

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

**Producción y caracterización fisicoquímica del gel obtenido en el
proceso de fermentación de maíz azul con *Colletotrichum
gloeosporioides*.**

POR:

Q. B. P. Guadalupe Villarreal Rodríguez

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

MARZO DEL 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Asunto: Liberación Tesis

Chihuahua, Chih., 27 de febrero del 2023

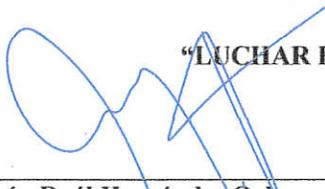
M.A.P. TERESA VIRIDIANA ESPINOZA MOLINA
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
PRESENTE. -

Los que suscriben, informamos a usted que se llevó a cabo la revisión de la tesis titulada: **“Caracterización fisico-química del gel obtenido en el proceso de fermentación de maíz y su posible aplicación en la industria alimentaria”**, presentada por la estudiante **Guadalupe Villarreal Rodríguez**, con número de matrícula **274137**, alumna del programa de **Maestría en Ciencias en Ciencia en Tecnología en Alimentos**.

Se le fueron indicadas al estudiante las correcciones que eran necesarias efectuar, y después de realizarse lo anterior y verificar que las mismas fueron atendidas, manifestamos que el documento en cuestión, cumple con los requisitos de calidad y originalidad señalados por el Comité de Tesis y por la Facultad de Ciencias Químicas, por lo que autorizamos que sea impresa para que se proceda con los trámites para la presentación de su Examen de Grado.

ATENTAMENTE

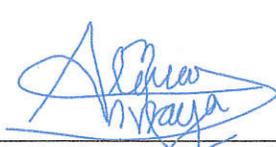
“LUCHAR PARA LOGRAR, LOGRAR PARA DAR”



Dr. León Raúl Hernández Ochoa
Director



Dra. Fabiola Sandoval Salas
Asesora



Dra. Nubia Ivette Amaya Olivas
Asesora



Dr. Néstor Gutiérrez Méndez
Asesor



Dr. Erick Zuniga Rodríguez
Asesor



FACULTAD DE
CIENCIAS QUÍMICAS
SECRETARIA
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Cuarto Universitario,
Campus Universitario 2
Chihuahua, Chih., México C.P 31125
Teléfonos: +52 (614) 236.6000
www.fcq.uach.mx

POR UN
2023
SIN VIOLENCIA
DE GÉNERO

2023

+uach

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por concederme a oportunidad de cumplir una meta más, por la salud y la vida.

A mi hija Emma Guadalupe, mi motor, quien se ha convertido en la razón por la que cada día me esmero a ser una mejor profesionista y sobre todo una mejor persona.

A mi compañero de vida, Jesús Manuel, por formar conmigo el mejor equipo, cada día me llena de orgullo ver hasta donde hemos llegado, sin duda alguna, él es y será parte primordial de todos mis logros, y vamos por más, de eso estoy segura. A nuestra familia, por confiar siempre en nosotros, por estar siempre ahí listos para ayudar, para alentarnos a ser los mejores, este logro también es de ustedes. A Abigail Valles, mil gracias por nunca irte, a pesar de la distancia, demostraste estar presente en todos mis logros y este no fue la excepción, eres la mejor sin duda

Al Doctor León Hernández, gracias por toda su confianza, por siempre demostrar que cree en nuestro trabajo, como nadie más lo ha hecho, por ser el mejor maestro y director de tesis que alguien pueda pedir. A la Doctora Nubia Amaya quien siempre estuvo disponible para nosotros en todo momento, una de las cosas más bonitas que me dejó la licenciatura y la maestría fue su amistad, gracias por todas las dudas resueltas y su ayuda incondicional.

A mi honorable comité, a la Doctora Nubia Amaya, el Doctor Erick Zúñiga, el Doctor Néstor Gutiérrez y la Doctora Fabiola Sandoval por su gran ayuda a lo largo del proyecto, todo mi respeto y admiración para ustedes.

A la Doctora Lingyun Chen y a todo su equipo, por darnos la oportunidad de trabajar en su laboratorio en la Universidad de Alberta en Canadá, y por estos 6 meses que fueron momentos de muchísimo aprendizaje. A el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el soporte económico brindado para la ejecución de este proyecto.

¡Muchas gracias!

