



Imágenes de: Ulises Ramírez-Esparza

Efecto de la fermentación en medio sólido sobre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante del maíz

Effect of solid medium fermentation on total phenol content and antioxidant capacity of maize

Ulises Ramírez-Esparza, Emilio Ochoa-Reyes, Ramiro Baeza-Jiménez, José Juan Buenrostro-Figueroa*

RESUMEN

El maíz contiene un gran número de compuestos antioxidantes, muchos de ellos unidos a componentes de la pared celular, por lo que requieren tratamientos para liberarlos, como el uso de enzimas o procesos de fermentación. La fermentación en medio sólido (FMS) con *Rhizopus oryzae* se ha aplicado para aumentar la capacidad antioxidante (CA) y el contenido fenólico en cereales y leguminosas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la FMS con *R. oryzae* sobre la CA y el contenido de fenoles totales (CFT) del maíz. La FMS se realizó en bolsas zip-lock (25 cm²) a 30 °C/72 h, con un inóculo de 1 x 10⁶ esporas/g. Se tomaron muestras cada 12 h, el extracto se recuperó con etanol al 80 % y se utilizó para determinar el CFT y la CA (ensayo ABTS⁺, DPPH y FRAP). Los valores más altos se obtuvieron a las 60 h de cultivo, con un CFT de 1.92 mg/gramos de materia seca (gms) y una CA de 1.47 mg de equivalentes Trolox por gramo de materia seca (mg ET/gms), 1.27 mg ET/gms y 5.8 mg Fe⁺²/gms para los ensayos de ABTS⁺, DPPH y FRAP, respectivamente. El uso de FMS permitió aumentar hasta 0.83 y 1.25 veces el CFT y la CA del maíz, con respecto al tiempo 0 h. El maíz fermentado con *R. oryzae* mostró potencial para ser empleado como materia prima para el desarrollo de alimentos funcionales, al incrementar su CA a través de un bioproceso.

PALABRAS CLAVE: bioproceso, *Rhizopus oryzae*, antioxidantes, fermentación en medio sólido.

ABSTRACT

Maize contains a large number of antioxidant compounds. However, many of them are not in free form, as they are bound to components of the cell wall of maize kernels. For this reason, the use of treatments is required to release them, such as the use of enzymes or fermentation processes. Fermentation in solid medium (FMS) with *Rhizopus oryzae* has been applied to increase the antioxidant capacity (AC) and phenolic content in cereals and legumes. The objective of the present work was to evaluate the effect of FMS with *R. oryzae* on AC and total phenolic content (TPC) of maize. Fermentation on solid medium was carried out in zip-lock bags (25 cm²) at 30 °C for 72 h, with an inoculum of 1 x 10⁶ spores/g. Samples were taken every 12 h, the extract was recovered with 80% ethanol, and used to determine TPC and AC (ABTS⁺, DPPH and FRAP assay). The highest values were obtained at 60 h of culture, with a TPC of 1.92 mg/gram dry matter (gdm) and an AC of 1.47 mg TE/gdm, 1.27 mg TE/gdm and 5.8 mg Fe⁺²/gdm for the ABTS⁺, DPPH and FRAP assays, respectively. The use of FMS allowed to increase up to 0.83 and 1.25 times the CFT and CA of corn, with respect to time zero. Corn fermented with *R. oryzae* showed potential to be used as a raw material for the development of functional foods, by increase its AC through a bioprocess.

KEYWORDS: bioprocess, *Rhizopus oryzae*, antioxidants, solid-state fermentation.

*Correspondencia: jose.buenrostro@ciad.mx/Fecha de recepción: 30 de abril de 2023/Fecha de aceptación: 6 de noviembre de 2023/ Fecha de publicación: 30 de enero de 2024.

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Grupo de Biotecnología y Bioingeniería, Avenida 4a sur número 3828, fraccionamiento Vencedores del Desierto, Delicias, Chihuahua, México, C. P. 33089.

INTRODUCCIÓN

El maíz ha sido la base de la alimentación desde los pueblos prehispánicos (Cuevas-Mejía, 2014). Dentro de las 220 variedades de maíz que se han descrito en América Latina (Sierra-Macías y col., 2014), se encuentran los maíces pigmentados, los cuales contienen una alta cantidad de compuestos antioxidantes (Bello-Pérez y col., 2016; Bei y col., 2017), que contribuyen en la prevención y tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, cáncer y diabetes, entre otras (Gul y col., 2016).

