)	-1 (12.5)	1 (42)	0.223 ± 0.026	0.640 ± 0.011
7	-1 (12)	1 (37.5)	1 (42)	0.091 ± 0.002	0.450 ± 0.024
8	1 (36)	1 (37.5)	1 (42)	0.112 ± 0.047	0.471 ± 0.099
9	-1.68 (3.84)	0 (25)	0 (37)	0.133 ± 0.001	0.526 ± 0.027
10	1.68 (44.16)	0 (25)	0 (37)	0.182 ± 0.060	0.545 ± 0.041
11	0 (24)	-1.68 (4)	0 (37)	0.302 ± 0.021	0.483 ± 0.020
12	0 (24)	1.68 (46)	0 (37)	0.077 ± 0.001	0.450 ± 0.103
13	0 (24)	0 (25)	-1.68 (28.6)	0.183 ± 0.041	1.045 ± 0.027
14	0 (24)	0 (25)	1.68 (45.4)	0.137 ± 0.002	0.838 ± 0.103
15	0 (24)	0 (25)	0 (37)	0.151 ± 0.005	0.873 ± 0.065
16	0 (24)	0 (25)	0 (37)	0.144 ± 0.004	0.798 ± 0.036
17	0 (24)	0 (25)	0 (37)	0.143 ± 0.027	0.771 ± 0.113
18	0 (24)	0 (25)	0 (37)	0.141 ± 0.009	0.885 ± 0.003
19	0 (24)	0 (25)	0 (37)	0.136 ± 0.002	0.821 ± 0.002
20	0 (24)	0 (25)	0 (37)	0.144 ± 0.004	0.884 ± 0.020

ET: Equivalentes de Trolox; ES: Extracto seco

6.1.1. Capacidad Antioxidante ABTS

Mediante este método se encontró un rango de datos entre 0.077 a 0.302 mmol ET/g ES (**Cuadro 1**). El análisis de varianza para el modelo de predicción (**Cuadro 2**) muestra que el modelo general, lineal y cuadrático son muy significativos ($p < 0.000$), falta de ajuste no significativa ($p < 0.418$), un coeficiente de determinación $R^2 = 92.60\%$ y un coeficiente de determinación R^2 ajustado = 91.76%. La alta significancia del modelo, alta contribución a la variabilidad (R^2), poca diferencia entre los coeficientes de determinación y ajustado y nula significancia a la falta de ajuste indica que el modelo es adecuado y reproducible. El modelo lineal, en cuestión a contribución a la variabilidad, es el que presenta una mayor contribución total (84.36%; $p < 0.000$), donde de las variables de proceso, la mayor contribución a la variabilidad es debido a la relación sólido/líquido (80.86 %;

p<0.000), seguido por la temperatura (3.42 %; p<0.000) y el tiempo con poca contribución (0.69 %; p<0.031). En el modelo cuadrático, la contribución a la variabilidad (7.52 %; p<0.000) es muy inferior a lo observado por el modelo lineal; donde la variable cuadrática que aporta la mayor contribución es la relación sólido/líquido (5.47 %; p<0.000), seguida de la temperatura (2.06 %; p<0.000), resultando no significativa la variable tiempo. La interacción de las variables aporta poca contribución a la variabilidad (0.71 %; p<0.028), siendo la combinación de las variables tiempo*temperatura la que aporta dicha contribución.

$$ABTS = 0.1439 + 0.00621X_1 - 0.0067X_2 - 0.01382X_3 + 0.01781X_2^2 + 0.01039X_3^2 - 0.00825X_1X_3(2)$$

Cuadro 2. Análisis de varianza para la variable ABTS

Fuente	Grados de libertad	Contribución	SC Ajustado	MC Ajustado	Valor F	Valor p
Modelo	6	92.60 %	0.212	0.035	110.53	0.000
Lineal	3	84.36 %	0.193	0.064	201.39	0.000
Tiempo	1	0.69 %	0.0015	0.0016	4.94	0.031
S/L	1	80.26 %	0.184	0.184	574.77	0.000
Temperatura	1	3.42 %	0.008	0.008	24.46	0.000
Cuadrado	2	7.52 %	0.017	0.009	26.94	0.000
S/L*S/L	1	5.47 %	0.014	0.014	43.27	0.000
Temperatura*Temperatura	1	2.06 %	0.005	0.005	14.73	0.000
Interacción de 2 factores	1	0.71 %	0.0016	0.0016	5.11	0.028
Tiempo*Temperatura	1	0.71 %	0.0016	0.0016	5.11	0.028
Error	53	7.40 %	0.017	0.0003		
Falta de ajuste	8	1.16 %	0.003	0.0003	1.04	0.418
Error puro	45	6.24 %	0.014	0.0003		
Total	59	100.00 %				

$$S = 0.0178887$$

$$R^2 = 92.60 \%$$

$$R^2 \text{ (ajustado)} = 91.76 \%$$

$$R^2 \text{ (predicción)} = 89.96 \%$$

El modelo de predicción para la respuesta ABTS utilizando variables codificadas fue representado por la siguiente ecuación:

$$ABTS = 0.1439 + 0.00621X_1 - 0.0067X_2 - 0.01382X_3 + 0.01781X_2^2 + 0.01039X_3^2 - 0.00825X_1X_3 \quad (3)$$

El modelo de predicción para la respuesta ABTS utilizando variables no codificadas fue representado por la siguiente ecuación:

$$ABTS = 0.886 + 0.00561t - 0.011058SL - 0.03022T + 0.000114SL^2 + 0.000416T^2 - 0.000138tT \quad (4)$$

Realizado el análisis de varianza y el modelo de predicción de la variable capacidad antioxidante mediante el método de ABTS, se elaboraron los gráficos de contorno y superficie de respuesta (**Figura 1**), donde se observa el comportamiento de las variables de proceso (tiempo, relación sólido/líquido y temperatura) sobre la variable de respuesta ABTS. Analizando los gráficos de contorno y superficie de respuesta (**Figura 1 y 2**), podemos discutir que, para maximizar la variable de respuesta, la tendencia es que a medida que aumenta el tiempo de fermentación, la capacidad antioxidante por ABTS se maximiza; en los casos de las variables de relación sólido/líquido y temperatura, son opuestos a el tiempo, donde a una menor relación sólido/líquido y una menor temperatura, se maximiza la variable de respuesta.

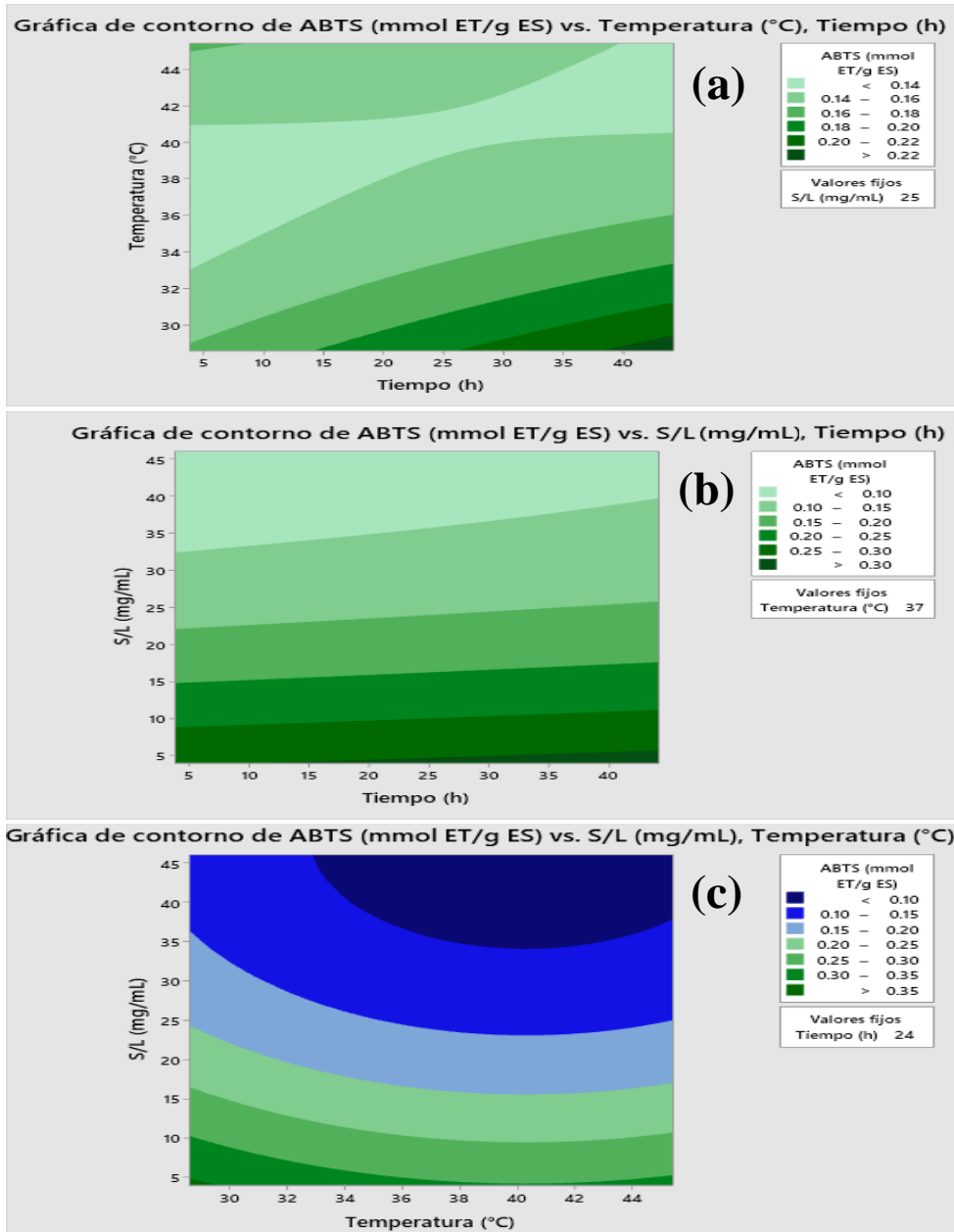


Figura 1. Gráficos de contorno que muestran el efecto de las variables tiempo vs temperatura (a), tiempo vs relación sólido/líquido (b) y relación sólido/líquido vs temperatura (c) sobre la variable de respuesta ABTS.

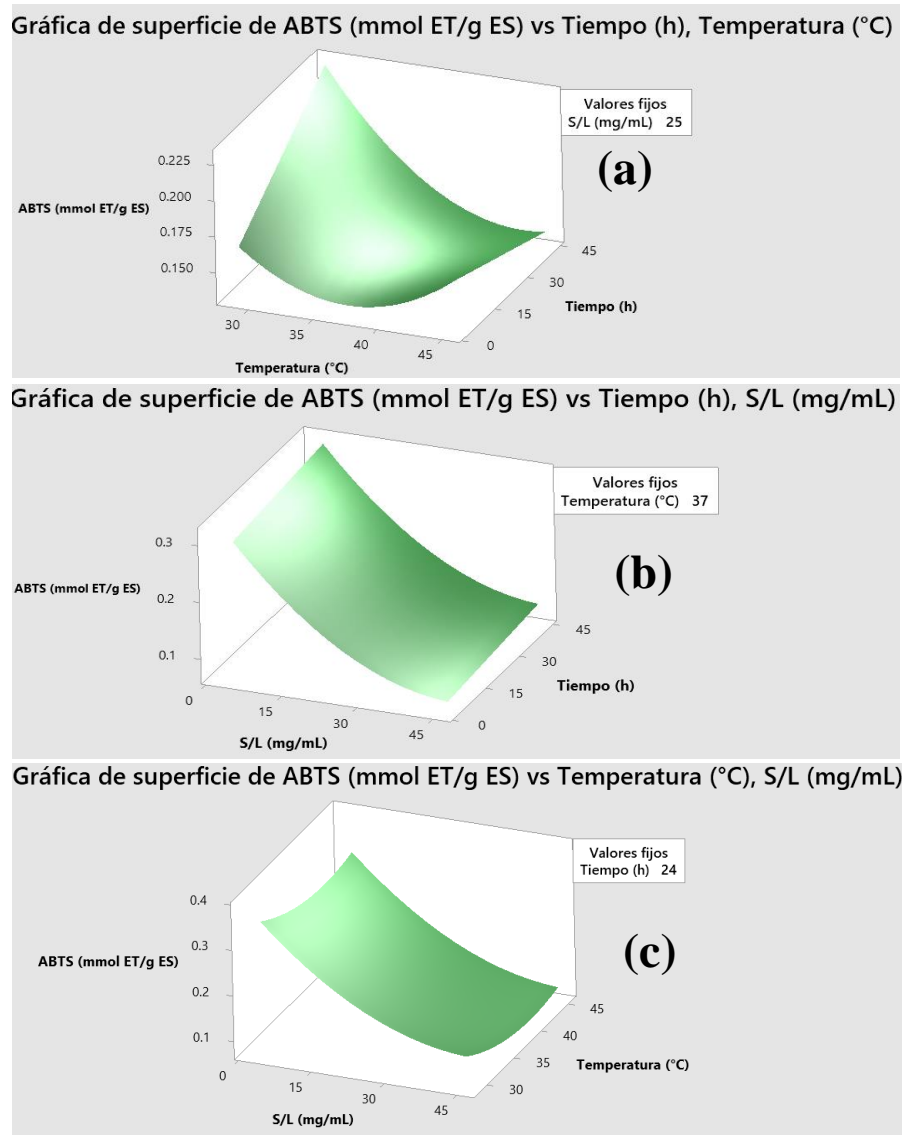


Figura 2. Gráficos de superficie que muestran el efecto de las variables tiempo vs temperatura (a), tiempo vs relación sólido/líquido (b) y relación sólido/líquido vs temperatura (c) sobre la variable de respuesta ABTS.

La tendencia es que donde aumenta el tiempo de fermentación aumenta la capacidad antioxidante ABTS también es reportado por Zhou *et al.* (2020), donde al fermentar pulpa de kiwi con *L. plantarum*, se observa que la capacidad antioxidante es dependiente del tiempo de fermentación. Así mismo, Gholamhosseinpour y Hashemi (2019) fermentaron leche con *L. plantarum*, con asistencia de ultrasonido, reportando que a medida que aumenta el tiempo de fermentación (0 a 24 h) la capacidad antioxidante ABTS aumenta en todas las evaluaciones con y sin asistencia de ultrasonido.