Guadalupe Villarreal Rodríguez

ÍNDICE

Contenido

| | |
|--|----|
| ÍNDICE | 3 |
| ÍNDICE DE FIGURAS | 5 |
| ÍNDICE DE TABLAS | 6 |
| LISTA DE ABREVIATURAS | 7 |
| RESUMEN TÉCNICO | 8 |
| ABSTRACT | 9 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 10 |
| 2. ANTECEDENTES TÉCNICOS | 11 |
| 2.1 GELES | 11 |
| 2.1.1 Condiciones para la creación de geles | 11 |
| 2.1.2 Tipos de geles | 12 |
| 2.1.5 Geles obtenidos en proceso de fermentación..... | 15 |
| 2.2 PROCESO DE FERMENTACIÓN | 15 |
| 2.2.1 Procesos de fermentación con maíz | 16 |
| 2.3 MAÍZ (<i>Zea mays</i> L.) | 18 |
| 2.4 MAIZ AZUL (<i>Zea mays</i> L.) | 19 |
| 2.4.1 Composición nutricional del maíz azul (<i>Zea mays</i> L.)..... | 19 |
| 2.4.2 Composición química del maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) | 21 |
| 2.5 MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE GELES..... | 22 |
| 2.6 HONGOS | 23 |
| 2.6.1 Generalidades de los hongos..... | 23 |
| 2.7 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 25 |
| 2.8 APLICACIONES DE GELES EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA | 26 |
| 2.8.1 Aplicaciones en la industria alimentaria | 26 |
| 2.9 CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LOS GELES | 27 |
| 2.10 ANTECEDENTES PARTICULARES | 27 |
| 3. OBJETIVOS TÉCNICOS | 29 |
| 3.1 Objetivo general | 29 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.2 | Objetivos particulares | 29 |
| 3.3 | Hipótesis | 29 |
| 3.4 | Justificación | 29 |
| 4. | MATERIALES Y MÉTODOS..... | 30 |
| 4.1 | MATERIALES | 30 |
| 4.2 | MÉTODOS | 31 |
| 4.2.1 | Esterilización del grano maíz azul..... | 31 |
| 4.2.2 | Molienda del grano maíz azul | 31 |
| 4.2.3 | Pesado de la harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.)..... | 31 |
| 4.2.4 | Análisis proximal del maíz azul (<i>Zea mays</i> L.)..... | 31 |
| 4.2.5 | Preparación de soluciones conidiales..... | 32 |
| 4.2.6 | Proceso de fermentación de la harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 33 |
| 4.2.7 | Caracterización del gel obtenido en la muestra de fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 34 |
| 5. | RESULTADOS Y DISCUSIONES..... | 37 |
| 5.1 | Caracterización Mediante Morfología de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 37 |
| 5.2 | Soluciones conidiales de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 37 |
| 5.3 | Producción del gel en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i>) con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 37 |
| 5.4 | Caracterización del gel obtenido en la muestra de fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 39 |
| 5.4.1 | Análisis proximal del gel obtenido en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 39 |
| 5.4.2 | Pruebas de solubilidad de solventes..... | 40 |
| 5.4.3 | Dosis Letal Media con <i>Artemia salina</i> | 42 |
| 5.4.4 | Análisis de propiedades reológicas del gel obtenido en el proceso de fermentación de la harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 45 |
| 5.4.5 | Caracterización microscópica | 47 |
| 5.4.5 | Caracterización estructural con Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR)..... | 48 |
| 7. | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 58 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 Célula fúngica: Fragmento de hifa (Modificada de Micología Médica Básica. (Bonifaz, 2012) | 24 |
| Figura 2 Morfología macroscópica y microscópica de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . 26 | |
| Figura 3 Cálculo de las soluciones conidiales. | 37 |
| Figura 4 Geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 38 |
| Figura 5 Análisis probit en Minitab ® 17 de la Dosis Letal Media (DL50) de los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 44 |
| Figura 6 Análisis reológico de Barrido de temperatura a la muestra 25 H de los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 46 |
| Figura 7 Caracterización microscópica de los geles procedentes de la fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) y <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . A. Muestra 25 H B. Muestra 25 F | 47 |
| Figura 8 Caracterización microscópica de los geles procedentes de la fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) y <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . A. Muestra 25 H B. Muestra 25 F | 49 |
| Figura 10 Espectros de FTIR de la muestras de gel 25 F, 25 H y harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) | 50 |
| Figura 11 Espectros de FT-IR de la moléculas de pectina comercial extraídas de manzana (Joel et al., 2018)..... | 54 |
| Figura 12 Diseño Factorial de la cantidad de gel producido en las muestras de la fermentación de harina de maíz azul con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 55 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1 Productos alimenticios fermentados a base de maíz y sus características tecnológicas. Tabla modificada de Cháves-López <i>et al</i> (2020)..... | 17 |
| Tabla 2 Composición química del maíz azul (Badui, 2006)..... | 20 |
| Tabla 3 Composición de aminoácidos esenciales en el maíz azul (cantidad en gramos (g) por cada 100 g maíz) (Badui, 2006) | 21 |
| Tabla 4 Clasificación taxonómica de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Kumar-Gautam, 2014). | 25 |
| Tabla 5 Proporciones de harina de maíz azul y medio de cultivo Czapek Dox en caldo montadas en los matraces Erlenmeyer hechos por duplicado | 33 |
| Tabla 6 Identificación de las muestras resultantes de la fermentación de harina de maíz azul con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . Proporciones modificadas de la metodología de Aguilar <i>et al</i> (2010) | 34 |
| Tabla 7 Cantidad de gel producido en la fermentación de harina de maíz azul con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 38 |
| Tabla 8 Análisis proximal de las muestras de gel obtenidas en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> y de la harina sin ser sometida a ningún proceso de fermentación. | 40 |
| Tabla 9 Prueba de solubilidad de los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) Con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 41 |
| Tabla 10 Determinación de pH determinado por papel medidor de los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) Con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 42 |
| Tabla 11 Determinación de Dosis Letal Media (DL50) de los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) Con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | 43 |
| Tabla 13 Absorción (cm ⁻¹), apariencia, enlace y grupo funcional referente a los picos de los espectros FT-IR de la muestras de gel 25 H (Sigma Aldrich, 2022) | 52 |
| Tabla 14 Absorción (cm ⁻¹), apariencia, enlace y grupo funcional referente a los picos de los espectros FT-IR de la muestras de harina de maíz azul (<i>Zea mays</i> L.) (Sigma Aldrich, 2022) | 53 |

LISTA DE ABREVIATURAS

®.- Marca registrada

°C.- Grado centígrados

μL.- Microlitro

g.- Gramos

Kg.- Kilogramos

h.- Horas

Min.- Minutos

mg.- miligramos

mL.- mililitros

mg/Kg.- Miligramos por kilogramo

sp.- Especie

UV.- Ultravioleta

et al.- y colaboradores

λ.- Longitud de onda

Con.- Conidias

RESUMEN TÉCNICO

Los geles alimentarios son sustancias viscoelásticas utilizadas en diversos productos gelificados fabricados en todo el mundo. Los alimentos del gelificante suelen ser polisacáridos. El objetivo de este trabajo fue la elaboración y caracterización de un gel producido en un proceso de fermentación de harina de maíz azul, donde se utilizaron diferentes proporciones de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) y medio de cultivo Czapek Dox (90 mL de medio de cultivo con 10 g de harina de maíz azul, 80 mL de medio de cultivo con 20 g de harina de maíz azul y 70 mL de medio de cultivo con 30 g de harina de maíz azul) y se fermentaron en 3 tiempos diferentes (20, 25 y 30 días) con el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*. Se realizó una caracterización del gel estudiando las propiedades reológicas, análisis proximal, y la prueba de solubilidad con tres solventes orgánicos diferentes, análisis toxicológico, estructura microscópica y caracterización molecular. Los resultados preliminares del análisis reológico mostraron que el gel podría tener resistencia a altas temperaturas y con ese comportamiento reversible. Los componentes químicos principales son los carbohidratos, el gel es soluble en solventes polares, se encontró la presencia de ácidos carboxílicos en el gel, dando por sentado que son polisacáridos en el principal componente. El análisis de espectroscopía infrarroja confirmó que el gel está compuesto por pectina.

ABSTRACT

Food gels are viscoelastic substances used in various gelled products manufactured around the world. The foods use as gelling agents different substances and usually are polysaccharides. The objective of this work was the elaboration and characterization of a gel produced in a blue corn flour fermentation process, where different proportions of blue corn flour (*Zea mays* L.) and Czapek Dox culture medium (90 mL) were used. of culture medium with 10 g of blue cornmeal, 80 mL of culture medium with 20 g of blue cornmeal and 70 mL of culture medium with 30 g of blue cornmeal) and fermented at 3 different times (20, 25 and 30 days) with the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. A characterization of the gel was carried out studying the rheological properties, proximal analysis, and the solubility test with three different organic solvents, toxicological analysis, microscopic structure, and molecular characterization. The preliminary results of the rheological analysis showed that the gel could have resistance to high temperatures and with this reversible behavior. The main chemical components are carbohydrates, the gel is soluble in polar solvents, the presence of carboxylic acids was found in the gel, assuming that they are polysaccharides in the main component. FT-IR spectroscopy analysis confirmed that the gel is composed of pectin.

1. INTRODUCCIÓN

Los geles alimentarios son sustancias viscoelásticas y se fabrican varios productos gelificados en todo el mundo. Los agentes gelificantes de los alimentos suelen ser polisacáridos y proteínas. El mecanismo de gelificación depende de la naturaleza del o de los agentes gelificantes y de las condiciones de formato del gel como la temperatura, la presencia de iones, el pH y la concentración de agentes gelificantes, etc. El sistema de gel mixto o multicomponente es un área de interés importante en la que dos o más componentes gelificantes se utilizan simultáneamente para lograr determinadas características estructurales y funcionales específicas (Soumya *et al.*, 2012).

La fermentación se ha aplicado ampliamente en las industrias alimentaria, química, y farmacéutica para ayudar en la extracción, fabricación y modificación de compuestos bioactivos. (Mesfin *et al.*, 2019). La fermentación microbiana es un interesante sistema de procesamiento biotecnológico que puede mejorar el contenido fenólico total de los alimentos al liberar sus fenoles insolubles y, por lo tanto, aumentar su valor nutricional. Los microorganismos más usados en los procesos de fermentación son los hongos, en su forma de levadura principalmente, aunque existen registros sobre el uso de hongos filamentosos de igual manera. (Dulf *et al.*, 2016) *Colletotrichum gloeosporioides* es un hongo endófito del fruto chagalapoli (*Ardisia compressa*). En un estudio anterior en el grupo de investigación, este mismo hongo produjo un gel en un proceso de fermentación en harina de maíz azul a diferentes proporciones, siendo una de ellas (70 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 30 gramos de harina de maíz azul)

Por lo tanto, en el presente estudio se caracterizará el gel que se producirá en el mismo proceso de fermentación variando las proporciones de medio de cultivo y harina de maíz azul (*Zea mays* L.). Además de encontrar una aplicación de este para la industria alimentaria.