Se han reportado diversos compuestos fenólicos en maíces, como cianidina-3-glucósido, peltargonidina-3-glucósido, ácido 2,4,6-trihidroxibenzoico, ácido *p*-cumárico o ácido *p*-hidroxicinámico, ácido cafeico, apigenina-*O*-hexosido, luteolina-*O*-rutinosido (Lao y Giusti, 2017; Hernández y col., 2018). Sin embargo, muchos de estos compuestos no están de forma libre, sino ligados a componentes de la pared celular de las plantas (Streimikyte y col., 2022), por lo que se requieren tratamientos que permitan liberarlos, como el uso de enzimas o procesos de fermentación.

Durante la fermentación se presentan cambios en los niveles de compuestos fenólicos, debido a la acción de enzimas (celulasas, hemicelulasas, xilanasas, pectinasas, proteasas, entre otras) producidas durante la fase de crecimiento de los microorganismos (Huynh y col., 2014). Estas enzimas rompen los componentes químicos de la pared celular, resultando en una hidrólisis de los enlaces que unen a los compuestos fenólicos a la pared celular (Alves-Magro y de-Castro, 2020), logrando así liberar los compuestos antioxidantes.

Dentro de los microorganismos más utilizados en la fermentación en medio sólido (FMS), se encuentran los hongos filamentosos, de los cuales, el género *Rhizopus* es uno de los más usados, pertenece a la clase *Fitomicetos*, orden *Mucolares*, familia *Mucoraceae* (Ibarruri y Hernández, 2018; Aoki y col., 2020). *R. oligosporus*, *R. stolonifer* y *R. oryzae* son generalmente reconocidos como seguros (GRAS, por sus

siglas en inglés: Generally Recognized As Safe), de acuerdo a la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés: Food and Drug Administration), y pueden ser usados para consumo en humanos (Cantabrana y col., 2015). Entre las características por las que este género de hongo es interesante para la aplicación en alimentos, destacan el que crece a un rango amplio de temperatura (7 °C a 45 °C), y que durante su crecimiento produce hidrolasas como amilasas, proteasas y lipasas, que pueden ayudar a incrementar la biodisponibilidad de nutrientes al realizar una hidrólisis en los componentes de la pared celular del material vegetal (Ghosh y Ray, 2011; Cantabrana y col., 2015).

Se ha reportado que la FMS de maíz ha sido utilizada para la obtención de enzimas como la celulasa (Yoon y col., 2014), compuestos bioactivos como la monacolina K (Zhang y col., 2018), la cual reduce los niveles de colesterol-LDL y ácido cítrico (Tong y col., 2023). Sin embargo, existen muy pocos estudios sobre su empleo junto a *R. oryzae* para la obtención de compuestos fenólicos a partir del maíz o de su potencial como materia prima para el desarrollo de alimentos funcionales.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la FMS sobre la liberación de compuestos fenólicos con capacidad antioxidante a partir de granos de maíz utilizando *R. oryzae*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

El agar papa dextrosa fue adquirido en BD-BIOXON®. El ácido clorhídrico, ácido acético glacial, *n*-butanol, etanol y metanol absolutos, fueron obtenidos en J. T. Baker®. El DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS⁺ (2, 2'-Azino-bis-3-etil-benzo-tiazolina-6-acido sulfónico), persulfato de potasio (K₂S₂O₈), Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico, 97 %), TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina), cloruro férrico, catequina, sulfato férrico de amonio, reactivo de Folin-Ciocalteu, ácido gálico (AG), sulfato de hierro y carbonato de sodio fueron adquiridos en Sigma Chemical Co.

Microorganismo

Se utilizó la cepa *R. oryzae* (Colección Departamento de Investigación en Alimentos-Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, México). El microorganismo se conservó en una solución crioprotectora a - 20 °C (leche descremada: glicerol; 9:1). Las esporas se activaron en agar papa dextrosa a 30 °C/7 d, posteriormente se colectaron con Tween-80 (0.01 %) y se realizó un conteo en un hematocitómetro (Brand, Alemania).

Material vegetal

Los granos de maíz (*Zea mays*) fueron adquiridos en un local comercial en Delicias, Chihuahua, México, en marzo de 2022. Se llevaron al Laboratorio de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), Delicias, donde se descartaron los granos quebrados, y los seleccionados se desinfectaron mediante radiación ultravioleta (UV) durante 30 min, y se almacenaron a temperatura ambiente (25 °C) en contenedores herméticos hasta su uso.

Fermentación en medio sólido

Después de remojar los granos durante 24 h, se cocieron en agua hasta reventar, se retiraron, se esterilizaron a 121 °C/15 min y se dejaron enfriar a temperatura ambiente (25 °C). Para la FMS, se colocaron 12 g de maíz en bolsas de polipropileno (25 cm²) resellables, se inocularon con 1 x 10⁶ esporas/g de soporte en condiciones de asepsia y se incubaron a 30 °C/72 h. Los extractos fueron recuperados y extraídos cada 12 h. Para la extracción, se tomaron 4 g de muestra húmeda, y se mezclaron con 20 mL de etanol al 80 % (relación m/v 1:5) durante 5 min, y se filtraron a vacío. Los extractos obtenidos se congelaron a - 20 °C hasta su análisis.