De manera similar, Yang *et al.* (2018) fermentan jugo de pera, zanahoria y manzana con *L. plantarum*, observando que dentro de los 2 primeros días de fermentación, al igual que este estudio, se observa como aumenta la capacidad antioxidante conforme aumenta el tiempo de fermentación hasta las 48 h, observando que a partir de las 48 h no se observa un cambio significativo.

6.1.2. Capacidad Antioxidante ORAC

Se encontró un rango de datos de capacidad antioxidante por el método de ORAC entre 0.450 a 1.045 mmol ET/g ES (**Cuadro 1**). El análisis de varianza para el modelo de predicción (**Cuadro 3**) muestra que el modelo general, lineal y cuadrático son muy significativos ($p < 0.000$), un valor p de falta de ajuste de 0.006, un coeficiente de determinación R^2 adecuado (83.88 %) y un coeficiente de determinación R^2 ajustado muy cercano del R^2 (81.70 %). La alta significancia del modelo, alta contribución a la variabilidad (R^2), poca diferencia entre los coeficientes de determinación y ajustado; nos indica que el modelo es adecuado y reproducible. En el modelo cuadrático, en cuanto a contribución a la variabilidad, es el modelo con mayor contribución total (62.11 %; $p < 0.000$), donde de las variables de proceso, la mayor contribución a la variabilidad es por parte de la relación sólido/líquido (38.97 %; $p < 0.000$), seguido del tiempo (21.13 %; $p < 0.000$) y la temperatura con poca contribución (2.01 %; $p < 0.014$). En el modelo lineal, la contribución a la variabilidad (17.77 %; $p < 0.000$) es muy inferior a lo observado por el modelo cuadrático; donde la variable lineal que aporta la mayor contribución es la relación sólido/líquido (7.97 %; $p < 0.000$), seguida de la temperatura (7.88 %; $p < 0.000$), resultando poco significativa la variable tiempo (1.91 %; $p < 0.016$). La interacción de las variables aporta poca contribución a la variabilidad (4.0 %; $p < 0.001$), siendo la combinación de las variables tiempo*temperatura la que aporta dicha contribución. El hecho que el modelo cuadrático sea el que explique la mayor variabilidad del modelo general, nos indica que se puede encontrar las condiciones óptimas de las variables de proceso que maximicen a la variable de respuesta ORAC; destacando que las dos variables cuadráticas más significativas son el tiempo y la relación sólido/líquido, por lo que la atención debe de ser enfocada hacia estas variables. El modelo de predicción para la respuesta ORAC utilizando variables codificadas fue representado por la siguiente ecuación:

$$ORAC = 0.8517 + 0.0319X_1 - 0.0651X_2 - 0.0647X_3 - 0.1117X_1^2 - 0.1362X_2^2 + 0.0318X_3^2 - 0.0602X_1X_3 \quad (5)$$

Cuadro 3. Análisis de varianza para la variable ORAC

	Grados de libertad	Contribución	SC ajustado	MC ajustado	Valor F	Valor p
Modelo	7	83.88 %	1.826	0.261	38.64	0.000
Lineal	3	17.77 %	0.387	0.129	19.10	0.000
Tiempo	1	1.91 %	0.042	0.0417	6.17	0.016
S/L	1	7.97 %	0.173	0.173	25.71	0.000
Temperatura	1	7.88 %	0.171	0.171	25.41	0.000
Cuadrado	3	62.11 %	1.352	0.451	66.77	0.000
Tiempo*Tiempo	1	21.13 %	0.539	0.539	79.84	0.000
S/L*S/L	1	38.97 %	0.802	0.802	118.84	0.000
Temperatura*Temperatura	1	2.01 %	0.044	0.0438	6.50	0.014
Interacción de 2 factores	1	4.00 %	0.087	0.087	12.89	0.001
Tiempo*Temperatura	1	4.00 %	0.087	0.087	12.89	0.001
Error	52	16.12 %	0.351	0.0067		
Falta de ajuste	7	5.54 %	0.121	0.0172	3.37	0.006
Error puro	45	10.58 %	0.230	0.0051		
Total	59	100.00 %				

S = 0821674

R2 = 83.88 %

R2 (ajustado) = 81.70 %

R2 (predicción) = 77.57 %

El modelo de predicción para la respuesta ORAC utilizando variables no codificadas fue representado por la siguiente ecuación:

$$ORAC = 1.258 + 0.077t + 0.03839SL - 0.0831T - 0.000775t^2 - 0.000872SL^2 + 0.001274T^2 - 0.001004t \quad (6)$$

Una vez el analizado el modelo de predicción de la variable ORAC, se elaboraron los gráficos de contorno y superficie de respuesta (**Figura 3 y 4**), en los cuales, se observa el comportamiento de

las variables de proceso (tiempo, relación sólido/líquido y temperatura) sobre la variable de respuesta ORAC. En los gráficos de contorno y superficie de respuesta (**Figura 3 y 4**), se puede apreciar que para maximizar la variable de respuesta y obtener un óptimo, tenemos que enfocar la atención a los gráficos de las variables de respuesta cuadráticas de tiempo y relación sólido/líquido, ya que estas dos son las que aportan la mayor contribución. Se observa en estos gráficos que se logra obtener las condiciones óptimas que maximizan a la variable ORAC, donde dichas condiciones se encuentran en los rangos de los puntos centrales de ambas variables (-0.5 a 0.5). Analizando a los otros gráficos donde se involucra a la variable temperatura, podemos destacar la aparición de un comportamiento tipo silla; esto debido a que la variable temperatura resulta con poca contribución en contraste con las otras dos variables con las que se está contrastando. El análisis de todos los gráficos nos indica que las condiciones óptimas para la variable de ORAC se encuentran cercanas a los puntos centrales en las variables tiempo y relación sólido/líquido, y aunque se observa un mínimo cambio en la variable temperatura, si se observa que la variable se maximiza cuando se disminuyen los valores de temperatura.

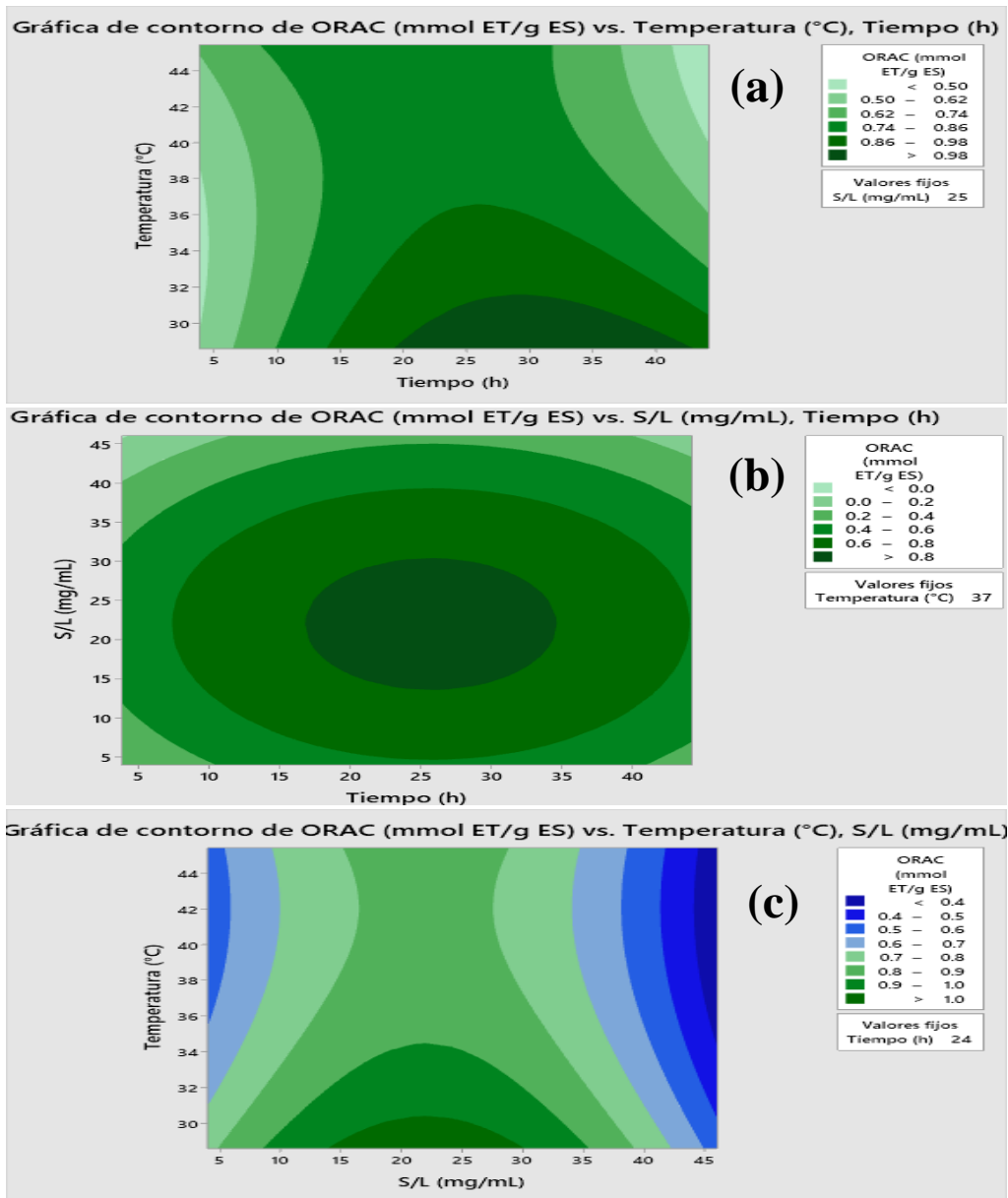
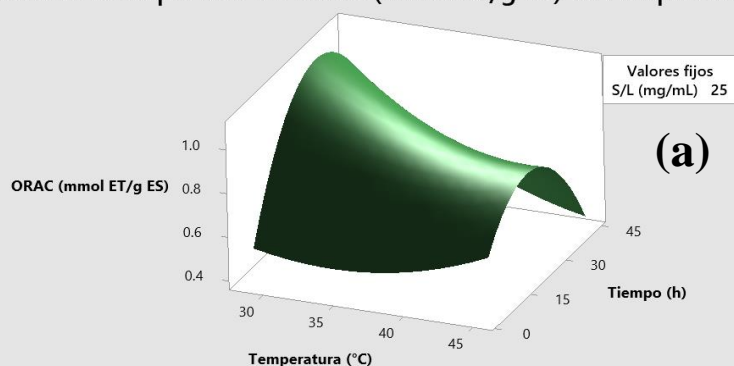
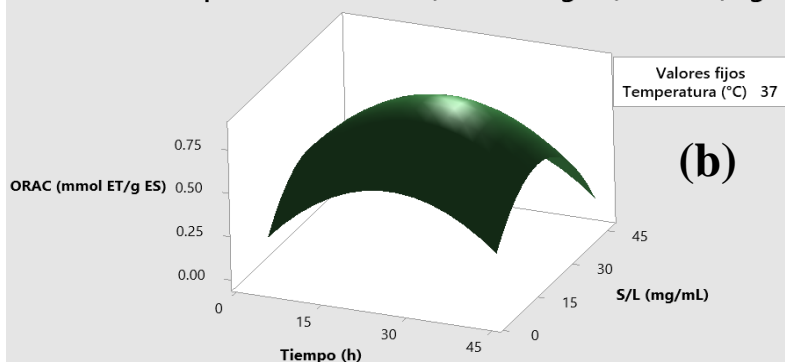


Figura 3. Gráficos de contorno que muestran el efecto de las variables tiempo vs temperatura (a), tiempo vs relación sólido/líquido (b) y relación sólido/líquido vs temperatura (c) sobre la variable de respuesta ORAC.

Gráfica de superficie de ORAC (mmol ET/g ES) vs Temperatura (°C), Tiempo (h)



Gráfica de superficie de ORAC (mmol ET/g ES) vs S/L (mg/mL), Tiempo (h)



Gráfica de superficie de ORAC (mmol ET/g ES) vs Temperatura (°C), S/L (mg/mL)

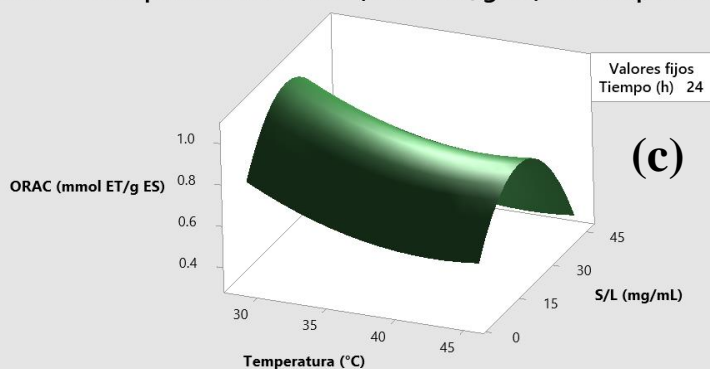


Figura 4. Gráficos de superficie que muestran el efecto de las variables tiempo vs temperatura (a), tiempo vs relación sólido/líquido (b) y relación sólido/líquido vs temperatura (c) sobre la variable de respuesta ORAC.

Similar a lo observado en esta investigación fue lo reportado por García *et al.* (2022), donde fermentaron una bebida de huazontle con *L. plantarum*, destacando que la capacidad antioxidante por el método ORAC aumenta hasta un tiempo de 24 h y conforme aumenta el tiempo hasta 48 horas ocurre una disminución de la capacidad, con lo que se destaca un valor óptimo de tiempo de 24 h, similar a lo obtenido en esta investigación, donde el tiempo de mayor capacidad antioxidante

oscila alrededor del valor central, cuyo valor es de 24 h, esto bajo las condiciones de centrales de relación sólido/líquido y temperatura iguales a 25 mg/mL y 37 °C (**Figura 3b**).