2. ANTECEDENTES TÉCNICOS

2.1 GELES

Un gel es un intermedio entre un sólido y un líquido que posee características tanto elásticas (sólidas) como de flujo (líquido). Se produce una transición de sol (líquido) a gel (sólido) cuando se forman los geles. Se emplean selectivamente varios ingredientes formadores de gel para generar geles alimenticios de atributos aceptables, particularmente el grado de propiedades texturales, que es una indicación del proceso de gelificante. (Banerjee *et al.*, 2012)

Los geles son una forma común de materia blanda que surge de la asociación de diversas moléculas pequeñas, componentes poliméricos y de partículas. Sin embargo, la utilización de geles en numerosas aplicaciones industriales y médicas requiere una mejor comprensión del proceso de formación del gel, los factores que influyen en la estabilidad del gel y las relaciones entre la estructura y las propiedades reológicas únicas de esta clase de materiales. La gelificación engloba diversos procesos en los que las moléculas o partículas interactúan mutuamente entre sí y con el disolvente de tal manera que se localizan en el espacio, dando lugar a la aparición de una rigidez macroscópica. Muchos geles implican enlaces cruzados químicos, como en el caso de los materiales gomosos. (Horkey *et al.*, 2018)

2.1.1 Condiciones para la creación de geles

La formación de un gel es un proceso donde un polímero se dispersa, las partículas se suspenden, en condiciones de temperatura controladas y una composición de la solución (Soumya *et al.*, 2012). Por lo tanto, la conversión de sol-gel implica que las partículas se agreguen, y esto genere una red, abarcando todo el volumen del recipiente o contenedor (Clark, 1992).

La formación de geles puede clasificarse ampliamente en reacciones de gelificación inducidas físicamente (calor, presión) y químicamente inducidas (ácidas, iónicas, enzimáticas) Totosaus *et al.*, 2002). Las condiciones de formación del gel dependen principalmente de los diversos factores físico-químicos que se mencionan en las secciones siguientes.

a) pH

La carga neta de la molécula es modificada por el pH, debido a la adición de algún ácido o al ser sometida a un proceso de fermentación, alterándose las fuerzas de atracción y repulsión entre moléculas, así como las interacciones entre moléculas y disolvente. Otras de las propiedades fisicoquímicas que es afectada por los cambios de pH, es la solubilidad de las sales, lo que conlleva a la formación de gel (Lucey *et al.*, 1997).

b) Presencia de enzimas

Los procesos de gelificación también están relacionadas con la presencia de enzimas, donde se producen enlaces cruzados covalentes, en las proteínas presentes en los alimentos. Las enzimas son las trans-glutaminasa (TG), peroxidasa y polifenol oxidasa son adecuadas para la reticulación de proteínas (Lauber *et al.*, 2003).

2.1.2 Tipos de geles

Las moléculas de polímero en los geles no están reticuladas por enlaces covalentes (excepto los geles de proteínas); en cambio, las moléculas se mantienen unidas por una fuerza intermolecular débil como los enlaces de hidrógeno, las fuerzas electrostáticas, las fuerzas de Van der Waals y las interacciones hidrofóbicas. El proceso de gelificación depende de la interacción de dos o más moléculas de polímero formando gel (Aguilera *et al.*, 2004). Existen diferentes tipos de gel en función de sus características y características estructurales.

a) Hidrogel

Es un entramado de cadenas de polímeros que no son solubles en agua, normalmente se encuentran como un gel coloidal en agua, lo cual le da un grado de flexibilidad. Son polímeros naturales o sintéticos superabsorbentes (contienen más del 99% de agua). Los hidrogeles ambientalmente sensibles pueden detectar cambios de temperatura y pH (Kong, 2005). Los materiales de hidrogel natural incluyen agarosa, metilcelulosa y otros polímeros de origen natural. Estos hidrogeles se utilizan en sistemas de liberación sostenida, para medicamentos y nutrientes.

b) Geles débiles

Algunos polisacáridos, a menudo de origen alimentario, muestran propiedades intermedias entre las soluciones de polisacáridos y los verdaderos geles, y forman geles débiles. Bajo deformación baja, los geles débiles se comportan como geles elásticos. Con una deformación suficientemente grande o con un alto cizallamiento velocidades, se fracturan, se rompen irreversiblemente y fluyen. Hay varios polisacáridos como la goma xantana y la goma gellan que exhiben este tipo de comportamiento (Mohammed *et al.*, 2007).

c) Geles fluidos

Los geles se producen cuando las dispersiones de hidrocoloides calientes se dejan enfriar y fraguar en condiciones de reposo (Valli *et al.*, 2001). La dispersión se separa en micropartículas ricas en polímeros y regiones pobres en polímeros, que forman el espacio intersticial entre las partículas. La reología general del sistema proviene de las interacciones partícula-partícula, que pueden verse interrumpidas por bajas tasas de cizallamiento y esfuerzos de cizallamiento (Norton *et al.*, 1999). Estos sistemas, comúnmente conocidos como geles fluidos, pueden tener una amplia gama de texturas que incluyen un gel ligero vertible y una pasta unttable más espesa. Reológicamente, la viscosidad de cizallamiento bajo de los geles de goma gellan es relativamente alta a una concentración de goma baja y, por tanto, es posible la formación de gel fluido. Los polisacáridos como el agar y el k-carragenano forman geles bajo un campo de cizallamiento adecuado durante la gelificación junto con otros alimentos líquidos (Norton *et al.*, 1999).

d) Geles sensibles al calor

Los geles también pueden ser termorreversibles o termoirreversibles. Los geles termorreversibles son aquellos que se funden al calentar y gelifican al enfriar (por ejemplo, agar, carragenano, gellan y gelatina) mientras que los geles termoirreversibles son aquellos que una vez formados al calentar no se funden (por ejemplo, alginato, pectina de bajo metoxilo). Basado en la dependencia de la temperatura del módulo elástico, polisacárido

los geles pueden clasificarse en cuatro categorías (Nishinari *et al.*, 2004). Estos son (a) geles de endurecimiento en frío como agarosa, carragenina y gellan que forman un gel al enfriar la dispersión (b) endurecimiento por calor geles como algunos derivados de celulosa (MC y HPMC), curdlan, glucomanano konjac que forma un gel al calentar la dispersión (c) geles reentrantes como xiloglucano que forma geles en rangos de temperatura específicos intermedios y permanecen en el estado de sol fuera de este rango de temperatura, y (d) geles reentrantes inversos como una solución mixta de metilcelulosa y gelatina que se forma gel a temperatura más alta y más baja, y permanece en el estado de sol en el rango de temperatura intermedia.

e) Geles instantáneos

El gel instantáneo multicomponente es una idea relativamente nueva en la que se forma rápidamente un gel con atributos de textura aceptables. Los factores que deciden la formación de un gel instantáneo incluyen la selección adecuada de materias primas, la naturaleza y presencia de agentes catalizadores y las condiciones ambientales, incluido el pH y la temperatura.