Contenido de fenoles totales hidrolizables

El contenido fenólico total hidrolizable (CFTH) se determinó usando el método de Folin-Ciocalteu, de acuerdo con lo reportado por Wong-Paz y col. (2014). Se mezclaron 20 µL del extracto con 20 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 5 min, se añadieron 20 µL de carbonato de sodio (0.01 M) y se dejó reposar

la mezcla durante 5 min. Finalmente, la solución se diluyó con 125 µL de agua destilada y se registró la absorbancia (790 nm) en un lector de microplaca (Thermo Scientific, Multiskan Go, Vantaa, Finlandia). Se realizó una curva estándar de ácido gálico (0 mg/L a 200 mg/L; 3.612 5x; R² = 0.995), y se expresaron los resultados como equivalentes de ácido gálico por gramo de materia seca (mg EAG/gms).

Contenido de fenoles totales condensados

Se determinó el contenido de fenoles totales condensados (CFTC) de acuerdo con la técnica reportado por Hernández y col. (2017) adaptada a microplaca. Se mezclaron en tubos de tapa roscada 250 µL de la muestra, 1.5 mL de HCl-n-Butanol (1:9 v/v) y 50 µL de reactivo férrico (1 mL HCl concentrado, 2 g de sulfato férrico de amonio y aforado a 5 mL con agua destilada) y se calentaron los tubos en baño de ebullición a 100 °C/40 min. Los tubos se enfriaron hasta llegar a temperatura ambiente (25 °C), se tomaron 200 µL de cada tubo y se registró la absorbancia a 460 nm, utilizando un lector de microplaca. Los resultados se expresaron en equivalentes de catequina por gramo de materia seca (mg EC/gms), empleando una curva patrón de catequina (0 mg/L a 1 000 mg/L; y = 0.279 4x; R² = 0.993).

Contenido de fenoles totales

El CFT se obtuvo como la suma del CFTH y el CFTC, y se expresó como mg/gms.

Capacidad antioxidante por el ensayo DPPH

Se basa en la aceptación de un electrón o átomo de hidrógeno por el radical 2,2-difenil-1-picril-hidracilo (DPPH), ocasionando su reducción por acción de los antioxidantes presentes en la muestra. Se utilizó el ensayo reportado por Molyneux (2004), adaptado a microplaca. Se mezclaron 7 µL del extracto con 193 µL de solución de DPPH (60 µM), se dejó reposar 30 min y se registró la absorbancia a 517 nm en un lector de microplacas. El resultado se expresó como equivalentes de Trolox por gramo de materia seca (mg ET/gms) empleando una curva estándar de Trolox (0 mg/L a 200 mg/L; y = 3.551 6x; R² = 0.986 4).

Capacidad antioxidante por ensayo ABTS⁺

Se basa en la cuantificación del decoloramiento del radical ABTS⁺ [ácido 2,2'-acínobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)] por efecto de su reducción debido a la acción de los antioxidantes presentes en la muestra. Se realizó con base en lo reportado por Torres-León y col. (2019), adaptado a microplaca. Se preparó el radical ABTS⁺ mezclando 2.45 mL de ABTS⁺ 7 mM y 12.5 mL de persulfato de potasio (K₂S₂O₈) 2.45 mM y se incubó la solución en oscuridad por 16 h. Posteriormente, se ajustó la absorbancia a 0.7 ± 0.2 a una longitud de onda de 734 nm. Para el ensayo, se mezclaron 10 µL de muestra y 190 µL del radical ABTS⁺. Pasado 1 min de reacción, se registró la absorbancia en un lector de microplaca. El resultado se expresó como equivalentes de Trolox por gramo de materia seca (mg ET/gms) empleando una curva estándar de Trolox (0 mg/L a 200 mg/L; $y = 3.5515x$; $R^2 = 0.9857$).

Capacidad antioxidante por ensayo FRAP

A diferencia del análisis por DPPH y ABTS⁺, que evalúan la capacidad de la muestra para neutralizar radicales libres, el análisis de la capacidad de reducción férrica del plasma (FRAP, por sus siglas en inglés: ferric reducing ability of plasma) se basa en el principio de que los antioxidantes son sustancias capaces de reducir el ion férrico al ion ferroso, es decir, evalúa la capacidad reductora mediante un mecanismo de transferencia de electrones (Mercado-Mercado y col., 2013) y a su vez simula las condiciones de un sistema biológico (Benzie y Strain, 1996).