6.2. Optimización

Para encontrar las condiciones óptimas que maximicen ambas variables de respuesta (ABTS y ORAC), se procede a construir una gráfica de sobreposición de ambas gráficas de contorno (**Figura 1 y 3**). El punto central de la región de optimización (**Figura 5**) nos indica que la combinación óptima de las variables de proceso que maximizan a ambas variables de respuesta en valores codificados y no codificados es Tiempo = 0.80275 – 33.58 h; Relación sólido/líquido = -1.24107 – 9.5 mg/mL; Temperatura = -1.68 – 28.6 °C. Los valores predictorios de las variables de respuesta ABTS y ORAC fueron: ABTS = 0.315041 mmol ET/g ES; ORAC = 0.956102 mmol ET/g ES. Haciendo uso de los modelos de predicción y las condiciones óptimas, se llevó a cabo el experimento con 5 replicas (n=5) para la confirmar que los modelos predictorios son adecuados y reproducibles. Los valores experimentales tras la replicación se pueden observar en el **Cuadro 4** y son ABTS = 0.2986 ± 0.0049 mmol ET/g ES; ORAC = 0.9507 ± 0.0408 mmol ET/g ES. Contrastando tanto los valores de predicción como los replicados experimentales, encontramos que son valores muy similares, ya que los valores experimentales estan en el rango del intervalo de confianza al 95 % del modelo de predicción (lo que determina que no hay diferencia significativa), indicando que las condiciones óptimas de fermentación láctica de soca de maíz para maximizar las capacidades antioxidantes ABTS y ORAC son adecuadas y reproducibles.

Los valores de las variables óptimas (**Cuadro 4**) de 33.58 h, 9.5 mg/mL y 28.6 °C para maximizar ambas capacidades antioxidantes (ABTS y ORAC) son diferentes a los reportado por Zhou *et al.* (2020), con valores de 28 h, 1:1 w/v y 37 °C, donde tras la fermentación de pulpa de kiwi con *L. plantarum*, se maximiza la capacidad antioxidante (ABTS) bajo las condiciones ya mencionadas. Esta diferencia se puede deber a la gran diferencia entre el material fermentable, ya que en este caso es soca de maíz, comparado con pulpa de kiwi, muchos factores son diferentes como pH, humedad, composición química, entre otros.

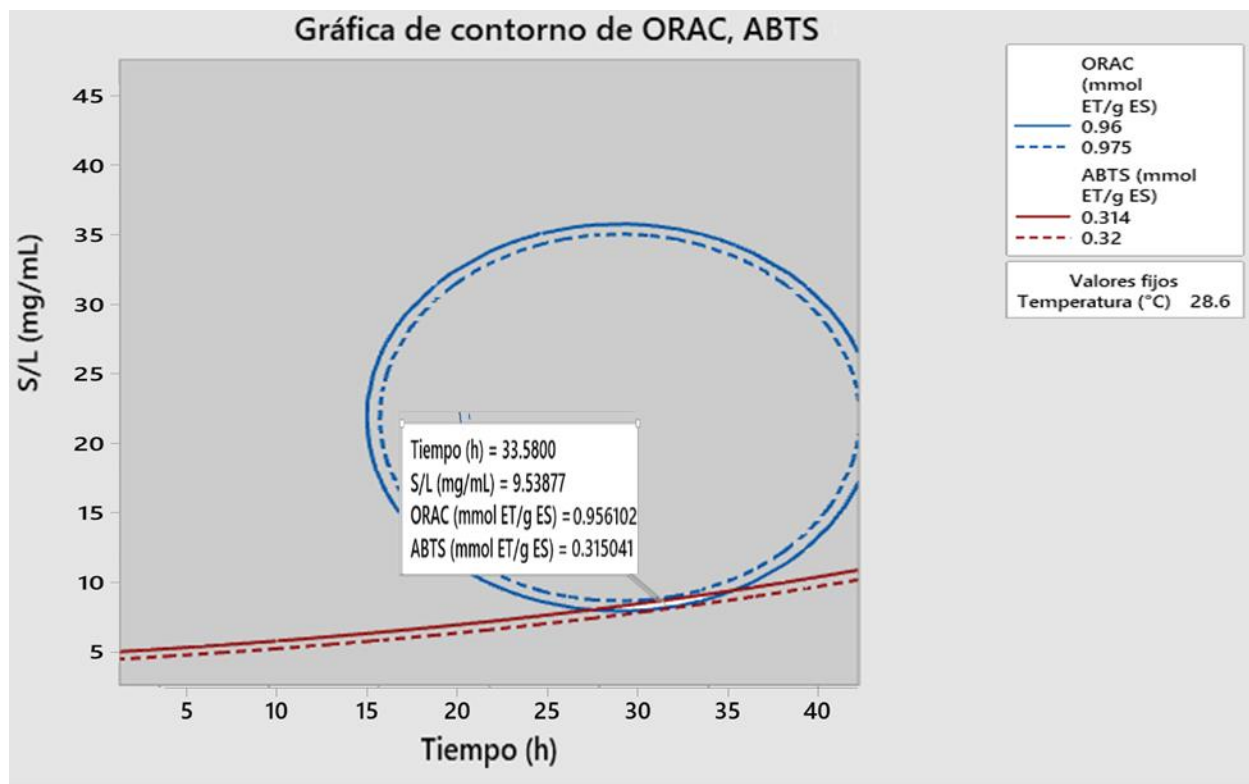


Figura 5. Gráfico mostrando la región con la mejor combinación de variables del proceso para maximizar la capacidad antioxidante (ORAC y ABTS).

Por su parte Gholamhosseinpour *et al.* (2019) fermentaron leche con *L. plantarum*, donde las condiciones óptimas para maximizar la capacidad antioxidante son diferentes a lo reportado en esta investigación, con un tiempo de fermentación de 24 h y 37 °C, esto en contraste con 33.58 h y 28.5 °C de esta investigación. Esto puede deberse a múltiples factores, principalmente debido a que la materia prima es un medio rico en nutrientes adecuados para el crecimiento de bacterias ácido lácticas, lo cual disminuiría el tiempo de liberación/producción de compuestos bioactivos (**Cuadro 4**).

Cuadro 4. Reporte de confirmación de fermentación láctica optimizada

Factor	Nombre	Nivel Óptimo	Nivel Bajo	Nivel Alto	Código
A	Tiempo (h)	33.58	12	36	Actual
B	Relación sólido/líquido (mg/mL)	9.5	12.5	37.5	Actual
C	Temperatura (°C)	28.6	32	42	Actual
Respuesta	Valor Predicho	Media del Valor Medido	EE Predicho	IC de 95 %	IP de 95 %
ABTS (mmol ET/g ES)	0.314	0.298	0.0136	(0.287, 0.342)	(0.765, 1.148)
ORAC (mmol ET/g ES)	0.956	0.950	0.0483	(0.860, 1.053)	(0.269, 0.360)

ET: Equivalentes de Trolox; ES: Extracto seco; EE: Error de estimación; IC: Intervalo de confianza

Por último García *et al.* (2022) reporta condiciones de tiempo similares, donde para maximizar la capacidad antioxidante ORAC en una bebida de huazontle fermentada con *L. plantarum* el tiempo necesario oscila entre los 24 a 48 h (36 h promedio), sin embargo, la temperatura requerida es 37 °C y la relación sólido/líquido es de 0.5 % (w/v), distinto a lo encontrado en esta investigación (**Cuadro 4**).

6.3. Análisis Nutracéuticos de Extractos de Soca de Maíz

Con el objetivo de valorizar los extractos de soca de maíz, se llevaron a cabo los análisis nutracéuticos que consistieron en identificar y cuantificar los grupos de fitoquímicos presentes en los extractos, además de evaluar su capacidad antioxidante. Los grupos de compuestos bioactivos que son de interés en este tipo de extractos hidrofílicos de soca de maíz son: ácidos fenólicos, flavonoides, saponinas y alcaloides. Estos grupos de compuestos tienen la capacidad de neutralizar a los radicales libres, con lo que se puede decir que estos compuestos bioactivos poseen capacidad antioxidante, la cual se puede medir en los métodos de ABTS, ORAC, DPPH y FRAP.

6.3.1 Saponinas Totales

Nuestros resultados muestran que el contenido de saponinas totales de extractos de soca de maíz depende principalmente del tipo de extracción, donde el tipo de solvente y la temperatura son los factores más significantes en la extracción de saponinas. En el **Cuadro 5**, se observan los valores de saponinas totales de los tratamientos etanólico, acuoso, sin fermentar y fermentado. Podemos observar que el contenido de saponinas totales es significativamente mayor en el extracto etanólico, seguido del tratamiento sin fermentar. Los extractos acuosos y fermentados fueron similares estadísticamente.

Las saponinas tienen una estructura química de polaridad alta-media debido a que se constituyen de un triterpeno unido a un carbohidrato, lo cual pudiera estar asociado con el mayor rendimiento del extracto etanólico en la obtención de saponinas. Por otro lado, Tan *et al.* (2014) reportaron que el extracto etanólico de melón amargo es mejor solvente para obtener extractos ricos en saponinas que el resto de los extractos acuosos.

Dentro de los extractos acuosos, el extracto sin fermentar es el que muestra una mayor obtención de saponinas. Este extracto es más efectivo que los mencionados debido a que se somete a una esterilización a 121 °C por 15 min, por lo que el tratamiento térmico mejora la extracción de saponinas al ocasionar un rompimiento del tejido celular de la materia prima. La misma tendencia es reportada por Sun *et al.* (2021), donde al aumentar la temperatura se extraen más saponinas de semillas de té verde.

La disminución de saponinas después del proceso de fermentación puede deberse a que la bacteria está utilizando como sustrato los carbohidratos que forman parte de la estructura de las saponinas, así como, por la disminución del pH tras la producción de ácido láctico por *L. plantarum*. Dicha disminución de saponinas tras la fermentación con *L. plantarum*, también es reportada por Tian *et al.* (2018), donde producen ensilajes a base de alfalfa con adición de subproductos de trigo y maíz. Esta disminución puede ser explicada por la alta actividad de la enzima β -glucosidasa presente en las bacterias ácido lácticas, lo que hidroliza los glicósidos presentes en la estructura de las saponinas, produciendo así triterpenos agliconas (Chien *et al.*, 2006; Gao *et al.*, 2019; Mazlan *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2022). Al producir los ensilajes por *L. plantarum*, ocurre una disminución del pH, ya que el metabolismo de esta bacteria es homofermentativo, solo produciendo ácido

láctico; dicho ácido, ocasiona la disminución del pH, lo que a su vez, provoca una disminución de saponinas (Tian *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2022).

Cuadro 5. Contenido de saponinas totales de extractos de soca de maíz

Extracto	Saponinas totales (mg ED/g ES)
Etanólico	73.26 ± 4.54 ^a
Acuoso	43.77 ± 1.99 ^c
Sin fermentar	61.51 ± 3.75 ^b
Fermentado	41.05 ± 3.75 ^c

ED: Equivalentes de diosgenina; ES: Extracto seco

a,b,c: Letras diferentes muestran significancia estadística ($p < 0.05$), según la prueba de Tukey. Los resultados muestran la media ± DE de tres réplicas (n=3).

6.3.2 Alcaloides Totales

En el **Cuadro 6** se puede destacar el contenido de alcaloides totales de los tratamientos etanólico, acuoso, sin fermentar y fermentado; donde estos datos se reportan como miligramos equivalentes de atropina/g de extracto seco (mg EA/g ES). Nuestro estudio muestra que el contenido de alcaloides totales de extractos de soca de maíz depende de la temperatura y acción enzimática. El contenido de alcaloides totales fue mayor en el extracto acuoso con 22.95 mg EA/g ES.

Cuadro 6. Contenido de alcaloides totales de extractos de soca de maíz

Extracto	Alcaloides totales (mg EA/g ES)
Etanólico	Nd
Acuoso	22.95 ± 1.67 ^a
Sin fermentar	7.91 ± 0.06 ^b
Fermentado	2.82 ± 0.49 ^c

EA: Equivalentes de atropina; ES: Extracto seco; Nd: No detectado

a,b,c: Letras diferentes muestran significancia estadística ($p < 0.05$), según la prueba de Tukey. Los resultados muestran la media ± DE de tres réplicas (n=3).

El extracto acuoso puede ser el mejor tratamiento para la obtención de alcaloides totales, debido a que los alcaloides son termolábiles, lo que el aumento de la temperatura entre el extracto acuoso y

sin fermentar perjudica en la extracción al someter al extracto sin fermentar a una esterilización a 121 °C (Rachmaniah *et al.*, 2021).

La disminución de los alcaloides en el fermentado puede ser explicado conforme a lo reportado por Salem *et al.* (2010), donde someten extractos acuosos y metanólicos de *Acacia saligna* contra *L. plantarum* para determinar su capacidad fermentativa. Se determinó que los alcaloides presentan poca toxicidad, mayor crecimiento bacteriano y mayor producción de ácido láctico; incluso, en el crecimiento y producción de ácido láctico, este tratamiento no tuvo diferencia significativa con el control (sin adición de extractos), lo que puede indicar que los alcaloides están siendo aprovechados para el metabolismo de *L. plantarum*, lo que explica su disminución tras la fermentación. Esto nos sugiere que los alcaloides podrían beneficiar el proceso fermentativo; en donde las bacterias acidolácticas pudieran estar consumiendo y biotransformando algunos alcaloides mediante el metabolismo de los glicósidos presentes en los glicoalcaloides. Esto último ha sido previamente reportado por Li *et al.* (2021a), ya que el fermentar *Zanthoxylum bungeanum* con bacterias ácido lácticas disminuye la cantidad total de alcaloides y alquilamidas, donde se determina que el rango de temperatura que maximiza la degradación oscila entre los 29 a 41 °C, siendo la máxima degradación a los 37 °C. Con esto, resalta la importancia que la temperatura óptima de crecimiento de las bacterias ácido lácticas en su mayoría es a 37 °C, por lo que se podría relacionar que a mayor actividad metabólica, mayor la degradación de alcaloides y alquilamidas. Otro parámetro importante para la degradación de alcaloides es el pH (5.5 el mejor), donde un ambiente ligeramente ácido producido por *L. plantarum* favorece la desglicosilación de los glicoalcaloides. El tiempo de fermentación también fue significativo en la degradación de alcaloides, siendo 36 h de fermentación el mejor tratamiento de degradación de alcaloides. En este trabajo se cumple con todos los parámetros que describe Li *et al.* (2021a) para la biotransformación de alcaloides, ya que las condiciones óptimas de fermentación fueron 33.58 h, 28.6 °C y un pH de 5.5 (**Cuadro 4**).