El comportamiento reológico y la microestructura de los geles de proteína de guisante / kcarragenano / almidón con diferentes condiciones de fraguado fue investigado por Nunes *et al* (2006).

Depypere *et al* (2003) investigaron el enfoque de diseño de mezclas en el comportamiento dinámico reológico y de compresión uniaxial de postres de leche. Se utilizaron experimentos de diseño de mezclas para estudiar las interacciones entre el k-carragenano, el almidón de maíz nativo y las proteínas de la leche en la formación de una estructura de gel mixto. El postre de leche se considera un sistema de tres componentes en el que las interacciones entre dos ingredientes no se aíslan del tercer constituyente.

Lee *et al* (2003) caracterizaron los geles gellan-gelatina y observaron que la dureza disminuye con el aumento de la proporción de gelatina y la cohesión aumenta hasta la proporción de gellan a gelatina de 40: 60 y luego disminuye. La concentración de NaCl y la relación de gellan a gelatina son factores críticos para las características del gel

formado. Se espera que el efecto de diferentes aditivos sobre los atributos de textura de los geles multicomponente genere productos reestructurados como los geles a base de frutas.

2.1.5 Geles obtenidos en proceso de fermentación

Los hongos y bacterias presentan en su pared externa Exopolisacáridos (EPS), las cuales pueden ejercer funciones biológicas de manera esencial, como la producción de biopelículas que los ayudan a adherirse a superficies u otros organismos, adquiriendo protección a amenazas y estabilización en condiciones fisicoquímicas extremas. Los EPS presentan aplicaciones alimentarias, otorgándoles viscosidad, capacidad de gelificar y emulsificante. La goma xantana y el gelano son claros ejemplos de aditivos alimentarios que se emplean para la elaboración de salsas, helados, jaleas entre otros productos. (Llamas *et al.*, 2019)

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son utilizadas para la metabolización de los carbohidratos en los alimentos, lo que les confiere características organolépticas propias. Las BAL se utilizan en proceso de fermentación utilizando leches fermentadas y quesos no grasos como sustratos, donde intervienen en los parámetros tecnológicos esenciales, proporcionando al producto una viscosidad adecuada y reducen la sinéresis, siendo también apropiadas para la elaboración de pasta o productos de panadería. Los EPS mejoran no solo la viscosidad de los alimentos si no ayuda a que se perciban de mejor manera el sabor de los mismos. (Nácher-Vázquez *et al.*, 2016)

2.2 PROCESO DE FERMENTACIÓN

La fermentación es un proceso de conversión de sustratos de alta complejidad en compuestos simples por diversos microorganismos como hongos y bacterias, los cuales también liberan compuestos bioactivos, aparte de los productos que habitualmente se producen en una fermentación, como dióxido de carbono (CO₂) y alcohol (Subramaniam, 2012). También se llaman “compuestos bioactivos” los cuales poseen actividad biológica. Recientemente, los investigadores han demostrado que varios de estos metabolitos secundarios son de uso industrial y económicamente importantes. Se han utilizado en una variedad de industrias tales como productos

farmacéuticos (Demain, 1999) y alimentos (Daverey *et al.*, 2009), especialmente en el campo de probióticos (Dharmaraj, 2010) y prebióticos (Wang, 2009).

El desarrollo de técnicas como la fermentación en estado sólido (SSF) y la fermentación sumergida (SmF) ha llevado a la producción a nivel industrial de compuestos bioactivos. Estas técnicas se han perfeccionado aún más según varios parámetros, tales como los sustratos utilizados, parámetros ambientales y los organismos utilizados para la fermentación. La SmF utiliza sustratos líquidos que fluyen libremente, como la melaza y caldos.

Normalmente la manera de producir metabolitos secundarios es siendo secretados en el caldo de fermentación. Debido a que los sustratos se utilizan rápido, es indispensable que se reemplacen de manera constante con nutrientes. La purificación de los productos es realizada con facilidad, lo que representa una de las ventajas principales. Debido que la fermentación sumergida, presenta sustratos líquidos, es utilizada para extracción de metabolitos secundarios líquidos. (Pandey *et al.*, 1999)

El resultado de la fermentación varía mucho para cada sustrato; por lo tanto, es extremadamente importante elegir el sustrato correcto. Las técnicas de fermentación deben ser optimizadas para cada sustrato. Esto se debe principalmente a la razón por la cual un organismo reacciona de manera diferente a cada éste mismo. Las tasas de utilización de varios nutrientes difieren en cada sustrato, y también lo hace la productividad. Algunos de los sustratos comunes usados en la fermentación de estado sólido son salvado de trigo, arroz y paja de arroz, heno, desechos de frutas y verduras, pulpa de papel, bagazo, fibra de coco y medios sintéticos. Algunos de los sustratos que se utilizan en la fermentación sumergida son medios de cultivos líquidos, azúcares solubles, jugos de frutas y vegetales. (Pandey *et al.*, 1999)

2.2.1 Procesos de fermentación con maíz

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta gramínea anual cuyo origen está ligado a América. Fue introducido en Europa en el siglo XVI, luego se extendió fuera del continente, por África y el Lejano Oriente asiático, y por su excepcional adaptabilidad geográfica, hoy en día es considerado como uno de los cereales más importantes del mundo. El maíz es una buena fuente de energía metabolizable y, a pesar del bajo contenido de

proteínas, también se considera un grano alimenticio vital en muchos países y, en particular, en África, Asia, América Central y del Sur. (Chávez-López *et al.*, 2020)

El maíz es una excelente fuente de carbohidratos, pero la calidad de sus proteínas es relativamente pobre porque es deficiente en los aminoácidos esenciales lisina y triptófano (Paulis, 1982). La fermentación es un método económico y sencillo para mejorar el valor nutritivo de los alimentos a base de maíz y reducir sus factores antinutricionales (Mbugua, 1988).

En los últimos años, la cantidad de informes que describen el proceso de fermentación en todo el mundo, así como los microorganismos involucrados en los productos fermentados de maíz, particularmente de África, América Latina y Norteamérica, ha aumentado significativamente.

La tabla 1 presenta los productos alimenticios fermentados a base de maíz más comunes y sus principales características tecnológicas, como el tiempo, la temperatura de fermentación y el pH. La fermentación es reconocida como una forma natural de preservar y salvaguardar alimentos y bebidas, aumentando el valor nutricional, mejorando la digestibilidad, destruyendo componentes indeseables e inhibiendo microorganismos indeseables (Marshall *et al.*, 2012)

Tabla 1 Productos alimenticios fermentados a base de maíz y sus características tecnológicas. Tabla modificada de Chávez-López *et al* (2020)

| Nombre del producto | País | Tipo de alimento | Tiempo-Temperatura de fermentación | pH | Referencias |
|---------------------|----------|------------------|------------------------------------|---------|-------------------------------|
| Akamu | Nigeria | Puré | 72 h, 28-30°C | 3.2-3.9 | (Nwgoro <i>et al.</i> , 2012) |
| Atole Agrio | México | Bebida | 6-12 h, 34 °C | 3.9 | (Steinkraus, 1996) |
| Champús | Colombia | Bebida | 24-48h, 12-15 °C | 3.5-4.0 | (Osorio <i>et al.</i> , 2008) |
| Chicha | Colombia | Bebida | 2-6 d, 18-35°C | 3.5-4.0 | (Cháves- |

| | | | | | |
|----------|--------|--------|--------------------------------------|------------------|--------------------------------|
| | | | | | López <i>et al.</i> , 2014) |
| Pozol | México | Masa | 2-7 días, Temperatura ambiente | 4.2-4.6 | (Wacher <i>et al.</i> , 1993) |
| Tesgüino | México | Bebida | 2-7 días, Temperatura ambiente | No disponible | (Sangwan <i>et al.</i> , 2014) |

2.3 MAÍZ (*Zea mays* L.)

Taxonómicamente hablando, el Maíz (*Zea mays* L.) pertenece al reino Plantae, a la clase angiosperma, a la subclase monocotiledónea, al orden de los cereales y a la familia de las gramíneas (Galarza, 2011).