Se determinó de acuerdo con Alvarez-Parrilla y col. (2005), adaptado a microplaca. El reactivo FRAP se preparó mezclando 50 mL de una solución buffer de acetatos 0.3 M y pH 3.6, 5 mL de una solución 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) 10 mM y 5 mL de una solución de cloruro férrico. La solución se mezcló y se dejó reposar a 37 °C/30 min. Para el ensayo se mezclaron 18 µL de agua, 6 µL del extracto y 180 µL de solución FRAP, se dejó reposar a 37 °C/1 h y se registró la absorbancia

a 595 nm en un lector de microplaca. Los resultados se expresaron como mg Fe⁺²/gms utilizando una curva estándar de sulfato de hierro (0 mg/L a 800 mg/L; $y = 1.2721x$; $R^2 = 0.004$).

Análisis estadístico

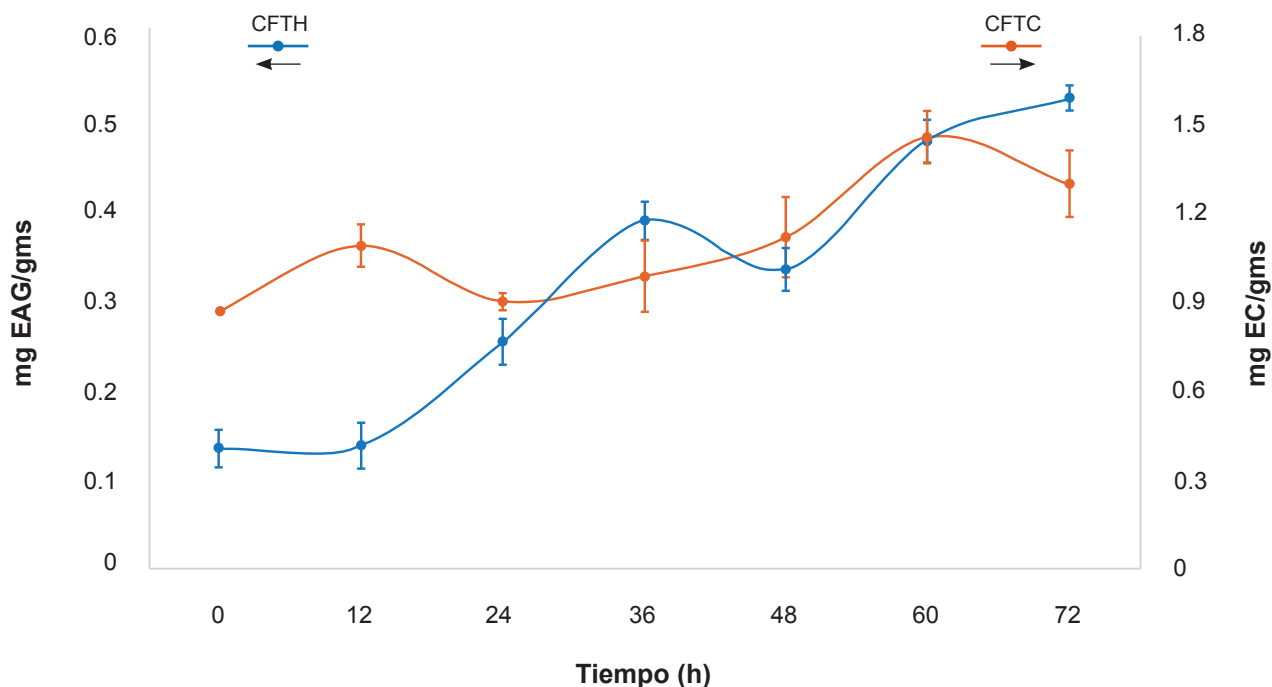
Se trabajó con un diseño completamente al azar para determinar el efecto del tiempo de fermentación sobre el CFT y capacidad antioxidante (CA) del maíz; cada tratamiento se evaluó por triplicado, y se reportó el promedio y su desviación estándar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de diferencia mínima significativa (LSD, por sus siglas en inglés: Least significant difference) ($P \leq 0.05$) para establecer las diferencias significativas entre tratamientos, empleando el programa Statistica 7.0 (Stat Soft, Tulsa, Ok, EUA).