6.3.3 Flavonoides Totales

6.3.3.1. Flavonoides totales libres. En el **Cuadro 7** se puede apreciar que el extracto etanólico es

mejor para la obtención de flavonoides totales, seguido del extracto acuoso, sin fermentar y fermentado respectivamente.

El extracto etanólico es superior debido a la estructura molecular de los flavonoides, donde se ven favorecidos por la naturaleza como solvente del etanol frente al uso de agua. Esto es confirmado por Lee *et al.* (2014), donde se compara la extracción de flavonoides de cáscara de cebolla con etanol y agua, resultando en una mayor extracción de flavonoides, principalmente quercetina y kaempferol, los cuales son más solubles en etanol que en agua. También en cuanto a residuos de cereales como el trigo, maíz y arroz; en todos los casos, el extracto etanólico obtuvo la mayor cantidad de flavonoides totales en todas las partes analizadas (germen, cáscara y salvado) (Smuda *et al.*, 2018).

Seguido al extracto etanólico, el extracto acuoso es más efectivo que el sin fermentar y fermentado, debido a que el incremento en la temperatura en el extracto sin fermentar (121 °C por 15 min), provoca que algunos flavonoides se degraden (Lee *et al.*, 2014). La disminución de flavonoides entre el extracto sin fermentar y el fermentado se puede deber a una bioconversión o degradación de los mismos por acción metabólica de *L. plantarum* (Hunaefi *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2021c; Myo *et al.*, 2021; Ru *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2020). Tal es el caso de lo reportado por Bautista-Expósito *et al.* (2018), donde el fermentar lentejas con *L. plantarum* disminuye la cantidad de algunos flavonoides como catequina, (+)-catequina-3-O-glucósido, kaempferol y kaempferol rutinósido-ramnósido (I). En este sentido, se ha reportado que los flavonoides y ácidos fenólicos presentes pudieran ser utilizados como prebióticos y metabolizados por las bacterias ácido lácticas (Ru *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2019). Así mismo, durante este fenómeno, algunos flavonoides pueden biotransformarse en otros metabolitos como unidades de ácidos fenólicos como el ácido gálico, homogentísico y siríngico, además de la formación de chalconas (Ávila *et al.*, 2009; Huynh *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2021c).

Cuadro 7. Contenido de flavonoides totales libres de extractos de soca de maíz

Extracto	Flavonoides totales (mg EQ/g ES)
Etanólico	15.56 ± 0.56 ^a
Acuoso	9.40 ± 0.23 ^b
Sin fermentar	7.54 ± 0.29 ^c
Fermentado	6.35 ± 0.16 ^d

EQ: Equivalentes de quercetina; ES: Extracto seco

a,b,c,d: Letras diferentes muestran significancia estadística (p<0.05), según la prueba de Tukey. Los resultados muestran la media ± DE de tres réplicas (n=3).

6.3.3.2. Flavonoides totales ligados. Los flavonoides ligados son todos aquellos que están enlazados mediante enlaces tipo éter y éster a la pared celular (Risipail *et al.*, 2005). En el **Cuadro 8** se observa que el tratamiento de fermentación mostró el mayor contenido de flavonoides totales ligados. Esto comparado por Melini y Acquistucci (2017), donde se observa que solo la hidrólisis con NaOH incrementa la extracción de compuestos fenólicos ligados. Por otro lado, los flavonoides del extracto fermentado son superiores al resto de tratamientos. Esta diferencia entre el fermentado y resto de tratamientos se puede deber a que algunos flavonoides están enlazados a la fibra de la pared celular como las pectinas, hemicelulosa y celulosa; por lo que los protegen y les dan estabilidad (Chirug *et al.*, 2021; Siemińska-Kuczer *et al.*, 2022). Sin embargo, al someterse a fermentación, *L. plantarum* posee enzimas como las celulasas, hemicelulasas y β -glucosidasas, las cuales son capaces de hidrolizar a los carbohidratos de la pared celular, lo que conlleva a una liberación de los flavonoides que estaban enlazados a dichas macromoléculas por enlaces tipo éster y éter (De Villa *et al.*, 2021).

Cuadro 8. Contenido de flavonoides totales ligados de extractos de soca de maíz

Extracto	Flavonoides totales (mg EQ/g ES)
Etanólico	3.98 ± 0.19 ^b
Acuoso	3.04 ± 0.11 ^b
Sin fermentar	4.05 ± 0.80 ^b
Fermentado	12.80 ± 2.08 ^a

EQ: Equivalentes de quercetina; ES: Extracto seco

a,b: Letras diferentes muestran significancia estadística ($p < 0.05$), según la prueba de Tukey. Los resultados muestran la media ± DE de tres réplicas ($n=3$).

6.3.4 Capacidad Reductora Total

La capacidad reductora total de extractos de soca de maíz está directamente afectada por el tipo de extracción, donde el tipo de solvente, la temperatura y la actividad enzimática son los factores más significantes en la obtención del poder reductor total. Los **Cuadros 9 y 10** muestran los resultados de capacidad reductora total de los distintos extractos (etanólico, acuoso, sin fermentar y

fermentado); donde las unidades en las que se reportan son miligramos equivalentes de ácido gálico/g de extracto seco (mg EAG/g ES).

6.3.4.1. Capacidad reductora total libres. En el **Cuadro 9** se puede apreciar que el extracto sin fermentar es el que mayor capacidad reductora total tiene, mientras que el extracto acuoso es el que menores valores muestra. El extracto etanólico fue superior al acuoso gracias a la afinidad que tiene de extraer compuestos bioactivos de diferentes polaridades, lo que enriquece su capacidad reductora (Lao y Giusti, 2018; Lee *et al.*, 2014; Mohsen y Ammar, 2009; Smuda *et al.*, 2018; Vijayalaxmi *et al.*, 2015). Sin embargo, el tratamiento sin fermentar aumenta considerablemente la capacidad reductora por encima del extracto etanólico, esto debido a las altas temperaturas a la que esta sometido este extracto (121 °C), a la cual se incrementa la liberación de los compuestos de la soca de maíz que están enlazados a los carbohidratos (Kim y Mazza, 2009). Entre el tratamiento sin fermentar y el fermentado hay una disminución tras la fermentación, esto debido a que *L. plantarum* puede estar metabolizando ácidos fenólicos mediante enzimas como PadA descarboxilasa/reductasa, reductasas y descarboxilasas, produciendo moléculas del tipo fenoles sin el ácido carboxílico o sin su doble enlace como catecol, pirogalol, ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico), 4-vinil guayacol/4-etil guayacol, 4-vinil catecol/4-etil catecol y 4-vinil fenol/4-etil fenol, entre otros (Hunaefi *et al.*, 2013).

El efecto del pH juega un papel muy importante en la capacidad reductora total, ya que algunos de los compuestos fenólicos como ácidos y flavonoides tienden a hidrolizarse en presencia de un medio con pH bajos; el cual se produce en la fermentación con *L. plantarum* por la producción de ácido láctico, logrando disminuir el pH alrededor de los 3.60 (Wang *et al.*, 2019).

Cuadro 9. Capacidad reductora total libre de extractos de soca de maíz

Extracto	Capacidad reductora total (mg EAG/g ES)
Etanólico	21.65 ± 1.19 ^c
Acuoso	1.63 ± 0.94 ^d
Sin fermentar	41.77 ± 1.78 ^a
Fermentado	31.33 ± 1.64 ^b

EAG: Equivalentes de ácido gálico; ES: Extracto seco

a,b,c,d: Letras diferentes muestran significancia estadística (p<0.05), según la prueba de Tukey. Los resultados muestran la media ± DE de tres réplicas (n=3).

6.3.4.2. Capacidad reductora total ligados. La capacidad reductora total ligados son todos aquellos compuestos en general que aportan poder reductor que no se liberaron en la extracción líquida y quedaron enlazados a la red que conforma a la pared celular (pellet). Para liberar a estos compuestos se necesitan hidrólisis fuertes como la alcalina descrita anteriormente. En el **Cuadro 10**, se logra observar que al igual que los flavonoides ligados, para todos los tratamientos excepto el fermentado, la capacidad reductora total no presenta diferencias significativas, se observa que solo el aumento de molaridad de NaOH cambia en la extracción de compuestos fenólicos ligados, lo que afecta directo a la capacidad reductora, y dado que en esta extracción ligada se manejó una misma metodología para todos los tratamientos, que fue con NaOH 2 M, resulta lógico que los tratamientos que no involucran a la fermentación tengan similar capacidad reductora total (Melini y Acquistucci, 2017).

La capacidad reductora total del extracto durante la fermentación es mayor que el resto de los extractos, esta diferencia se puede deber a que dentro de la pared celular existen enlazados moléculas como celulosa, hemicelulosa, lignina, proteínas, pectinas, entre otros; pero cuando se aplica una fermentación con *L. plantarum*, el cual posee enzimas extracelulares como las proteasas que son capaces de hidrolizar a las proteínas, lo que facilita a una liberación de compuestos bioactivos que estaban unidos a dichas proteínas, los cuales aumentan el poder reductor del extracto fermentado (Fang *et al.*, 2012). *L. plantarum*, además de las mencionadas proteasas, puede producir enzimas como celulasas, xilanasas y β -glucosidasas, lo que tras la fermentación de un sustrato vegetal, liberan a los compuestos bioactivos que estan enlazados en la pared celular mediante la hidrólisis de las macromoléculas que unen fuertemente a los compuestos bioactivos (De Villa *et al.*, 2021).

Cuadro 10. Capacidad reductora total ligados de extractos de soca de maíz

Extracto	Capacidad reductora total (mg EAG/g ES)
Etanólico	51.36 ± 2.98 ^b
Acuoso	58.18 ± 8.59 ^b
Sin fermentar	58.53 ± 14.53 ^b
Fermentado	186.97 ± 21.72 ^a

EAG: Equivalentes de ácido gálico; ES: Extracto seco

a,b: Letras diferentes muestran significancia estadística ($p < 0.05$), según la prueba de Tukey. Los resultados muestran la media ± DE de tres réplicas (n=3).

6.3.5 Perfil de Ácidos Fenólicos

Los ácidos fenólicos son uno de los grupos más importantes y abundantes en los materiales vegetales lignificados, tal como los compuestos bioactivos que se encuentran en la soca de maíz. Estos ácidos están presentes tanto en el extracto libre como en el ligado. Los **Cuadros 11 y 12** muestran algunos de los principales ácidos fenólicos presentes en la soca de maíz de los distintos extractos (etanólico, acuoso, sin fermentar y fermentado); donde la cuantificación se reporta en microgramos/g de extracto seco ($\mu\text{g/g ES}$). Algunos de los ácidos fenólicos más abundantes en la soca de maíz son: ácido cumárico, ferúlico, gálico, quínico y clorogénico.

6.3.5.1 Perfil de ácidos fenólicos libres. En **Cuadro 11** se puede apreciar que de los seis ácidos fenólicos evaluados, solo cuatro fueron detectados en la fracción libre, de los cuales el ácido clorogénico y cafeico no fueron detectados en ninguna de las muestras. Nuestros resultados muestran que cada ácido se comporta de manera diferente según las condiciones de extracción y distintos tratamientos. En el caso del ácido cumárico, solo se detecta en el extracto acuoso y sin fermentar. Se puede decir que el aumento de la temperatura favorece la extracción de ácido cumárico, esto también reportado por Gao *et al.* (2019), donde el esterilizar jugo de *Momordica charantia* aumenta considerablemente la concentración de ácido cumárico. A su vez, al someterse a la fermentación con *L. plantarum*, dicha concentración disminuye drásticamente, lo que indica que la bacteria lo está utilizando para su metabolismo. Esto podría sugerir que *L. plantarum* bajo condiciones de estrés por falta de sustratos principales como carbohidratos puede crecer utilizando como sustrato al ácido cumárico, ocurriendo una biotransformación explicado por las enzimas descarboxilasas de ácido fenólico y ácido fenólico reductasa. Dichas enzimas bioconvierten al ácido cumárico en fenoles menos tóxicos para la bacteria, siendo el producto final de estas dos rutas metabólicas la obtención de 4-etilfenol e intermediarios como-vinilfenol y ácido florético (Barthelmebs *et al.*, 2000; Filannino *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.*, 2008).

En el caso del ácido ferúlico, este se disminuye hasta 5 veces tras la esterilización en el tratamiento sin fermental en relación con el extracto acuoso (**Cuadro 11**). Por otro lado, tras la fermentación, el contenido de ácido ferúlico aumenta con respecto al tratamiento sin fermentar. Esto también es

explicado por lo reportado por Hole *et al.* (2012), donde el fermentar granos como avena y cebada con probióticos incluidos *L. plantarum*, el ácido ferúlico se disminuye tras la esterilización, siendo el extracto acuoso muy superior en la obtención de ácido ferúlico, además que tras la fermentación se aumenta la obtención de ácido ferúlico. Esto podría deberse a que el ácido ferúlico se puede estar degradando con el aumento de la temperatura de extracción y que tras la fermentación, la acción de la enzima feruloil esterasa presente en *L. plantarum* sea la causante de la liberación del ácido ferúlico (Hole *et al.*, 2012).

En el caso del ácido gálico se observa el mismo comportamiento que en ácido ferúlico, donde el extracto acuoso extrae gran cantidad de este ácido, sin embargo, al someterlo a altas temperaturas de esterilización se disminuye significativamente ($p < 0.05$) la cantidad de ácido; por otro lado, tras la fermentación, la concentración de ácido gálico se incrementa hasta alcanzar la misma cantidad que el extracto acuoso. Esto último, está reportado por Gao *et al.* (2019), donde tras la fermentación de jugo de *Momordica charantia* con *L. plantarum*, el contenido de ácido gálico se incrementa, mientras que en el tratamiento esterilizado no se alcanza a detectar ácido gálico y tras la fermentación se logra extraer este ácido. Este aumento en ácido gálico tras la fermentación se debe a que *L. plantarum* posee enzimas degradadoras de taninos como las tanasas, las cuales degradan a los galotaninos por despolimerización, catalizando la hidrólisis de los enlaces tipo éster que están presentes en los taninos hidrolizables, lo cual produce como intermediarios a moléculas monoméricas de ácido gálico (Gao *et al.*, 2019).