La planta puede alcanzar una altura de uno a seis metros lo cual depende de la variedad. Las mazorcas son inflorescencias que nacen directamente del tallo (Galarza, 2011). La mazorca del maíz poseen de ocho a treinta granos y un grupo de hilos largos que sobresale en el extremo de la mazorca (Betrán *et al.*, 2001).

El maíz es uno de los cultivos de granos más diversos que se encuentran en la naturaleza y uno de los cereales más cultivados en el mundo. El maíz molido que incluyen harinas y salvado han sido parte integral de la dieta de todas las clases socioeconómicas en todo el mundo (Žilic *et al.*, 2012). Existe gran diversidad en el maíz, el cual presenta fenotipos pigmentados como morado, rojo y azul, que son los más comunes (López-Martinez *et al.*, 2009).

México es el principal país productor de maíz (*Zea mays* L.) Lugar donde se doméstica y diversifica. Existen 59 razas de acuerdo a la clasificación basada en las en la morfología, lo que representa un significativo porcentaje, con una cantidad de doscientas a trecientas razas de maíz existentes en el continente americano. (Milán-Carrillo *et al.*, 2017).

México está en el quinto lugar de la producción mundial en maíz con 22, 069,254 Toneladas. El porcentaje de producción por tipo de Maíz en el mundo, es liderado por el maíz blanco con un 86%, seguido del maíz amarillo con un 7%, mismo porcentaje que representan otros maíces de colores. Los principales productores de maíz blanco son Sinaloa, Jalisco, México y Michoacán con 54.5%. El estado de México y Chiapas lideran la producción de maíz pigmentado (rojo, morado y azul) con un 59%. Chihuahua, Jalisco y Tamaulipas son los principales estados productores de maíz amarillo con 80%.

2.4 MAIZ AZUL (*Zea mays* L.)

La gran parte del maíz es típicamente de grano harinoso. Presenta un endospermo de textura suave. Los pigmentos antociánicos de color azul se puede encontrar en la capa de aleurona, entre mayor concentración de pigmentos antociánicos los granos tenderán a presentar una tonalidad más oscura (Betrán *et al.*, 2001).

El maíz azul presenta características nutricionales muy interesantes entre las cuales están: contiene una menor cantidad de almidón y su índice glucémico es menor comparado con el maíz blanco, además de presentar una carga proteica superior en un 20% con respecto al maíz blanco (Mendez *et al.*, 2005).

México posee la mayor variedad de maíz azul (*Zea mays* L.) en el mundo, lo que hace que se varíe el tamaño, la densidad y la dureza del grano, así como también la composición química, dichos cambios definidos son la genética, las condiciones climáticas, tipos de suelo y las diferentes prácticas de cultivo. En diferentes regiones de México se cultivan variedades criollas de maíz azul. Los más importantes son el tabloncillo y el Chalqueño (Agama, 2011).

2.4.1 Composición nutricional del maíz azul (*Zea mays* L.)

Las diferentes partes del maíz también difieren en su composición. El pericarpio tiene un alto contenido en fibra, mientras que el endospermo es rico en almidón. El germen contiene la mayoría de las proteínas, grasas, azúcares y cenizas (Agama, 2011).

En la tabla 2 Se muestra la composición química del maíz azul.

Tabla 2 Composición química del maíz azul (Badui, 2006).

| Componentes | Contenidos (%) |
|--------------------|-----------------------|
| Humedad | 8.29 ± 0.17 |
| Cenizas | 1.52 ± 0.01 |
| Lípidos | 4.91 ± 0.02 |
| Proteínas | 9.04 ± 0.012 |
| Almidón | 82.9 ± 0.86 |

2.4.1.1 Carbohidratos

El maíz azul es una fuente importante de carbohidratos. El 65% de los azúcares de grano se encuentran en el germen. La clasificación de carbohidratos presentes en el maíz azul son fructuosa, glucosa, sacarosa, maltosa, rafinosa, y algunos oligosacáridos.

Los polisacáridos más importantes presentes en el maíz son la pectina, la hemicelulosa, celulosa y lignina, los cuales son de carácter estructural y se encuentran principalmente en las paredes del grano (Boyer *et al.*, 2001).

Existen polisacáridos de reserva como el almidón el cual se encuentra en el endospermo. El almidón del maíz contiene un promedio un 75% de amilopectina y un 25% de amilosa, lo cual puede variar según la genética de la semilla de maíz (*Zea mays* L.) (Boyer *et al.*, 2001).

2.4.1.2 Proteínas

Las macromoléculas más importantes nutricionalmente son las proteínas. El maíz azul contiene albuminas, globulinas, glutelinas y prolaminas (Badui, 2006).

En la tabla 3 Se muestra el contenido de aminoácidos esenciales del maíz azul. (Badui, 2006).

Tabla 3 Composición de aminoácidos esenciales en el maíz azul (cantidad en gramos (g) por cada 100 g maíz) (Badui, 2006)

| Aminoácido | Contenidos (g/100g) |
|--------------------|----------------------------|
| Fenilalanina (Phe) | 4.8 |
| Histidina (His) | 2.9 |
| Isoleucina (Ile) | 3.6 |
| Leucina (Leu) | 12.4 |
| Lisina (Lys) | 2.7 |
| Metionina (Met) | 1.9 |
| Treonina (Thr) | 3.5 |
| Triptófano (Trp) | 0.5 |
| Valina (Val) | 4.9 |

2.4.1.3 Lípidos

Los lípidos representan el 5% del maíz azul. La mayoría se encuentran en el germen. La mayoría de los lípidos son triacilglicérols (TAG); 50% es ácido linoleico, el 35% es ácido oleico, el ácido palmítico con un 13%, un ácido esteárico con 4% y ácido linolénico con 3%. La mayoría de los lípidos presentes en el maíz azul presentan una alta estabilidad, por estar unidos a los antioxidantes. Nutricionalmente hablando el maíz azul es una excelente fuente de ácidos grasos buena calidad (Boyer *et al.*, 2001).

2.4.2 Composición química del maíz azul (*Zea mays* L.)

El maíz azul es un cereal rico en compuestos fenólicos, los cuales son metabolitos secundarios que contribuyen al aroma, color y al sabor de los alimentos. Son esenciales para el crecimiento y la reproducción del maíz, otorgan resistencia al estrés ocasionado por condiciones ambientales, así como a los daños por plagas (Su *et al.*, 2007)

a) Antocianinas

El maíz azul es una fuente importante de antocianinas con potenciales aplicaciones antioxidantes. Las antocianinas tienen un sustituyente hidroxilo glucosilado, el cual les da estabilidad y solubilidad. Dependiendo de cada sustituyente se podrán obtener diferentes colores. La variedad de antocianinas depende del número de grupos hidroxilo, azúcares, grupos alifáticos y ácidos aromáticos unidos a la estructura básica de las antocianinas. Los carbohidratos comúnmente unidos a las antocianidinas son glucosa, galactosa, xilosa, arabinosa y ramnosa (Chirinos *et al.*, 2006).