Para el análisis de la asociación entre el CFT y la CA se empleó los coeficientes de correlación de Pearson.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fermentación en medio sólido

El CFTC, después de un incremento inicial durante las primeras 12 h, mostró un decremento de 0.18 mg EC/gms en comparación con el tiempo anterior (Figura 1). Posteriormente volvió a aumentar (aunque presentó otra breve fase de disminución después de las 60 h) para alcanzar un incremento total a las 60 h de 0.58 mg EC/gms con respecto al tiempo inicial (0 h). El CFTH, que empezó a aumentar después de las 12 h, mostró un decremento en su contenido, posterior a las 36 h con un incremento global de 0.39 mg EAG/gms respecto al tiempo inicial. Chen y col. (2021), reportaron un comportamiento similar en un proceso de FMS con varios microorganismos y maíz blanco, al aumentar el contenido de fenoles en el material fermentado de hasta 1.25 veces. Así mismo, Buenrostro-Figueroa y col. (2017), utilizando *R. oryzae* e higo, lograron incrementar el contenido de fenoles hasta 4.93 veces. Estos aumentos se deben a la acción de las enzimas celulasas, xylanases, lipasas, proteasas y amilasas, producidas por el microorganismo durante el proceso de fermen-



■ Figura 1. Contenido de fenoles totales hidrolizables y condensados en fracciones fenólicas de maíz fermentado.

Figure 1. Content of hydrolysable and condensed total phenols in phenolic fractions of fermented maize.

tación (López y col., 2010; Darman y col., 2011; Kaur y col., 2015; Behnam y col., 2016).

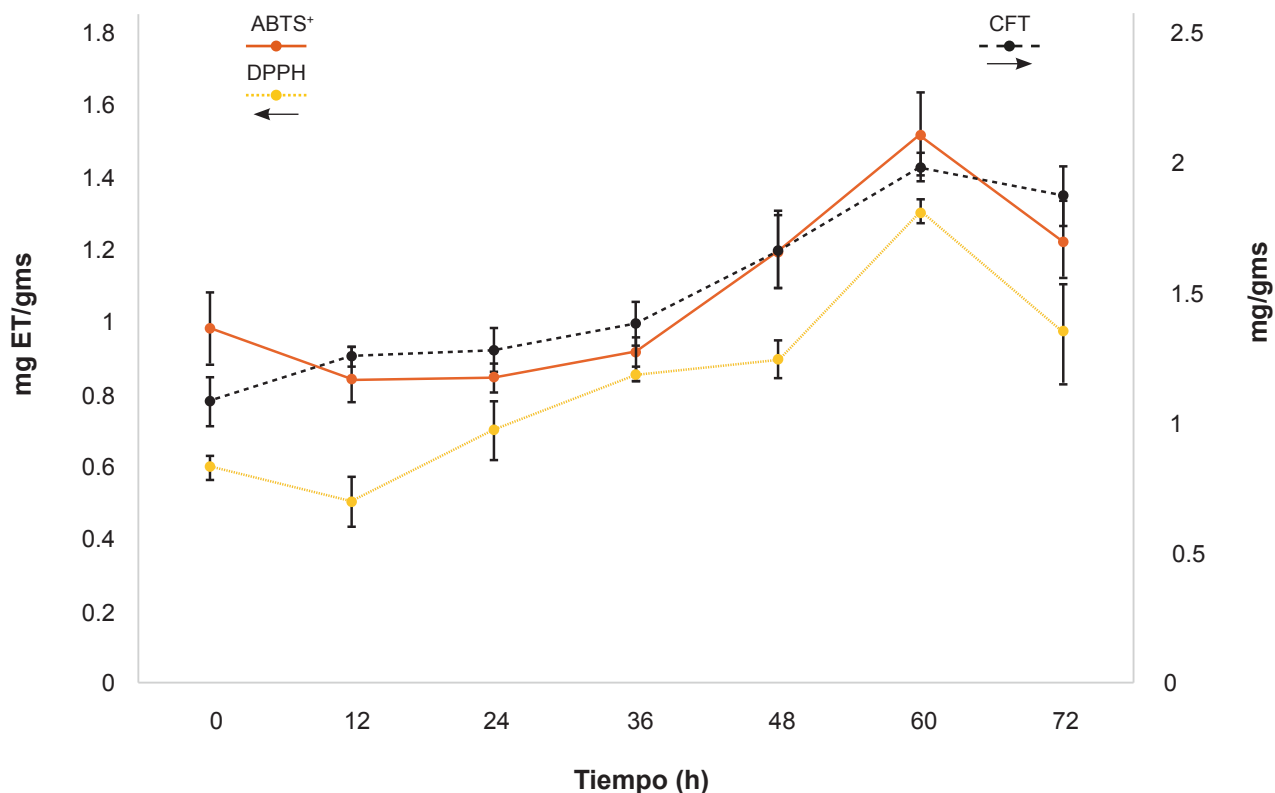
El valor más alto de CFT se obtuvo a las 60 h, con un incremento de 0.83 veces con respecto al tiempo 0 h (Figura 2) (Tabla 1). Estos resultados son 1.31 veces superiores a los reportados por Sánchez-Magaña y col. (2019), al mismo tiempo de fermentación en granos de maíz variedad Pioneer utilizando *R. oligosporus*. El tiempo de máxima CFT coincide con lo documentado por Buenrostro-Figueroa y col. (2017) para la FMS de cáscara de higo con *R. oryzae*, donde pasadas las 60 h disminuyó el CFT, lo cual se puede atribuir a la degradación de los compuestos por enzimas del mismo hongo (Starzyńska-Janiszewska y col., 2021).