En el último ácido fenólico detectado (ácido quínico) ocurre algo similar como lo ocurrido con ácido ferúlico y gálico, donde el extracto acuoso es el que logra la mayor extracción de este ácido, siendo sensible al aumento de la temperatura tras la esterilización y aumentando la concentración tras la fermentación. La disminución por acción de la temperatura se reporta en Sadaka y García (1999), donde al aumentar gradualmente la temperatura, la concentración de ácido quínico se ve reducida considerablemente. El aumento de ácido quínico tras un proceso fermentativo está reportado por Ye *et al.* (2014), donde el fermentar jugo de manzana para producir sidra, hay un aumento de más del doble en la concentración de ácido quínico después de 84 h de fermentación. En el caso de la fermentación de *Oenanthe javanica* con *L. plantarum*, tras la fermentación se mejora la extracción de ácido quínico, debido a la bioconversión del ácido clorogénico en quínico (Gam *et al.*, 2022).

Cuadro 11. Perfil de ácidos fenólicos libres en extractos de soca de maíz

Ácidos fenólicos (µg/g ES)	Extracto			
	Etanólico	Acuoso	Sin fermentar	Fermentado
Cumárico	Nd	1.544 ± 1.14 ^b	110.747 ± 16.43 ^a	Nd
Ferúlico	970.53 ± 14.20 ^b	1500.77 ± 13.58 ^a	304.06 ± 4.99 ^d	355.09 ± 3.10 ^c
Gálico	Nd	37.66 ± 4.75 ^a	2.63 ± 1.25 ^b	32.04 ± 0.93 ^a
Quínico	132.19 ± 6.68 ^c	202.76 ± 6.20 ^a	82.60 ± 11.94 ^d	162.24 ± 5.95 ^b

ES: Extracto seco; Nd: No detectado

a,b,c,d: Letras diferentes muestran significancia estadística ($p < 0.05$), según la prueba de Tukey. Los resultados muestran la media ± DE de tres réplicas ($n=3$).

6.3.5.2 Perfil de ácidos fenólicos ligados. En **Cuadro 12** se muestra que de los seis ácidos fenólicos evaluados, solo el ácido cafeico no fue detectado. Nuestros resultados muestran que el contenido de ácidos fenólicos depende de las condiciones de extracción, donde todos los ácidos se disminuyen tras el aumento de la temperatura por la esterilización de la soca, y todos aumentan tras la fermentación con *L. plantarum* excepto el ácido gálico.

Este aumento de ácidos fenólicos se debe a que la fermentación produce una serie de actividades metabólicas, como actividad de enzimas hidrolasas, reductasas, esterasas, descarboxilasas, β-glucosidasas, entre otras, las cuales hidrolizan elementos de la pared celular, mediante los cuales estos ácidos fenólicos están unidos (Adebo y Medina-Meza, 2020).

Para los casos del ácido cumárico y ferúlico, el extracto sin fermentar es el menor de todos lo que indica que son afectados por las altas temperaturas y en la fermentación hay un incremento mayor que el extracto acuoso, lo que indica que la fermentación favorece la extracción de estos ácidos liberándolos de la pared celular. Esto también es observado por Hole *et al.* (2012), donde después de la fermentación de granos de avena y cebada con *L. plantarum*, los ácidos fenólicos ligados aumentan en total, siendo uno de los que mayor aumenta el ácido ferúlico y el ácido cumárico. Esta mayor extracción puede deberse a una mayor cantidad de fibra soluble superior a la insoluble, donde esto puede ser gracias a la acción de algunas enzimas que hidrolizan polisacáridos como la celulasas, hemicelulasas y xylasas; lo que conlleva a que enzimas como la feruloil esterasas y β-glucosidasas, sean más efectivas para la liberación de ácidos fenólicos cuando estos están mayormente en fibra soluble que insoluble (Hole *et al.*, 2012).

Por otro lado, la disminución de ácido gálico ligado tras la fermentación ha sido reportada por De pasquale *et al.* (2021), esto coincide con lo obtenido en este estudio en la fracción libre (**Cuadro**

11), donde el ácido gálico, tras la fermentación, aumentó hasta 12 veces, por lo que ocurrió una gran liberación de los taninos por acción de las tanasas, por lo que, para la fracción ligada, estos taninos disminuyeron en gran medida, en consecuencia, es menor la cantidad de ácido gálico que queda ligado, tras lo ya mencionado.

Cuadro 12. Perfil de ácidos fenólicos ligados en extractos de soca de maíz

Ácidos fenólicos ($\mu\text{g/g ES}$)	Extracto			
	Etanólico	Acuoso	Sin fermentar	Fermentado
Cumárico	204.276 \pm 24.59 ^b	332.318 \pm 14.4 ^a	87.967 \pm 4.34 ^c	378.985 \pm 56.02 ^a
Ferúlico	2780.97 \pm 42.13 ^c	3471.01 \pm 127.67 ^b	938.4 \pm 368.7 ^d	5007.77 \pm 143.15 ^a
Gálico	0.959 \pm 0.15 ^c	2.429 \pm 0.20 ^a	1.187 \pm 0.26 ^c	1.820 \pm 0.10 ^b
Quínico	13.474 \pm 0.23 ^c	16.949 \pm 1.77 ^b	7.779 \pm 1.74 ^d	21.661 \pm 0.53 ^a
Clorogénico	32.780 \pm 9.96 ^a	Nd	Nd	37.331 \pm 13.76 ^a

ES: Extracto seco; Nd: No detectado

a,b,c,d: Letras diferentes muestran significancia estadística ($p < 0.05$), según la prueba de Tukey. Los resultados muestran la media \pm DE de tres réplicas ($n=3$).

6.3.6 Perfil de Flavonoides

Los flavonoides son una parte importante en el aumento de la capacidad antioxidante y contribuyen a la composición de compuestos fenólicos en soca de maíz. Estos flavonoides al igual que los ácidos fenólicos, están presentes tanto en el extracto libre como en el ligado. El **Cuadro 13**, muestra algunos de los principales flavonoides presentes en la soca de maíz de los distintos extractos (etanólico, acuoso, sin fermentar y fermentado); donde la cuantificación se reporta en microgramos/g de extracto seco ($\mu\text{g/g ES}$). Alguno de estos flavonoides están en forma glicosilada y aglicona donde los más importantes en soca de maiz son: luteolina, quercetina, apigenina, naringenina y sus glucósidos, entre otros.

6.3.6.1. Perfil de flavonoides libres. En **Cuadro 13** se puede observar los flavonoides analizados en la fracción libre, en donde se observa que cada flavonoide se comporta de manera diferente

según las condiciones de extracción y distintos tratamientos. Esto puede deberse a que el etanol tiene más afinidad hacia la estructura molecular de los flavonoides. Lee *et al.* (2014), comparan la extracción de flavonoides de cáscara de cebolla con etanol y agua, resultando en una mayor extracción de flavonoides, principalmente quercetina y kaempferol, los cuales son más solubles en etanol que en agua. Otros estudios realizados en residuos de cereales como el trigo, maíz y arroz, en todos los casos, obtuvieron que el extracto etanólico presentó la mayor cantidad de flavonoides totales en todas las partes analizadas (germen, cáscara y salvado) (Smuda *et al.*, 2018).

Algunos flavonoides se extraen en mayor cantidad si se aplica un tratamiento térmico como en el extracto sin fermentar (**Cuadro 13**), donde podemos observar que los flavonoides glicosilados como luteolina-7-glucósido, naringina, mangiferina y rutina, les favorece el aumento de la temperatura. Esto puede ser debido a que los flavonoides glicosilados son más estables térmicamente, lo que está relacionado a que las moléculas de carbohidratos unidas le proporcionan estabilidad química y térmica. Sin embargo, los flavonoides agliconas como quercetina, apigenina, naringenina, genisteína y formononetina, son sensibles al aumento de la temperatura; las cuales se ha reportado que se pueden degradar a moléculas más simples como los ácidos fenólicos o chalconas (Chaaban *et al.*, 2017).

Por último, el extracto fermentado, al igual que los anteriores, depende mucho del tipo de flavonoide, sin embargo, son pocos los flavonoides que se incrementan tras la fermentación, siendo quercetina, quercetina-3-O-rhamnósidos, apigenina-8-O-glucósido y hespiridina, los únicos que se incrementan; por otro lado, son más los flavonoides que se disminuyen. Esto puede deberse a que la fermentación con *L. plantarum* degrada o bioconvierte los flavonoides por acción metabólica (Hunaefi *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2021c; Myo *et al.*, 2021; Ru *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2020). Tal es el caso de rutina, donde se ha reportado que tras la fermentación de jugo de manzana con *L. plantarum*, la concentración de este flavonoide disminuye, esto puede deberse a que rutina es un flavonoide glicosilado, el cual puede estar siendo utilizado como sustrato por las bacterias ácido lácticas y metabolizado por enzimas como la β -glucosidasa, podrían hidrolizar el grupo glicósido, liberando o produciendo quercetina aglicona (**Cuadro 13**) (Curiel *et al.*, 2015). Además, en el extracto fermentado no se detectó y disminuyó naringenina y luteolina respectivamente. Esta disminución también se reporta por Xu *et al.* (2020), donde al fermentar *Onobrychis viciifolia* con *L. plantarum*, ocurre una diversidad de biotransformaciones de muchos flavonoides, destacando que naringenina y luteolina disminuyen.

Cuadro 13. Perfil de flavonoides libres en extractos de soca de maíz

Flavonoides ($\mu\text{g/g ES}$)	Extracto			
	Etanólico	Acuoso	Sin fermentar	Fermentado
Luteolina-7-glucósido	1.52 ± 0.06^a	0.013 ± 0.004^c	0.355 ± 0.070^b	0.079 ± 0.044^c
Luteolina	0.077 ± 0.094^a	0.004 ± 0.004^c	0.098 ± 0.035^b	0.032 ± 0.002^c
Quercetina-3-O-rhamnósido	0.324 ± 0.269^a	0.024 ± 0.010^b	0.014 ± 0.000^c	0.036 ± 0.032^b
Quercetina	1.120 ± 0.985^a	0.049 ± 0.000^c	0.024 ± 0.001^c	0.077 ± 0.001^b
Apigenina-8-O-glucósido	0.455 ± 0.464^d	20.768 ± 0.545^a	4.895 ± 0.056^c	6.746 ± 3.839^b
Apigenina	0.699 ± 0.238^a	0.304 ± 0.054^b	0.006 ± 0.001^c	0.003 ± 0.000^c
Naringina	0.279 ± 0.046^c	0.388 ± 0.051^b	0.740 ± 0.022^a	0.728 ± 0.087^a
Naringenina	72.197 ± 5.252^a	3.708 ± 0.256^b	0.326 ± 0.029^c	Nd
Mangiferina	0.276 ± 0.011^a	0.065 ± 0.007^b	0.299 ± 0.076^a	0.206 ± 0.039^b
Rutina	13.054 ± 0.256^a	0.021 ± 0.006^c	0.298 ± 0.104^b	0.052 ± 0.060^c
Hesperidina	4.232 ± 0.356^a	0.173 ± 0.004^b	0.051 ± 0.080^c	4.227 ± 0.018^a
Genisteína	0.007 ± 0.000^b	0.039 ± 0.001^a	0.002 ± 0.003^b	Nd
Formononetina	0.089 ± 0.102^a	0.032 ± 0.034^b	0.008 ± 0.002^c	0.015 ± 0.001^c
Floridzina	45.11 ± 20.04^a	Nd	Nd	Nd
Kaempferol	0.253 ± 0.096^a	Nd	0.158 ± 0.016^b	Nd

ES: Extracto seco; Nd: No detectado

a,b,c,d: Letras diferentes muestran significancia estadística ($p < 0.05$), según la prueba de Tukey. Los resultados muestran la media \pm DE de tres réplicas ($n=3$).

6.3.6.2. Perfil de flavonoides ligados. En el **Cuadro 14** se muestran los flavonoides de la fracción ligada. Analizando las concentraciones de flavonoides en cada tipo de extracto, se observa que cada flavonoide se comporta de manera diferente según las condiciones de extracción, donde la mayoría de los flavonoides se aumentan tras la fermentación con *L. plantarum*, lo que coincide con los flavonoides totales ligados. Los flavonoides que se ven incrementados tras la fermentación con *L. plantarum* son: quercetina, apigenina-8-O-glucósido, apigenina, naringina, naringenina, mangiferina, genisteína y kaempferol. Los flavonoides que se ven disminuidos tras la fermentación son: quercetina-3-O-rhamnósido, luteolina-7-glucósido, hesperidina, formononetina, floridzina.

Este aumento de los flavonoides se debe a que la fermentación mejora la obtención de estos metabolitos en consecuencia del metabolismo de las bacterias ácido lácticas, donde las enzimas producidas metabolizan elementos de la pared celular, liberando o desglicosilando a los flavonoides que están fuertemente unidos a macromoléculas como las proteínas, pectinas, celulosa, hemicelulosa, entre otras; esto mediante la acción de enzimas extracelulares que genera *L.*

plantarum como celulasas, tanasas, peptidasas, proteasas, xylasas, β -glucosidasas, entre otras (De Villa *et al.*, 2021; Fang *et al.*, 2012). La suma de la actividad de estas enzimas conlleva a una serie de beneficios para extraer flavonoides ligados, donde el incremento de extracción tras la fermentación y síntesis de nuevos compuestos bioactivos, son dos de las ventajas de fermentar soca de maíz con *L. plantarum* (Adebo y Medina-Meza, 2020). En resumen, la disminución de algunos flavonoides como los ya mencionados, son de naturaleza glicosilados, por lo que se asume que durante la fermentación, la acción de las enzimas β -glucosidasas hidrolizaron los carbohidratos unidos a los flavonoides, con lo que se produjeron agliconas, disminuyendo la concentración de estos flavonoides glicosilados (Adebo y Medina-Meza, 2020).