Las diferentes antocianinas del maíz, conllevan a tener una diversidad enorme en el color y pigmentación de las diferentes variedades. En esta variación encontramos colores que van desde el rojo, pasando por el morado hasta llegar al color negro (De la parra, 2008).

Las antocianinas del maíz azul ya han sido previamente caracterizadas. Se ha demostrado que el grano de maíz azul presenta diez antocianinas diferentes, ya sean aciladas o no aciladas. Las antocianinas más importantes son la cianidina 3-glucósido (90%) y la pelargonidina 3-glucósido (8%) y la peonidina en menor cantidad con un 2%. (Styles-Ceska, 1972).

b) Ácidos fenólicos

La estructura química de un ácido fenólico se caracteriza por tener un anillo aromático, un ácido carboxílico y un grupo hidroxilo (Scalbert *et al.*, 2000).

Los ácidos fenólicos pueden encontrar en pericarpio del grano. (Scalbert *et al.*, 2000). Los ácidos fenólicos tienen efecto terapéutico y antioxidante, son derivados del ácido benzoico o del ácido cinámico como el ácido ferúlico, p-cumárico y cafeíco.

2.5 MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE GELES

Como ya se mencionó anteriormente los microorganismos más asociados a la producción de geles, son las bacterias que más específicamente se tratan de las BAL las cuales tienen una gran importancia industrial como bacterias iniciadoras para la producción de alimentos fermentados producidos, a partir de derivados lácteos, carnes fermentadas y masas para la producción de pan. (Nácher-Vázquez *et al.*, 2016)

Entre las diversas bacterias productoras de EPS, las bacterias del ácido láctico han ganado una atención especial. Los BAL son generalmente reconocidos como microorganismos seguros y, además, sus capacidades para producir EPS tienen una amplia diversidad de estructuras sin riesgo para la salud. (Surayot *et al.*, 2014) Los EPS producidos por BAL han recibido una atención cada vez mayor debido a sus beneficios para la salud de los consumidores.

Aunque algunos EPS forman una biopelícula que causa problemas de higiene, otros EPS derivados de BAL desempeñan un papel crucial en la mejora de la reología, la textura y la sensación en la boca de las formulaciones de alimentos fermentados en la industria alimentaria (Surayot *et al.*, 2014; Lee *et al.* 2011). Los biofloculantes, bioabsorbentes, agentes de eliminación de metales pesados, agentes de administración de fármacos y otros son la nueva aplicación de los EPS. (Zajsek *et al.*, 2013)

Se ha relacionado la producción de EPS en hongos filamentosos de igual manera que las BAL. Tal es el caso de Prathyusha *et al.* (2018) quienes examinaron químicamente los EPS de un hongo filamentoso llamado *Fusarium equiseti*. Los análisis químicos revelaron que el EPS se compone principalmente de azúcares neutros y proteínas. Los estudios de viscosidad mostraron un comportamiento pseudoplástico no newtoniano típico con alta viscosidad.

2.6 HONGOS

2.6.1 Generalidades de los hongos

Los hongos se definen como organismos eucariotas que poseen núcleos organizados, así como también una membrana nuclear que está bien definida; son aerobios, heterótrofos y en general no presentan movilidad (Bonifaz, 2012). Dependiendo del medio donde se sitúen, los hongos pueden ser: saprófitos, (se alimentan de materia orgánica muerta) parásitos, (de materia orgánica viva), simbioses mutualistas, epífitos (permanecen en la superficie) y endófitos. Los hongos se reproducen de manera sexual o asexual, por medio de esporas. La unidad estructural de los filamentosos es la hifa, cuya morfología es cilíndrica, creciendo en la parte superior y

proliferando a través del sustrato. La pared de los hongos está compuesta principalmente por quitina y glucanos (González, 2015).

Las células fúngicas poseen mitocondrias, retículo endoplasmático (con vesículas ricas en quitina-sintetasa, enzima que produce la quitina, principal componente de la pared celular), aparato de Golgi, entre otros organelos. La membrana celular basal está bien organizada y contiene gran cantidad de esteroides su principal componente es el ergosterol (Bonifaz, 2012).

El micelio, está constituido por múltiples hifas conformadas por una sucesión de células intercomunicadas. La hifa es cilindro de diferente longitud, por una pared celular rígida en el que fluye protoplasma; el diámetro varía de 1 a 30 micrómetros; termina en la parte apical, donde el hongo crece y se extiende. Los hongos superiores muestran tabiques transversales y se denominan septos que forman el micelio tabicado (Arenas, 2014). En la figura 1, se puede observar los elementos que conforman una hifa.

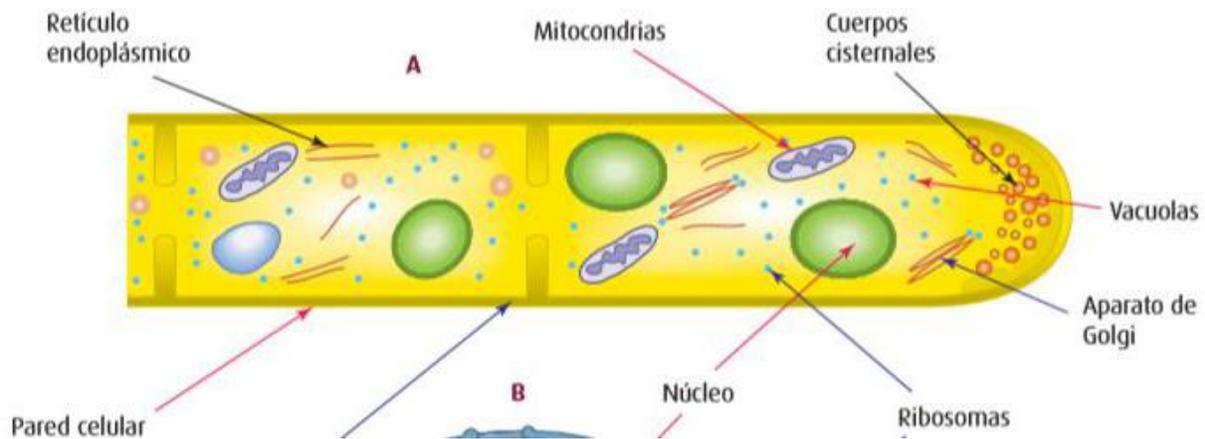


Figura 1 Célula fúngica: Fragmento de hifa (Modificada de Micología Médica Básica. (Bonifaz, 2012)

2.7 *Colletotrichum gloeosporioides*

C. gloeosporioides es un hongo filamentoso, su estado teleomorfo es *Glomerella cingulata*. Es uno de los más importantes patógenos de plantas en todo el mundo, ocasiona la antracnosis, una enfermedad de las plantas en una variedad de huéspedes de árboles a pastos. La enfermedad se caracteriza por manchas hundidas de varios colores en hojas, tallos, frutas o flores. Estos puntos a menudo se amplían y llevan a la marchitez y muerte de los tejidos de la planta infectada. A continuación, en la tabla 4 se presenta la clasificación taxonómica.