Capacidad antioxidante

El proceso de FMS de maíz empleando *R. oryzae* presentó un efecto significativo sobre la CA a las 60 h (Tabla 1) (Figura 2). El proceso

de fermentación aumentó considerablemente la CA del maíz en el ensayo ABTS⁺, 0.55 veces, comparado con el tiempo 0 h de proceso, mientras que en las mismas condiciones, la FMS frente al radical DPPH incrementó 1.19 veces y para el análisis FRAP aumentó 1.25 veces, con respecto al tiempo 0. Dichos incrementos están relacionados con la liberación de compuestos fenólicos durante el proceso de fermentación (Bei y col., 2017).

Diversos estudios han demostrado el efecto positivo de la FMS sobre el incremento en la CA. Queiroz-Santos y col. (2018), reportaron un aumento de 1.7 veces de la CA (DPPH) en granos de soya fermentados con *Saccharomyces cerevisiae*. En orujo de uva sometido a FMS con *R. oryzae*, Leite y col. (2019), registraron un incremento de 2.7 veces la CA en relación al material no fermentado. Wu y col. (2022) desarrollaron un proceso de FMS utilizado avena como sustrato, empleando como inóculo una mezcla de *Lactobacillus planta-*



■ Figura 2. Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante durante la fermentación de granos de maíz.

Figure 2. Total phenol content and antioxidant capacity during fermentation of maize grains.

■ Tabla 1. Efecto de la FMS en maíz con *R. oryzae* sobre CFT y CA.

Table 1. Effect of FMS in maize with *R. oryzae* on CFT and CA.

Tiempo	ABTS ⁺ (mgET/gms)	DPPH (mgET/gms)	FRAP (mgFe ⁺² /gms)	CFT (mg/gms)
0	0.95 ± 0.09 ^b	0.58 ± 0.03 ^b	2.39 ± 0.17 ^b	1.05 ± 0.09 ^b
60	1.47 ± 0.111 ^a	1.27 ± 0.13 ^a	5.38 ± 0.20 ^a	1.92 ± 0.05 ^a

^{a,b} Letras distintas indican diferencia significativa entre el tiempo de fermentación para un mismo tipo de ensayo.

tum y *R. Oryzae*, y reportaron incrementos en la CA del material fermentado después de 72 h, con valores de 2.04, 2.10 y 2.72 veces superiores comparado al material sin fermentar. Esos resultados, si bien fueron más altos al del presente estudio, mostraron una tendencia similar a aumentar la CA del producto fermentado.

Finalmente, se observó una fuerte correlación entre el CFT y la actividad antioxidante en los tres ensayos evaluados (DPPH, ABTS⁺ y FRAP) (Tabla 2), lo cual confirma que el aumento de la CA se debe al aumento de los FT liberados durante el proceso de FMS con *R. oryzae*.

■ Tabla 2. Coeficientes de correlación de Pearson para la asociación entre las variables de contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante.

Table 2. Pearson correlation coefficients for the association between the variables of total phenolic content and antioxidant capacity.

	ABTS ⁺	DPPH	FRAP	CFT
ABTS ⁺	1	0.87*	0.79*	0.77*
DPPH		1	0.91*	0.78*
FRAP			1	0.88*
CFT				1

*P < 0.0001.

CONCLUSIONES

El proceso de fermentación en medio sólido con *R. oryzae* mostró ser un método simple y eficaz para incrementar el contenido de fenoles totales (CFT) y la capacidad antioxidante (CA) del maíz, ya que mejoró el valor biológico del cereal, al incrementar hasta 0.83 y 1.25 veces el CFT y CA del maíz, respectivamente, a las 60 h de proceso. El grano bioprocesado muestra potencial para ser empleado como materia prima en el desarrollo de alimentos funcionales, debido a su propiedad antioxidante. Se requieren estudios adicionales que permitan evidenciar el incremento en el valor funcional del maíz bioprocesado con *R. oryzae*.

AGRADECIMIENTOS

Ulises Ramírez agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca otorgada (CVU No. 1151315) y al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) por las facilidades otorgadas para el desarrollo del estudio.