Cuadro 14. Perfil de flavonoides ligados en extractos de soca de maíz

Flavonoides ($\mu\text{g/g ES}$)	Extracto			
	Etanólico	Acuoso	Sin fermentar	Fermentado
Luteolina-7- glucósido	0.537 \pm 0.180 ^b	0.217 \pm 0.058 ^c	0.922 \pm 0.371 ^a	0.428 \pm 0.275 ^b
Luteolina	1.050 \pm 0.260 ^a	0.605 \pm 0.277 ^b	0.744 \pm 0.045 ^b	0.671 \pm 0.037 ^b
Quercetina-3- O-rhamnósido	0.019 \pm 0.005 ^a	0.015 \pm 0.009 ^a	0.014 \pm 0.002 ^a	Nd
Quercetina	5.230 \pm 1.235 ^a	0.339 \pm 0.186 ^c	2.026 \pm 0.385 ^b	5.841 \pm 0.265 ^a
Apigenina-8-O- glucósido	1.944 \pm 0.193 ^c	4.311 \pm 0.327 ^b	1.451 \pm 0.101 ^c	7.709 \pm 3.504 ^a
Apigenina	1.568 \pm 0.894 ^b	0.712 \pm 0.285 ^c	0.891 \pm 0.070 ^c	3.877 \pm 0.953 ^a
Naringina	0.231 \pm 0.029 ^b	0.053 \pm 0.032 ^c	0.057 \pm 0.004 ^c	0.794 \pm 0.089 ^a
Naringenina	21.503 \pm 5.726 ^b	16.753 \pm 4.592 ^c	13.847 \pm 1.617 ^d	36.565 \pm 7.200 ^a
Mangiferina	0.135 \pm 0.021 ^a	0.134 \pm 0.014 ^a	0.055 \pm 0.002 ^c	0.099 \pm 0.032 ^b
Rutina	Nd	Nd	Nd	Nd
Hesperidina	0.171 \pm 0.013 ^a	0.065 \pm 0.014 ^b	0.023 \pm 0.009 ^c	Nd
Genisteína	0.945 \pm 0.438 ^b	0.235 \pm 0.041 ^c	0.228 \pm 0.056 ^c	1.875 \pm 0.192 ^a
Formononetina	0.054 \pm 0.017 ^b	0.006 \pm 0.002 ^c	0.232 \pm 0.041 ^a	0.008 \pm 0.002 ^c
Floridzina	Nd	Nd	1.318 \pm 0.254 ^a	Nd
Kaempferol	0.269 \pm 0.010 ^b	0.178 \pm 0.015 ^c	0.143 \pm 0.029 ^c	0.345 \pm 0.069 ^a

ES: Extracto seco; Nd: No detectado

a,b,c,d: Letras diferentes muestran significancia estadística ($p < 0.05$), según la prueba de Tukey. Los resultados muestran la media \pm DE de tres réplicas ($n=3$).

6.3.7. Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante de extractos de soca de maíz se define como que tan eficientes son los antioxidantes de dicha soca contra el daño oxidativo. Existen dos tipos de mecanismos principales, uno por transferencia de electrones, donde los compuestos bioactivos tienen la capacidad de donar pares de electrones para estabilizar a los radicales libres con electrones desapareados y el otro mecanismo es por transferencia de protones, donde los compuestos bioactivos donan los iones hidrógeno para estabilizar a los radicales libres como los radicales oxigenados. Estas capacidades están directamente afectadas por el tipo de extracción, donde el tipo de solvente, la temperatura y la actividad enzimática son los factores más significantes en la obtención de todo el potencial antioxidante, esto debido a que cada condición de extracción, extrae diferentes cantidades y grupos de compuestos bioactivos.

En el **Cuadro 15** se muestran los resultados de capacidad antioxidante de los distintos extractos (etanólico, acuoso, sin fermentar y fermentado) y distintos métodos de capacidad antioxidante (DPPH, ABTS, ORAC y FRAP); donde las unidades en las que se reportan son milimoles equivalentes de Trolox/gramo de extracto seco (mmol ET/g ES).

6.3.7.1 Capacidad antioxidante libres. En el **Cuadro 15** se puede observar que el extracto menos antioxidante es el etanólico, seguido del acuoso, sin fermentar y por último, el más antioxidante es el extracto fermentado; donde esto se repite en todos los métodos de capacidad antioxidante. El extracto acuoso es superior a el etanol. Esto puede ser debido a los ácidos fenólicos sobre todo el ácido ferúlico, gálico y quínico, ya que estos ácidos fenólicos son más abundantes en el extracto acuoso, destacando al ácido ferúlico como el más abundante. Esto se puede contrastar con lo reportado por Smuda *et al.* (2018), donde reportan que extractos de subproductos de arroz con diferentes solventes de extracción, tienen diferente contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante; en el caso de etanol, es el extracto que más compuestos fenólicos totales presentó. Sin embargo, en la capacidad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS, el extracto acuoso es superior en el porcentaje de inhibición del radical que el extracto etanólico.

El extracto sin fermentar, es superior al extracto acuoso en los cuatro métodos de capacidad

antioxidante, lo cual pudiera estar asociado al alto aumento en la capacidad reductora total, siendo el extracto sin fermentar, el que mayor capacidad reductora posee de todos los tratamientos. Este aumento se puede deber a las altas temperaturas de esterilización de este tratamiento (121 °C), donde esta temperatura incrementa el poder extractivo del agua por aumento de una mayor transferencia de masa y una mayor hidrólisis acuosa. Esto, ya que por lo general, los compuestos de la soca de maíz están fuertemente enlazados a los carbohidratos, lo que con temperatura alta se facilita la extracción o hidrólisis de estos compuestos bioactivos (Kim y Mazza, 2009).

El extracto fermentado fue superior en capacidad antioxidantes por todos los métodos, esto puede estar asociado con el aumento de algunos compuestos fenólicos de tipo agliconas. Lo anterior es debido a que, si comparamos el resto de los análisis, el extracto fermentado tuvo menor contenido de saponinas, alcaloides, capacidad reductora total y flavonoides totales, por lo que una de las razones es que puede estar asociado a la acción de enzimas como la β -glucosidasa, donde los flavonoides y ácidos fenólicos glicosilados, saponinas y glicoalcaloides, entre otros compuestos glicosilados, son hidrolizados, logrando obtener compuestos agliconas, los cuales son más bioactivas (Chien *et al.*, 2006; Curiel *et al.*, 2015; Gao *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2021a; Li *et al.*, 2021b; Mazlan *et al.*, 2015; Tian *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2022; Ye *et al.*, 2014).

Al igual que lo observado en este estudio, se ha reportado que la fermentación aumenta la capacidad antioxidante en la mayoría de los estudios donde se emplea fermentación con *L. plantarum*; lo cual se puede deber a una bioconversión o degradación de los compuestos bioactivos a moléculas más simples pero más bioactivas por acción metabólica de *L. plantarum* (Hunaefi *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2021b; Myo *et al.*, 2021; Ru *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2020). Como producto del metabolismo de *L. plantarum*, algunos flavonoides pueden degradarse y convertirse en unidades de ácidos fenólicos como el ácido gálico, homogentísico, siríngico, entre otros (Ávila *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2021c). Además de ácidos fenólicos, la bioconversión de flavonoides por acción metabólica de los microorganismos puede desencadenar en la producción de chalconas, mismas que tampoco se detectaron en el perfil de compuestos fenólicos (Huynh *et al.*, 2014).

Cuadro 15. Capacidad antioxidante libres de extractos de soca de maíz

Extracto	Capacidad antioxidante (mmol ET/g ES)			
	ABTS	DPPH	ORAC	FRAP
Etanólico	0.065 ± 0.006 ^d	0.007 ± 0.003 ^d	0.005 ± 0.001 ^c	0.009 ± 0.003 ^d
Acuoso	0.180 ± 0.002 ^c	0.279 ± 0.009 ^c	0.149 ± 0.066 ^b	0.068 ± 0.005 ^c
Sin fermentar	0.261 ± 0.014 ^b	0.652 ± 0.009 ^b	0.939 ± 0.058 ^a	0.128 ± 0.003 ^b
Fermentado	0.302 ± 0.001 ^a	0.986 ± 0.048 ^a	0.951 ± 0.041 ^a	0.148 ± 0.004 ^a

ET: Equivalente de Trolox; ES: Extracto seco

a,b,c,d: Letras diferentes muestran significancia estadística entre los extractos ($p < 0.05$), según la prueba de Tukey. Los resultados muestran la media ± DE de tres réplicas ($n=3$).

6.3.7.2 Capacidad antioxidante ligados. La capacidad antioxidante de la fracción de compuestos ligados es la suma de todo el potencial que los compuestos fenólicos enlazados a la pared celular (pellet) para inhibir a los radicales libres.

Al igual que para los flavonoides totales ligados y capacidad reductora total ligados, todos tratamientos evaluados con los distintos métodos de capacidad antioxidante siguen el mismo comportamiento, excepto el fermentado. La capacidad antioxidante por los distintos métodos del extracto fermentado resulta muy superior al resto de los extractos (**Cuadro 16**). Dicha diferencia entre el fermentado y los otros tratamientos, se puede deber a la fuerte interacción que tienen las enzimas producidas por *L. plantarum*, las cuales hidrolizan a las grandes macromoléculas de la pared celular como las proteínas, celulosa, hemicelulosa, lignina y pectinasa, liberando a los compuestos bioactivos que están entrelazados y generando moléculas más simples de estas macromoléculas como los oligosacáridos, péptidos, aminoácidos, ácidos fenólicos; lo que a su vez incrementa en gran medida la capacidad antioxidante (Adebo y Medina-Meza, 2020; De Villa *et al.*, 2021; Fang *et al.*, 2012).

Lo anterior mencionado se puede contrastar con los perfiles de flavonoides y ácidos fenólicos ligados (**Cuadro 12 y 14**), donde se puede observar que hay un aumento en la mayoría en todos los ácidos fenólicos excepto en gálico. Sin embargo, el ácido más predominante en la fracción ligada es el ácido ferúlico, lo cual pudiera estar asociado con la alta capacidad antioxidante. En el caso de los flavonoides, observamos que la mayoría aumentan tras la fermentación, destacando a naringenina, con una alta concentración presente en la fracción ligada, además de otros flavonoides como quercetina, apigenina, genisteína y kaempferol, donde dichas agliconas son más bioactivas que sus glicosiladas. La hidrólisis de glicosilados a agliconas no solo ocurre con los flavonoides, sino también en saponinas, glicoalcaloides y ácidos fenólicos entre otros. Lo cual, se debe a la

previa acción ya mencionada de las enzimas degradadoras de las grandes macromoléculas, seguida de la acción de enzimas como β -glucosidasa, feruloil esterasa, entre otras, liberan de los carbohidratos a los compuestos bioactivos en su forma aglicona (Adebo y Medina-Meza, 2020; Hole *et al.*, 2012).

Cuadro 16. Capacidad antioxidante ligados de extractos de soca de maíz

Extracto	Capacidad antioxidante (mmol ET/g ES)			
	ABTS	DPPH	ORAC	FRAP
Etanólico	0.328 ± 0.029 ^b	0.31 ± 0.04 ^b	1.16 ± 0.02 ^b	0.173 ± 0.004 ^b
Acuoso	0.281 ± 0.002 ^b	0.30 ± 0.01 ^b	1.18 ± 0.26 ^b	0.202 ± 0.015 ^b
Sin fermentar	0.318 ± 0.028 ^b	0.26 ± 0.04 ^b	0.95 ± 0.25 ^b	0.136 ± 0.049 ^b
Fermentado	0.771 ± 0.040 ^a	1.17 ± 0.08 ^a	3.74 ± 0.35 ^a	0.649 ± 0.086 ^a

ET: Equivalente de trolox; ES: Extracto seco

a,b: Letras diferentes muestran significancia estadística ($p < 0.05$), según la prueba de Tukey. Los resultados muestran la media ± DE de tres réplicas (n=3).

7. CONCLUSIONES

1. Se optimizaron las condiciones del proceso de fermentación láctica de soca de maíz para la maximización de la capacidad antioxidante (ABTS y ORAC). La mejor combinación de las variables de proceso (tiempo, relación sólido/líquido, temperatura) fue de 33.58 h, 9.5 mg/mL y 28.6 °C; en donde se estimaron los valores de capacidad antioxidante de 0.957 y 0.315 mmol ET/g ES para la capacidad antioxidante ORAC y ABTS, respectivamente. La fermentación láctica de soca de maíz bajo las mejores condiciones de proceso tuvo 0.9507 ± 0.0408 y 0.2986 ± 0.0049 mmol ET/g ES para ORAC y ABTS, respectivamente, donde estos valores son similares a los predichos, indicando que los modelos de predicción para estas dos variables de respuesta fueron adecuados y reproducibles.
2. Se evaluó el contenido de compuestos bioactivos libres y ligados de distintos extractos de soca de maíz, donde los principales grupos de compuestos fueron saponinas, alcaloides, ácidos fenólicos y flavonoides.
3. Se evaluó el perfil cromatográfico (UPLC-MS) de ácidos fenólicos y flavonoides de distintos extractos de soca de maíz, encontrando que los ácidos fenólicos más abundantes son el ácido cumárico, ferúlico, gálico y quínico; y flavonoides como luteolina-7-O-glucósido, luteolina, quercetina-3-O-rhamnósido, quercetina, apigenina-8-O-glucósido, apigenina, naringina, naringenina, mangiferina, rutina, hesperidina, genisteína, formononetina y kaempferol.
4. Se evaluó la capacidad antioxidante por distintos métodos (ORAC, DPPH, ABTS y FRAP) de extractos de soca de maíz, destacando que el extracto fermentado es superior en todos los métodos.