Tabla 4 Clasificación taxonómica de *Colletotrichum gloeosporioides* (Kumar-Gautam, 2014).

| | |
|-----------------|------------------------|
| Reino | <i>Fungi</i> |
| División | <i>Ascomycota</i> |
| Orden | <i>Sordaryomycetes</i> |
| Clase | <i>Phyllachorales</i> |
| Familia | <i>Phylacoraceae</i> |
| Género | <i>Colletotrichum</i> |
| Especie | <i>gloeosporioides</i> |

Éste hongo produce colonias circulares, algodonosas con color marrón pálido o blanco grisáceo característico. El micelio del cultivo en crecimiento, es hialino, septado y ramificado. El hongo produce conidios hialinos, unicelulares, ovoides a oblongos, ligeramente curvados o con forma de mancuerna, 10-15 μm (promedio) hasta 20 μm de longitud y 5-7 μm de ancho. Existe una gran variación en el tamaño y la forma de los conidios de *C. gloeosporioides* dependiendo del hospedador del cual se aísla y su área de origen (Kumar-Gautam *et al.*, 2014). En la figura 2 se observa la morfología microscópica y macroscópica de *Colletotrichum gloeosporioides*.

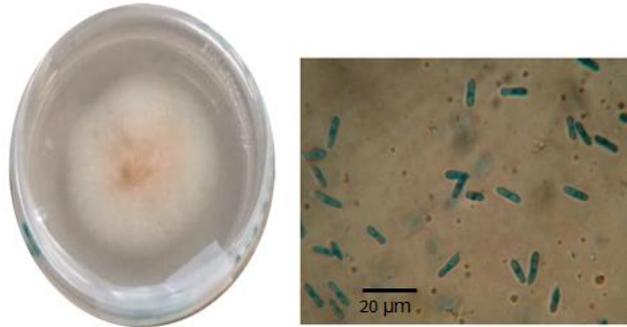


Figura 2 Morfología macroscópica y microscópica de *Colletotrichum gloeosporioides*

2.8 APLICACIONES DE GELES EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

2.8.1 Aplicaciones en la industria alimentaria

Varios alimentos se comercializan en forma de gel que ofrece conveniencia para los consumidores. Los ejemplos incluyen mermelada, gelatina, productos de confitería, postres, geles de fraguado rápido y productos a base de en frutas y verduras. Invariablemente, uno o más agentes gelificantes se emplean para lograr los parámetros deseados o específicos. (Soumya *et al.*, 2012)

Los agentes gelificantes que se utilizan con frecuencia en tales productos son hidrocoloides alimentarios, de origen natural, polisacáridos para ser más exactos, generalmente permitidos. La mayoría de los hidrocoloides se utilizan en la industria alimentaria, como agentes gelificantes, dispersantes, espesantes, emulsificantes y como espumas estabilizadoras. (Sutherland, 2007)

Además, se incorporan polisacáridos por su capacidad para controlar la textura de los alimentos y para la liberación controlada de aromas; la ventaja es también tomada de la capacidad de algunas mezclas de polisacáridos para exhibir gelificación sinérgica. Asociadas con estas propiedades físicas fácilmente mensurables, hay otras como la sensación en la boca o lo sensorial, características, que también muestran alguna correlación con las propiedades físicas.

2.9 CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LOS GELES

LA formación de gel es una transición del estado sólido al estado de gel durante el cual el cambio viscoelástico cambia repentinamente con el desarrollo de características sólidas. Para conocer las características fisicoquímicas de un gel es necesario conocer las propiedades reológicas y las que no están relacionadas a las mismas.

Las propiedades reológicas dependen del testigo de la red molecular. (Kim *et al.*, 2006) Se puede realizar mediciones que muestra la relación entre el estrés (fuerza por unidad de área) y la tensión (deformación debido a la fuerza aplicada) para un gel bajo compresión. La medición reológica de las características del gel se ha clasificado ampliamente en pruebas grandes y pequeñas, siendo las primeras empleadas para medir el estrés, la tensión y las propiedades de falla de un gel (Ross-Murphy, 1995), y las segundas se utilizan para definir características estructurales (Van Vliet, 1995).

Por lo tanto, existe la necesidad de la medición de las características visco elásticas (reológicas) del material y por otro lado, existen métodos no reológicos para la medición de las características de los geles. Las pruebas fundamentales como la caracterización microscópica, molecular y análisis proximal no dependen de la geometría de la muestra y el instrumento utilizado (Banerjee *et al.*, 2012).

2.10 ANTECEDENTES PARTICULARES

El único registro en la bibliografía sobre sustancias gelatinosas producidas por hongos filamentoso fue de Gentès *et al* (2011) donde compararon la influencia de varias estructuras de exopolisacáridos (EPS) en la formación de un gel y las propiedades físicas (firmeza, viscosidad aparente, módulo de elasticidad) de la leche fermentada. La capacidad del EPS para modular la viscosidad no se ha correlacionado con su concentración sino con su estructura y sus interacciones con otros compuestos de la leche. También se ha relacionado a *Colletotrichum gloeosporioides* en la producción de EPS. Valenzuela-Cobos *et al* (2020) cultivó *Colletotrichum gloeosporioides* (GC003) y otro hongo filamentoso en dos medios de cultivo líquidos diferentes con el objetivo de medir la cantidad de Exopolisacáridos (EPS) de consistencia gelatinosa a diferentes pH en dos medios: LC1 (glucosa 40 g L⁻¹, extracto de levadura 3 g/L y triptona-peptona 2 g/L 1) y LC2 (glucosa 40 g/L, extracto de levadura 3 g/L y triptona-peptona 10 g/L) para

la producción de biomasa micelial y exopolisacáridos (EPS). La mayor producción de exopolisacáridos (1,74 g/L) se obtuvo mediante el cultivo líquido (LC2) a pH 4,5 en el cultivo de *Colletotrichum gloeosporioides*. Los resultados presentaron que la producción de biomasa y exopolisacáridos (EPS) está directamente relacionada con los valores de pH y la cepa utilizada en el cultivo. Alarcón-Saénez, (2017) aisló e identificó un hongo endófito *Colletotrichum gloeosporioides* del fruto de Chagalapoli (*Ardisia compressa*) y extrajo los polifenoles totales resultantes de la interacción entre el hongo y el fruto. Analizó las muestras por cromatografía de alta resolución, para determinar la composición química de interés. En el caso de la fermentación del maíz, Cui et al (2012) evaluaron el efecto de la fermentación sobre la calidad de las proteínas de cuatro cultivares de maíz chino mediante la evaluación de los contenidos de proteína, aminoácidos, fenoles totales y ácido fítico y la digestibilidad de proteínas in vitro (IVPD) del crudo y maíz fermentado. Los cuatro tipos de cultivares de maíz constaron de 2 tipos de maíces bicolor con granos color púrpura y blanco, azul y blanco, y dos tipos de maíz amarillo. Los resultados mostraron que la fermentación causó un aumento significativo en las proteínas (43,5% mayor aumento), la mayoría de los tipos de aminoácidos (131,5% mayor aumento en el contenido de lisina) y el contenido fenólico total (23,4% mayor aumento), pero una reducción significativa en el contenido de ácido fítico (24,3%. % de reducción más grande) de cuatro cultivares de maíz.

El principal antecedente particular para este proyecto es por parte de Escajeda y Villarreal et al (2022) quienes determinaron el contenido de algunos compuestos fenólicos presentes en las muestras resultantes de la fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*, utilizando diferentes proporciones variando la cantidad (g) de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) y el medio de cultivo Czapek Dox, (mL) con 90, 80, 70 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 10, 20, 30 g de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) respectivamente. En una sola de las muestras proveniente de la proporción 70 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 30 g de harina de maíz azul se produjo un gel, mismo por el cual se planteó el objetivo de este proyecto.