DECLARACIÓN DE INTERESES

Los autores declararon no tener conflicto de interés alguno.

REFERENCIAS

Alvarez-Parrilla, E., Rosa, L. A. D. L., Torres-Rivas, F., Rodrigo-García, J., and González-Aguilar, G. A. (2005). Complexation of apple antioxidants: chlorogenic acid, quercetin and rutin by β -Cyclodextrin (β -CD). *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. 53(1): 121-129.

Alves-Magro, A. E. and de-Castro, R. J. S. (2020). Effects of solid-state fermentation and extraction solvents on the antioxidant properties of lentils. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 28: 101753.

Aoki, H., Chuma, S., Iba, Y., Tashiro, H., Watanabe, N., and Oyama, H. (2020). Comparison of bioactive components in tempeh produced by three different *Rhizopus* starters and immunomodulatory effect of tempeh on atopic dermatitis mice. *Food Science and Technology Research*. 26(5): 665-672.

Behnam, S., Karimi, K., Khanahmadi, M., and Salimian, Z. (2016). Optimization of xylanase production by *Mucor indicus*, *Mucor hiemalis*, and *Rhizopus oryzae* through solid state fermentation. *Biological Journal of Microorganisms*. 16: 1-10.

Bei, Q., Liu, Y., Wang, L., Chen, G., and Wu, Z. (2017). Improving free, conjugated, and bound phenolic fractions in fermented oats (*Avena sativa* L.) with *Monascus anka* and their antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*. 32: 185-194.

Bello-Pérez, L. A., Camelo-Mendez, G. A., Agama-Acevedo, E. y Utrilla-Coello, R. G. (2016). Aspecto

nutracéuticos de los maíces pigmentados: digestibilidad de los carbohidratos y antocianinas. *Agrociencia*. 50(8):1041-1063.

Benzie, I. F. and Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*. 239(1): 70-76.

Buenrostro-Figueroa, J. J., Velázquez, M., Flores-Ortega, O., Ascacio-Valdés, J. A., Huerta-Ochoa, S., Aguilar, C. N., and Prado-Barragán, L. A. (2017). Solid state fermentation of fig (*Ficus carica* L.) by-products using fungi to obtain phenolic compounds with antioxidant activity and qualitative evaluation of phenolics obtained. *Process Biochemistry*. 62: 16-23.

Cantabrana, I., Perise, R., and Hernández, I. (2015). Uses of *Rhizopus oryzae* in the kitchen. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 2(2): 103-111.

Chen, G., Chen, B., and Song, D. (2021). Comicrobiological regulation of phenolic release through solid-state fermentation of corn kernels (*Zea mays* L.) to improve their antioxidant activity. *LWT*. 142: 111003.

Cuevas-Mejía, J. d. J. (2014). Maíz: Alimento fundamental en las tradiciones y costumbres mexicanas. *Pasos Revista de Turismo y Patrimonio Cultural*. 12(2): 425-432.

Darman, R. D., Ngang, J., and Etoa, F. (2011). Cassava solid-state fermentation with a starter culture of *Lactobacillus plantarum* and *Rhizopus oryzae* for cellulase production. *African Journal of Microbiology Research*. 5(27): 4866-4872.

Ghosh, B. and Ray, R. R. (2011). Current commercial perspective of *Rhizopus oryzae*: a review. *Journal of Applied Science*. 11(14): 2470-2486.

Gul, K., Singh, A. K., and Jabeen, R. (2016). Nutraceuticals and functional foods: The foods for the future world. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 56(16): 2617-2627.

Hernández, C., Ascacio-Valdés, J., De-la-Garza, H., Wong-Paz, J., Aguilar, C. N., Martínez-Ávila, G. C., ..., and Aguilera-Carbó, A. (2017). Polyphenolic content, *in vitro* antioxidant activity and chemical composition of extract from *Nephelium lappaceum* L. (Mexican rambutan) husk. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 10(12): 1201-1205.

Hernández, M., Ventura, J., Castro, C., Boone, V., Rojas, R., Ascacio-Valdés, J., and Martínez-Ávila, G.

(2018). UPLC-ESI-QTOF-MS2-Based identification and antioxidant activity assessment of phenolic compounds from red corn cob (*Zea mays* L.). *Molecules*. 23(6): 1425.

Huynh, N. T., Van-Camp, J., Smagghe, G., and Raes, K. (2014). Improved release and metabolism of flavonoids by steered fermentation processes: A review. *International Journal of Molecular Sciences*. 15(11): 19369-19388.

Ibarruri, J. and Hernández, I. (2018). *Rhizopus oryzae* as fermentation agent in food derived sub-products. *Waste and Biomass Valorization*. 9(11): 2107-2115.