8. RECOMENDACIONES

- Evaluar estos extractos en aplicaciones biológicas como actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, antiproliferativa y efecto inmunomodulador, entre otras.
- Realizar un perfil de saponinas, alcaloides, péptidos y ácidos fenólicos glicosilados, entre otros grupos de compuestos, para tener mejor claridad de cuales son los compuestos bioactivos en particular los que aumentan en gran medida la capacidad antioxidante y el porqué unos análisis como saponinas totales, alcaloides totales, flavonoides totales, disminuyen pero se aumenta la capacidad antioxidante en el extracto fermentado.
- Realizar un fraccionamiento de los distintos grupos de compuestos bioactivos como flavonoides, ácidos fenólicos, saponinas, alcaloides, carotenoides, péptidos, oligosacáridos, para determinar que grupo de compuestos es el que aporta la mayor capacidad antioxidante y bioactiva.
- Evaluar la actividad enzimática del fermentado, ya que estas enzimas son las encargadas de aumentar o disminuir muchos grupos de compuestos y tras esta actividad metabólica se incrementa la capacidad antioxidante.
- Realizar una comparación entre fermentación con *L. plantarum* en estado sólido y sumergida en líquido.
- Realizar fermentaciones sin la esterilización y fermentación espontánea para comparación con los resultados ya obtenidos.
- Comparación de fermentación con otro tipo de microorganismos GRAS como algunos hongos y otras bacterias.
- Purificación de ácido ferúlico, ya que se encontró que tanto en la extracción acuosa libre, como en el extracto fermentado ligado es muy abundante.

9. REFERENCIAS

- Adebo O.A. y Medina-Meza G.I. (2020). Impact of Fermentation on the Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Whole Cereal Grains: A Mini Review. *Molecules*. 25(4):927.
- Ahmed H.M. (2018). Phytochemical screening, total phenolic content and phytotoxic activity of corn (*Zea mays*) extracts against some indicator species. *Natural Product Research*. 32(6):714-718.
- Ávila M., Hidalgo M., Sánchez-Moreno C., Pelaez C., Requena T. y Pascual-Teresa S. (2009). Bioconversion of anthocyanin glycosides by *Bifidobacteria* and *Lactobacillus*. *Food Research International*. 42(10):1453-1461.
- Ayed L. y Hamdi M. (2002). Culture conditions of tannase production by *Lactobacillus plantarum*. *Biotechnology Letters*. 24(21):1763-1765.
- Barthelmebs L., Divies C. y Cavin J.F. (2000). Knockout of the *p*-coumarate decarboxylase gene from *Lactobacillus plantarum* reveals the existence of two other inducible enzymatic activities involved in phenolic acid metabolism. *Applied and environmental microbiology*. 66(8):3368-3375.
- Bautista-Expósito S., Peñas E., Dueñas M., Silván J.M., Frias J. y Martínez-Villaluenga C. (2018). Individual contributions of Savinase and *Lactobacillus plantarum* to lentil functionalization during alkaline pH-controlled fermentation. *Food Chemistry*. 257:341-349.
- Chaaban H., Ioannou I., Chebil L., Slimane M., Gerardin C., Paris C., Charbonnel C., Chekir L. y Ghoul M. (2017). Effect of heat processing on thermal stability and antioxidant activity of six flavonoids. *Journal of Food Processing and Preservation*. 41(5).
- Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M. y Chern J.C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10:178-182.
- Chen X., Sun K.J., Zhuang K. y Ding W.P. (2022). Comparison and Optimization of Different Extraction Methods of Bound Phenolics from Jizi439 Black Wheat Bran. *Foods*. 11(10).
- Chien H.-L., Huang H.-Y. y Chou C.-C. (2006). Transformation of isoflavone phytoestrogens during the fermentation of soymilk with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology*. 23(8):772-778.
- Chirug L., Eran Nagar E., Okun Z. y Shpigelman A. (2021). Effect of flavonoid structure and pH on iron-mediated pectin interaction. *Food Hydrocolloids*. 116:106654.
- Choi W., Dong H., Jeong H., Ryu D., Song S., Kim Y., Jung H., Kim T. y Kim Y.-H. (2020). *Lactobacillus plantarum* LMT1-48 exerts anti-obesity effect in high-fat diet-induced obese mice by regulating expression of lipogenic genes. *Scientific Reports*. 10:869.
- Coral-Medina J.D., Woiciechowski A.L., Zandona-Filho A., Bissoqui L., Nosedá M.D., de Souza-Vandenberghe L.P., Zawadzki S.F. y Soccol C.R. (2016). Biological activities and thermal behavior of lignin from oil palm empty fruit bunches as potential source of chemicals of added value. *Industrial Crops and Products*. 94:630-637.

- Coulter J. (2009). Considerations for Corn Residue Harvest in Minnesota. Minnesota, EU. University of Minnesota. Recuperado de <https://extension.umn.edu/corn-planting/considerations-late-planted-corn-minnesota#sources-376910>.
- Cruz-Casillas F.C., García-Cayuela T. y Rodriguez-Martinez V. (2021). Application of Conventional and Non-Conventional Extraction Methods to Obtain Functional Ingredients from Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) Tissues and By-Products. 11(16):7303.
- Curiel J.A., Pinto D., Marzani B., Filannino P., Farris G.A., Gobbetti M. y Rizzello C.G. (2015). Lactic acid fermentation as a tool to enhance the antioxidant properties of *Myrtus communis* berries. Microbial cell factories. 14:67-67.
- De Pasquale I., Verni M., Verardo V., Gómez-Caravaca A.M. y Rizzello C.G. (2021). Nutritional and Functional Advantages of the Use of Fermented Black Chickpea Flour for Semolina-Pasta Fortification. Foods. 10(1).
- De Villa R., Roasa J., Mine Y. y Tsao R. (2021). Impact of solid-state fermentation on factors and mechanisms influencing the bioactive compounds of grains and processing by-products. Critical Reviews in Food Science and Nutrition:1-26.
- Dong X., Dong M., Lu Y., Turley A., Jin T. y Wu C. (2011). Antimicrobial and antioxidant activities of lignin from residue of corn stover to ethanol production. Industrial Crops and Products. 34(3):1629-1634.
- Dordevic T., Saric-Krsmanovic M. y Umiljendic J.G. (2019). Phenolic Compounds and Allelopathic Potential of Fermented and Unfermented Wheat and Corn Straw Extracts. Chemistry & Biodiversity. 16(2).
- El-Ghorab A., El-Massry K.F. y Shibamoto T. (2007). Chemical Composition of the Volatile Extract and Antioxidant Activities of the Volatile and Nonvolatile Extracts of Egyptian Corn Silk (*Zea mays* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55(22):9124-9127.
- Emmanuel S., Olutayo O., Abubakar S., Akiode O. y Godwin E.-U. (2016). Chemical Evaluation, Free Radical Scavenging Activities and Antimicrobial Evaluation of the Methanolic Extracts of Corn Silk (*Zea mays*). Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences. 9:1-8.
- Fang R., Leng X.J., Wu X., Li Q., Hao R.F., Ren F.Z. y Jing H. (2012). Intermolecular Hydrogen Bond between Protein and Flavonoid and Its Contribution to the Stability of the Flavonoids. Spectroscopy and Spectral Analysis. 32(1):108-112.
- FDA. (2019). Notice to US Food and Drug Administration of the Conclusion that the Intended Use of *Lactobacillus plantarum* ECGC 13110402 {LPLDL®} is Generally Recognized as Safe. Washington DC, EU. Food and Drug Administration. Recuperado de <https://www.fda.gov/media/134878/download>.
- Filannino P., Bai Y., Di Cagno R., Gobbetti M. y Gänzle M.G. (2015). Metabolism of phenolic compounds by *Lactobacillus* spp. during fermentation of cherry juice and broccoli puree. Food Microbiology. 46:272-279.
- Fuadi A.M., Mujiburohman M., Fatoni R., Chaniago Y.A. y Santiago A. (2018, Dec 12-13). *Acid Hidrolysis of Used Paper Using Microwave as Heating*. Paper presented at the 5th International Conference on Engineering, Technology, and Industrial Application (ICETIA),

Univ Muhammadiyah Surakarta, Fac Engn, Surakarta, INDONESIA.

- Galeana-López J.A., Hernández C., Leyva-López N., Lizárraga-Velázquez C.E., Sánchez-Gutiérrez E.Y. y Heredia J.B. (2020). Corn husk extracts as an antioxidant additive in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings: Effect on growth performance, feed intake and toxicity. *Biotecnia*. 22:147-154.
- Gam D.H., Park J.H., Kim S.H., Kang M.H., Kim S.B. y Kim J.W. (2022). Production of Bioactive Substances to Alleviates Hangover and Ethanol-Induced Liver Damage through Fermentation of *Oenanthe javanica* Using *Lactiplantibacillus plantarum*. 27(4):1175.
- Gao H., Wen J.-J., Hu J.-L., Nie Q.-X., Chen H.-H., Nie S.-P., Xiong T. y Xie M.-Y. (2019). *Momordica charantia* juice with *Lactobacillus plantarum* fermentation: Chemical composition, antioxidant properties and aroma profile. *Food Bioscience*. 29:62-72.
- Garcia H.S., Santiago-López L., González-Córdova A.F., Vallejo-Cordoba B. y Hernández-Mendoza A. (2022). Evaluation of a pseudocereal suitability to prepare a functional fermented beverage with epiphytic lactic acid bacteria of Huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*). *LWT*. 155:112913.
- Geng X. y Henderson W.A. (2012). Pretreatment of corn stover by combining ionic liquid dissolution with alkali extraction. *Biotechnology and Bioengineering*. 109(1):84-91.
- Ghasemzadeh A., Omidvar V. y Jaafar H.Z. (2012). Polyphenolic content and their antioxidant activity in leaf extract of sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Journal of Medicinal Plants Research*. 6:2971-2976.
- Gholamhosseinpour A. y Hashemi S.M.B. (2019). Ultrasound pretreatment of fermented milk containing probiotic *Lactobacillus plantarum* AF1: Carbohydrate metabolism and antioxidant activity. 42(1):e12930.
- Guo M., Jin T., Nghiem N.P., Fan X., Qi P.X., Jang C.H., Shao L. y Wu C. (2018). Assessment of Antioxidant and Antimicrobial Properties of Lignin from Corn Stover Residue Pretreated with Low-Moisture Anhydrous Ammonia and Enzymatic Hydrolysis Process. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 184(1):350-365.
- Haq I., Mazumder P. y Kalamdhad A.S. (2020). Recent advances in removal of lignin from paper industry wastewater and its industrial applications – A review. *Bioresource Technology*. 312:123636.
- Hiai S., Oura H. y Nakajima T. (1976). Color reaction of some saponin and saponins with vanillin and sulfuric acid. *Planta Med*. 29(2):116-122.
- Hole A.S., Rud I., Grimmer S., Sigl S., Narvhus J. y Sahlstrøm S. (2012). Improved bioavailability of dietary phenolic acids in whole grain barley and oat groat following fermentation with probiotic *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, and *Lactobacillus reuteri*. *J Agric Food Chem*. 60(25):6369-6375.
- Huang D., Ou B., Hampsch-Woodill M., Flanagan J.A. y Prior R.L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J Agric Food Chem*. 50(16):4437-4444.
- Hunaefi D., Akumo D.N. y Smetanska I. (2013). Effect of Fermentation on Antioxidant Properties

of Red Cabbages. *Food Biotechnology*. 27(1):66-85.

- Huynh N.T., Van Camp J., Smagghe G. y Raes K. (2014). Improved Release and Metabolism of Flavonoids by Steered Fermentation Processes: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 15(11):19369-19388.
- Joshi D.R. y Adhikari N. (2019). An overview on common organic solvents and their toxicity. *J. Pharm. Res. Int.* 28(3):1-18.
- Jung Y.-J., Park J.-H., Seo K.-H., Shrestha S., Gogo G., Kim Y.-C., Kang H.-C., Kim J. y Baek N.-I. (2014). Phenolic compounds from the stems of *Zea mays* and their pharmacological activity. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 57:379-385.
- Kalinoski R.M., Li W., Mobley J.K., Asare S.O., Dorrani M., Lynn B.C., Chen X. y Shi J. (2020). Antimicrobial Properties of Corn Stover Lignin Fractions Derived from Catalytic Transfer Hydrogenolysis in Supercritical Ethanol with a Ru/C Catalyst. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 8(50):18455-18467.
- Karadag A., Ozcelik B. y Saner S. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*. 2(1):41-60.
- Khampas S., Lertra T., Lomthaisong K., Simla S. y Suriharn K. (2015). Effect of location, genotype and their interactions for anthocyanins and antioxidant activities of purple waxy corn cobs. *Turkish Journal of Field Crops*. 20:15-23.
- Kim J.-W. y Mazza G. (2009). Extraction and Separation of Carbohydrates and Phenolic Compounds in Flax Shives with pH-Controlled Pressurized Low Polarity Water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(5):1805-1813.
- Knockaert D., Raes K., Wille C., Struijs K. y Van Camp J. (2012). Metabolism of ferulic acid during growth of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus collinoides*. *J Sci Food Agric*. 92(11):2291-2296.
- Kuppusamy A. y Vasantha Kumar K. (2015). Cholesterol Lowering Property of *Lactobacillus plantarum* Isolated from Cow Milk. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 6:1184-1189.
- Lam W.C., Kwan T.H., Budarin V.L., Mubofu E.B., Fan J. y Lin C.S.K. (2015). Pretreatment and Thermochemical and Biological Processing of Biomass. En *Introduction to Chemicals from Biomass* (pp. 53-88).
- Lao F. y Giusti M.M. (2018). Extraction of purple corn (*Zea mays* L.) cob pigments and phenolic compounds using food-friendly solvents. *Journal of Cereal Science*. 80:87-93.
- Lee K.A., Kim K.-T., Kim H.J., Chung M.-S., Chang P.-S., Park H. y Pai H.-D. (2014). Antioxidant activities of onion (*Allium cepa* L.) peel extracts produced by ethanol, hot water, and subcritical water extraction. *Food Science and Biotechnology*. 23(2):615-621.
- Li C., Kong Q., Mou H., Jiang Y., Du Y. y Zhang F. (2021a). Biotransformation of alkylamides and alkaloids by lactic acid bacteria strains isolated from *Zanthoxylum bungeanum* meal. *Bioresource Technology*. 330:124944.
- Li H., Huang J., Wang Y., Wang X., Ren Y., Yue T., Wang Z. y Gao Z. (2021b). Study on the nutritional characteristics and antioxidant activity of dealcoholized sequentially fermented apple juice with *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* fermentation. *Food*

Chemistry. 363:130351.

- Li H.Y., Xu L., Liu W.J., Fang M.Q. y Wang N. (2014). Assessment of the nutritive value of whole corn stover and its morphological fractions. *Asian-Australasian journal of animal sciences*. 27(2):194-200.
- Li T.L., Jiang T., Liu N., Wu C.Y., Xu H.D. y Lei H.J. (2021c). Biotransformation of phenolic profiles and improvement of antioxidant capacities in jujube juice by select lactic acid bacteria. *Food Chemistry*. 339.
- Lundell T.K., Mäkelä M.R. y Hildén K. (2010). Lignin-modifying enzymes in filamentous basidiomycetes – ecological, functional and phylogenetic review. *Journal of Basic Microbiology*. 50(1):5-20.
- Lynch J.P., O'Kiely P., Waters S.M. y Doyle E.M. (2012). Conservation characteristics of corn ears and stover ensiled with the addition of *Lactobacillus plantarum* MTD-1, *Lactobacillus plantarum* 30114, or *Lactobacillus buchneri* 11A44. *J Dairy Sci*. 95(4):2070-2080.
- Masciangelo A. (2013). Carotenoids, Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Five Local Italian Corn (*Zea Mays* L.) Kernels. *Journal of Nutrition & Food Sciences*. 03.
- Mazlan F.A., Annuar M.S. y Sharifuddin Y. (2015). Biotransformation of *Momordica charantia* fresh juice by *Lactobacillus plantarum* BET003 and its putative anti-diabetic potential. *PeerJ*. 3:e1376.
- Melini V. y Acquistucci R. (2017). Extraction of free and insoluble-bound phenolic compounds from pigmented rice by commonly used procedures: a comparative study. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 11(4):2151-2159.
- Min B., Han Y., Lee D., Jung H., Jo J. y Kim J.W. (2018). Optimization of Microwave-assisted Extraction Conditions for Production of Bioactive Material from Corn Stover. *Korean Chemical Engineering Research*. 56(1):66-72.
- Mittal A., Katahira R., Donohoe B.S., Pattathil S., Kandemkavil S., Reed M.L., Bidy M.J. y Beckham G.T. (2017). Ammonia Pretreatment of Corn Stover Enables Facile Lignin Extraction. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 5(3):2544-2561.
- Mohsen S.M. y Ammar A.S.M. (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*. 112(3):595-598.
- Myo H., Nantarat N. y Khat-Udomkiri N. (2021). Changes in Bioactive Compounds of Coffee Pulp through Fermentation-Based Biotransformation Using *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 and Its Antioxidant Activities. *Fermentation-Basel*. 7(4).
- Nawaz H., Muzaffar S., Aslam M. y Ahmad S. (2018). Phytochemical composition: antioxidant potential and biological activities of corn. *Corn-production and human health in changing climate*:49-68.
- Owoyele B.V., Negedu M.N., Olaniran S.O., Onasanwo S.A., Oguntoye S.O., Sanya J.O., Oyeleke S.A., Ibidapo A.J. y Soladoye A.O. (2010). Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of Aqueous Extract of *Zea mays* Husk in Male Wistar Rats. *Journal of Medicinal Food*. 13(2):343-347.
- Pang H., Zhang M., Qin G., Tan Z., Li Z., Wang Y. y Cai Y. (2011). Identification of lactic acid bacteria isolated from corn stovers. *Anim Sci J*. 82(5):642-653.

- Pang Y.Z., Liu Y.P., Li X.J., Wang K.S. y Yuan H.R. (2008). Improving Biodegradability and Biogas Production of Corn Stover through Sodium Hydroxide Solid State Pretreatment. *Energy & Fuels*. 22(4):2761-2766.
- Rachmaniah O., van Spronsen J., Verpoorte R. y Witkamp G.J. (2021). The Effect of Acids on Alkaloid Yield in Pressurized Water Extraction of *Narcissus Pseudonarcissus*. *Journal of Engineering and Technological Sciences*. 53(6):1154-1172.
- Reid I.D. (1989). Solid-state fermentations for biological delignification. *Enzyme and Microbial Technology*. 11(12):786-803.
- Rickert D.A., Meyer M.A., Hu J. y Murphy P.A. (2004). Effect of extraction pH and temperature on isoflavone and saponin partitioning and profile during soy protein isolate production. *Journal of Food Science*. 69(8):C623-C631.
- Rispail N., Morris P. y Webb K.J. (2005). Phenolic Compounds: extraction and analysis. En A. J. Márquez (Ed.), *Lotus japonicus Handbook* (pp. 349-354). Springer Netherlands, Dordrecht.
- Roberts M.F., Strack D. y Wink M. (2010). Biosynthesis of Alkaloids and Betalains. En M. Wink (Ed.), *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*, 2nd Edition (Vol. 40, pp. 20-91).
- Rodríguez H., Rivas B.d.l., Gómez-Cordovés C. y Muñoz R. (2008). Degradation of tannic acid by cell-free extracts of *Lactobacillus plantarum*. *Food Chemistry*. 107(2):664-670.
- Rojas J. y Buitrago A. (2019). Chapter 1 - Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Biosynthesized by Plants and Its Relationship With Prevention of Neurodegenerative Diseases. En M. R. S. Campos (Ed.), *Bioactive Compounds* (pp. 3-31). Woodhead Publishing.
- Ru Y.R., Wang Z.X., Li Y.J., Kan H., Kong K.W. y Zhang X.C. (2022). The influence of probiotic fermentation on the active compounds and bioactivities of walnut flowers. *Journal of Food Biochemistry*. 46(4).
- Ruan Z., Wang X., Liu Y. y Liao W. (2019). Chapter 3 - Corn. En Z. Pan R. Zhang, & S. Zicari (Eds.). *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products* (pp. 59-72). Academic Press.
- Sabiu S., O'Neill F.H. y Ashafa A.O.T. (2016). Kinetics of alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory potential of *Zea mays* Linnaeus (Poaceae), *Stigma maydis* aqueous extract: An *in vitro* assessment. *Journal of Ethnopharmacology*. 183:1-8.
- Sadaka M. y Garcia A. (1999). Extraction of shikimic and quinic acids. *Chemical Engineering Communications*. 173:91-102.
- Shamsa F., Monsef H., Ghamooshi R. y Verdian-rizi M. (2008). Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. *Thai J Pharm Sci*. 32:17-20.
- SIAP. (2022). Avance de Siembras y Cosechas. Ciudad de México, México. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Recuperado de https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/.
- Siemińska-Kuczer A., Szymańska-Chargot M. y Zdunek A. (2022). Recent advances in interactions between polyphenols and plant cell wall polysaccharides as studied using an adsorption technique. *Food Chemistry*. 373:131487.
- Smuda S.S., Mohsen S.M., Olsen K. y Aly M.H. (2018). Bioactive compounds and antioxidant

- activities of some cereal milling by-products. *Journal of Food Science and Technology*. 55(3):1134-1142.
- Sun F.-h., Li J., Yuan Y.-x., Yan Z.-y. y Liu X.-f. (2011). Effect of biological pretreatment with *Trametes hirsuta* yj9 on enzymatic hydrolysis of corn stover. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 65(7):931-938.
- Sun Y., Zou M., Li C., Li X., Mao T. y Zheng C. (2021). The solubilization of naphthalene using tea saponin as a biosurfactant: Effect of temperature. *Journal of Molecular Liquids*. 335:116475.
- Swain T. y Hillis W.E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 10(1):63-68.
- Tan S.P., Vuong Q.V., Stathopoulos C.E., Parks S.E. y Roach P.D. (2014). Optimized Aqueous Extraction of Saponins from Bitter Melon for Production of a Saponin-Enriched Bitter Melon Powder. *Journal of Food Science*. 79(7):E1372-E1381.
- Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros-Zevallos L. y Byrne D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19:669-675.
- Thippeswamy M., Rajasreelatha V., Chalannavar R.K. y Jogaiah S. (2021). 18 - Terpenoid indole alkaloids, a secondary metabolite in plant defense response. En S. Jogaiah (Ed.), *Biocontrol Agents and Secondary Metabolites* (pp. 443-457). Woodhead Publishing.
- Tian J.P., Na R.S., Yu Z., Liu Z.K., Liu Z.Y. y Yu Y.D. (2018). Inoculant effects on the fermentation quality, chemical composition and saponin content of lucerne silage in a mixture with wheat bran or corn husk. *Animal Production Science*. 58(12):2249-2257.
- Torre P., Aliakbarian B., Rivas B., Domingue J.M. y Converti A. (2008). Release of ferulic acid from corn cobs by alkaline hydrolysis. *Biochemical Engineering Journal*. 40(3):500-506.
- USDA. (2022). World Agricultural Production. Washington DC, EU. United States Department of Agriculture. Recuperado de <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>.
- Vazquez-Olivo G., López-Martínez L.X., Contreras-Angulo L. y Heredia J.B. (2019). Antioxidant Capacity of Lignin and Phenolic Compounds from Corn Stover. *Waste and Biomass Valorization*. 10(1):95-102.
- Vijayalaxmi S., Jayalakshmi S.K. y Sreeramulu K. (2015). Polyphenols from different agricultural residues: extraction, identification and their antioxidant properties. *Journal of Food Science and Technology*. 52(5):2761-2769.
- Vuolo M.M., Lima V.S. y Maróstica Junior M.R. (2019). Chapter 2 - Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. En M. R. S. Campos (Ed.), *Bioactive Compounds* (pp. 33-50). Woodhead Publishing.
- Wan C. y Li Y. (2010). Microbial delignification of corn stover by *Ceriporiopsis subvermispora* for improving cellulose digestibility. *Enzyme and Microbial Technology*. 47(1):31-36.
- Wang N., Xiong Y., Wang X., Guo L., Lin Y., Ni K. y Yang F. (2022). Effects of *Lactobacillus plantarum* on Fermentation Quality and Anti-Nutritional Factors of Paper Mulberry Silage. 8(4):144.

- Wang S.-T., Feng Y.-J., Lai Y.-J. y Su N.-W. (2019). Complex Tannins Isolated from Jelly Fig Achenes Affect Pectin Gelation through Non-Specific Inhibitory Effect on Pectin Methylesterase. 24(8):1601.
- Weinberg Z. y Szakacs G. (2016). Extraction of bioactive plant materials by simultaneous enzyme treatment and lactic acid fermentation – a mini-review. Israel Journal of Plant Sciences:1-7.
- Weinberg Z.G. y Szakacs G. (2018). Extraction of bioactive plant materials by simultaneous enzyme treatment and lactic acid fermentation - a mini-review. Israel Journal of Plant Sciences. 65(1-2):31-37.
- Wheater D.M. (1955). The characteristics of *Lactobacillus plantarum*, *L. helveticus* and *L. casei*. J Gen Microbiol. 12(1):133-139.
- Xu D., Ding Z., Wang M., Bai J., Ke W., Zhang Y. y Guo X. (2020). Characterization of the microbial community, metabolome and biotransformation of phenolic compounds of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) silage ensiled with or without inoculation of *Lactobacillus plantarum*. Bioresource Technology. 316:123910.
- Xu Z., He H., Zhang S. y Kong J. (2017). Effects of inoculants *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus parafarraginis* on the fermentation characteristics and microbial communities of corn stover silage. Scientific Reports. 7(1):13614-13614.
- Yan Y., Li X., Guan H., Huang L., Ma X., Peng Y., Li Z., Nie G., Zhou J., Yang W., Cai Y. y Zhang X. (2019a). Microbial community and fermentation characteristic of Italian ryegrass silage prepared with corn stover and lactic acid bacteria. Bioresource Technology. 279:166-173.
- Yan Y., Zhang F., Chai Z., Liu M., Battino M. y Meng X. (2019b). Mixed fermentation of blueberry pomace with *L. rhamnosus* GG and *L. plantarum*-1: Enhance the active ingredient, antioxidant activity and health-promoting benefits. Food and Chemical Toxicology. 131:110541.
- Yang X., Zhou J., Fan L., Qin Z., Chen Q. y Zhao L. (2018). Antioxidant properties of a vegetable–fruit beverage fermented with two *Lactobacillus plantarum* strains. Food Science and Biotechnology. 27(6):1719-1726.
- Yang Y., Laval S. y Yu B. (2021). Chapter Two - Chemical Synthesis of Saponins. En D. C. Baker (Ed.), Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry (Vol. 79, pp. 63-150). Academic Press.
- Yang Z. y Zhai W. (2010). Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). Innovative Food Science & Emerging Technologies. 11(1):169-176.
- Ye M.Q., Yue T.L. y Yuan Y.H. (2014). Evolution of polyphenols and organic acids during the fermentation of apple cider. Journal of the Science of Food and Agriculture. 94(14):2951-2957.
- Yoo C.G., Nghiem N.P., Hicks K.B. y Kim T.H. (2011). Pretreatment of corn stover using low-moisture anhydrous ammonia (LMAA) process. Bioresource Technology. 102(21):10028-10034.
- Zaynab M., Sharif Y., Abbas S., Afzal M.Z., Qasim M., Khalofah A., Ansari M.J., Khan K.A., Tao

L. y Li S. (2021). Saponin toxicity as key player in plant defense against pathogens. *Toxicon*. 193:21-27.

Zevallos-Torres L.A., Woiciechowski A.L., Oliveira de Andrade Tanobe V., Zandoná Filho A., Alves de Freitas R., Noseda M.D., Saito Szameitat E., Faulds C., Coutinho P., Bertrand E. y Soccol C.R. (2021). Lignin from oil palm empty fruit bunches: Characterization, biological activities and application in green synthesis of silver nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 167:1499-1507.

Zhang Y. y Vadlani P.V. (2015). Lactic acid production from biomass-derived sugars via co-fermentation of *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 119(6):694-699.

Zheng Z.-y., Cao F.-W., Wang W.-j., Yu J., Chen C., Chen B., Liu J.-x., Firrman J., Renye J. y Ren D.-x. (2020). Probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* E680 and its effect on Hypercholesterolemic mice. *BMC Microbiology*. 20.

Zhou Y., Wang R., Zhang Y., Yang Y., Sun X., Zhang Q. y Yang N. (2020). Biotransformation of phenolics and metabolites and the change in antioxidant activity in kiwifruit induced by *Lactobacillus plantarum* fermentation. 100(8):3283-3290.