Kaur, H., Arora, M., Bhatia, S., and Alam, M. (2015). Optimization of α -amylase and glucoamylase production in solid state fermentation of deoiled rice bran (DRB) by *Rhizopus oryzae*. *Int J Pure App Biosc*. 3: 249-256.

Lao, F. and Giusti, M. M. (2017). The effect of pigment matrix, temperature and amount of carrier on the yield and final color properties of spray dried purple corn (*Zea mays* L.) cob anthocyanin powders. *Food Chemistry*. 227: 376-382.

Leite, P., Silva, C., Salgado, J. M., and Belo, I. (2019). Simultaneous production of lignocellulolytic enzymes and extraction of antioxidant compounds by solid-state fermentation of agro-industrial wastes. *Industrial Crops and Products*. 137: 315-322.

López, E., Deive, F. J., Longo, M. A., and Sanromán, M. A. (2010). Strategies for utilisation of food-processing wastes to produce lipases in solid-state cultures of *Rhizopus oryzae*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 33(8): 929-935.

Mercado-Mercado, G., Rosa-Carrillo, L. d. l., Wall-Medrano, A., López-Díaz, J. A. y Álvarez-Parrilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria*. 28: 36-46.

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2): 211-219.

Queiroz-Santos, V., Nascimento, C., Schmidt, C., Mantovani, D., and Dekker, R. (2018). H., and da-Cunha, M. A. A. (2018). Solid-state fermentation of soybean okara: Isoflavones biotransformation, antioxidant activity and enhancement of nutritional quality. *LWT*. 92: 509-515.

- Sánchez-Magana, L. M., Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J., Mora-Rochin, S., Leon-Lopez, L., Gutierrez-Dorado, R., and Cuevas-Rodríguez, E. O. (2019). Influence of solid-state bioconversion by *Rhizopus oligosporus* on antioxidant activity and phenolic compounds of maize (*Zea Mays* L.). *Agrociencia*. 53: 45-57.
- Sierra-Macías, M., Andrés-Meza, P., Palafox-Caballero, A., Meneses-Márquez, I., Francisco-Nicolás, N., Zambada-Martínez, A., ..., and Tadeo-Robledo, M. (2014). Variación morfológica de maíces nativos (*Zea mays* L.) en el estado de Veracruz, México. *AGROProductividad*. 7(1): 58-66.
- Starzyńska-Janiszewska, A., Stodolak, B., Mickowska, B., and Socha, R. (2021). Fermentation with edible *Rhizopus* strains as a beneficial alternative method in wheat germ cake processing. *Journal of Cereal Science*. 102: 103309.
- Streimikyte, P., Viskelis, P., and Viskelis, J. (2022). Enzymes-assisted extraction of plants for sustainable and functional applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(4): 2359.
- Tong, Z., Tong, Y., Wang, D., and Shi, Y. C. (2023). Whole maize flour and isolated maize starch for production of citric acid by *Aspergillus niger*: A review. *Starch-Stärke*. 75(3-4): 2000014.
- Torres-León, C., Ramírez-Guzmán, N., Ascacio-Valdés, J., Serna-Cock, L., dos-Santos-Correia, M. T., ..., and Aguilar, C. N. (2019). Solid-state fermentation with *Aspergillus niger* to enhance the phenolic contents and antioxidative activity of Mexican mango seed: A promising source of natural antioxidants. *LWT*. 112: 108236.
- Wong-Paz, J. E., Muñoz-Márquez, D. B., Aguilar-Zárate, P., Rodríguez-Herrera, R., and Aguilar, C. N. (2014). Microplate quantification of total phenolic content from plant extracts obtained by conventional and ultrasound methods. *Phytochemical Analysis*. 25(5): 439-444.
- Wu, H., Liu, H. N., Ma, A. M., Zhou, J. Z., and Xia, X. D. (2022). Synergetic effects of *Lactobacillus plantarum* and *Rhizopus oryzae* on physicochemical, nutritional and antioxidant properties of whole-grain oats (*Avena sativa* L.) during solid-state fermentation. *LWT*. 154: 112687.
- Yoon, L. W., Ang, T. N., Ngoh, G. C., and Chua, A. S. M. (2014). Fungal solid-state fermentation and various methods of enhancement in cellulase production. *Biomass and Bioenergy*. 67: 319-338.
- Zhang, B. B., Xing, H. B., Jiang, B. J., Chen, L., Xu, G. R., Jiang, Y., and Zhang, D. Y. (2018). Using millet as substrate for efficient production of monacolin K by solid-state fermentation of *Monascus ruber*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 125(3): 333-338.