3. OBJETIVOS TÉCNICOS

3.1 Objetivo general

Producir y caracterizar fisicoquímicamente el gel obtenido en el proceso de fermentación de la harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides* y encontrar una aplicación en la industria alimentaria.

3.2 Objetivos particulares

- Fermentar harina de maíz azul (*Zea mays* L.) y medio de cultivo Czapek Dox en distintas proporciones con *Colletotrichum gloeosporioides* durante diferentes periodos de tiempo (20, 25 y 30 días)
- Producir el gel en un proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con el hongo filamentoso *Colletotrichum gloeosporioides*
- Caracterizar el gel obtenido en el proceso de fermentación, mediante análisis de propiedades reológicas, toxicología, análisis proximal, solubilidad de solventes, caracterización microscópica y molecular.

3.3 Hipótesis

El hongo *Colletotrichum gloeosporioides* utilizará el sustrato de la harina de maíz azul durante el proceso de fermentación para producir un gel el cual se caracterizará para poder tener una aplicación en la industria alimentaria.

3.4 Justificación

Se pretende producir el gel nuevamente, caracterizarlo y encontrar una aplicación alimentaria, según su composición química puede ser orientada como aditivo alimentario. Es importante señalar que no existe antecedentes bibliográficos de la producción de geles a partir del proceso de fermentación con hongos endófitos como *Colletotrichum gloeosporioides* y el maíz azul (*Zea mays* L.) exclusivamente.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 MATERIALES

Se utilizaron los siguientes medios de cultivo: Agar Papa-Dextrosa Golden Bell, agar Czapek Dox Golden Bell y agar Sabraud Golden Bell para el mantenimiento del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* el cual fue aislado como hongo endófito del fruto Chagalapoli (*Ardisia compressa*) y se identificó por Alarcón-Sáenz en 2017, y permanece actualmente en el cepario de la facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Para la realización de las soluciones conidiales se utilizan cámaras de Neubauer y solución Tween 80 Golden Bell previamente esterilizada, además de micropipetas Eppendorf Research plus de 1000 µL con puntas azules para la misma estériles. Para las fermentaciones es necesario el uso de una incubadora Shaker Innova 4300. El grano de maíz azul, se obtuvo del municipio de Gómez Farías del estado de Chihuahua

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Esterilización del grano maíz azul

Los granos se separaron uno por uno, esto con el fin de remover cualquier objeto que pudiese perjudicar el ambiente de esterilidad que se necesitó para obtener una harina completamente libre de microorganismos. Posteriormente en frascos previamente lavados y estériles, se depositaron los granos de maíz azul (*Zea mays* L.) los cuales se llevaron a la autoclave T-fall de aluminio pulido 22 cuartos a 120 °C durante 15 minutos.

4.2.2 Molienda del grano maíz azul

En un molino eléctrico Magic Bullet®, cada una de sus piezas se lavaron con jabón líquido, se limpió con torundas de alcohol etílico grado reactivo, y se dejaron en la campana UV durante 30 minutos, eliminando cualquier tipo de suciedad. Se tamizó la harina en un tamiz de 212 micras (Nº 70) y se depositó en frascos estériles para su futuro uso en las fermentaciones.

4.2.3 Pesado de la harina de maíz azul (*Zea mays* L.)

Después de haber obtenido la harina de maíz azul estéril, se pesaron en pedazos de papel estraza previamente esterilizados en una estufa a 150 °C durante una hora, para prevenir contaminaciones. Se depositó la harina a cada uno de los matraces con las proporciones correspondientes en condiciones estériles, preferentemente en campana de flujo laminar.

4.2.4 Análisis proximal del maíz azul (*Zea mays* L.)

Para la determinación de grasas presentes en la harina de maíz azul (*Zea mays* L.) se utilizará el método Soxhlet basado en la Norma Mexicana NMX-F427-1982. El porcentaje de proteínas se determinará por medio del método descrito en la Norma Mexicana NOM-F-68-S-1980. Se utilizará la Norma Mexicana NMX F-066-S-1978 para la determinación del porcentaje de ceniza.

4.2.5 Preparación de soluciones conidiales

Se utilizaron la metodología descrita por Colomé et al (1986) Se utilizaron un cultivo de 10 días a 28 °C en agar Papa-Dextrosa (PDA) el cual se preparó en matraces Erlenmeyer de 250 mL. Se preparó una solución de Tween 80 con agua destilada al 0.1% de concentración, la cual se depositó en un frasco de vidrio previamente estéril, que posteriormente fueron esterilizados en la autoclave All Star a 120 °C durante 15 minutos. Se depositaron los matraces Erlenmeyer con el cultivo de *Colletotrichum gloeosporioides* por triplicado, y la solución de Tween 80-agua destilada al 1% estéril. Se agitaron los matraces de manera manual y transversal durante 2 minutos, para desprender los conidios del hongo. Se tomaron 10 mL de solución con una pipeta serológica de 10 mL de volumen la cual se esterilizará anteriormente en una estufa All American a 150 ° C durante 1 hora envuelta de papel estraza. Con ayuda de una micropipeta de 1000 mL con punta estéril se mezcló la solución Tween 80 con el hongo, esto para contribuir en el desprendimiento de los conidios. Se depositó una gota de esa solución resultante en la cámara de Neubauer, utilizando los cuadrantes extremos y el central para realizar el conteo de conidias.

Para calcular la concentración se utilizarán las siguientes fórmulas:

$$\text{Concentración obtenida} = \frac{\# \text{ conidias}}{\text{mL}} = (\text{conidias contadas})(5)(10,000)$$

$$\text{Factor de dilución} = \frac{\text{Concentración obtenida} \left(\frac{\text{conidias}}{\text{mL}} \right)}{\text{concentración deseada}}$$

Ecuación 1 Fórmulas para el cálculo de la concentración de soluciones conidiales. (Colomé et al., 1986)

4.2.6 Proceso de fermentación de la harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*.

Se montaron tres distintas proporciones donde se varió la cantidad de medio de cultivo y de harina de maíz azul, así como también el tiempo de fermentación que fue de 20, 25 y 30 días. Las proporciones que se utilizaron se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5 Proporciones de harina de maíz azul y medio de cultivo Czapek Dox en caldo montadas en los matraces Erlenmeyer hechos por duplicado

| Código de muestra | Medio de cultivo (mL) | Harina de maíz azul (g) |
|-------------------|-----------------------|-------------------------|
| ABC | 90 | 10 |
| DEF | 80 | 20 |
| GHI | 70 | 30 |

En la tabla 6 se muestra la manera en que se identificarán cada una de las muestras obtenidas en la fermentación, con la finalidad de tener un mayor orden y evitar cualquier problema de manipulación.

Se realizaron las inoculaciones de las soluciones conidiales en una campana de flujo laminar limpia con lámpara de UV previamente encendida durante 30 minutos, para eliminar cualquier contaminación posible. Se depositaron 100 μ L de solución conidial con concentración de 1.3×10^6 conidias/mL a cada una de las muestras correspondientes, cuya proporción se explica más adelante. Se utilizó la metodología modificada de Alarcón-Sáenz, 2017.

Los controles tuvieron la misma proporción de cada una de las muestras, con la única diferencia fue que no fueron inoculados con soluciones conidiales al 1.3×10^6 conidias/mL de *Colletotrichum gloeosporioides* si no que se les depositó 100 μ L de agua destilada estéril. Se usó un control por cada proporción correspondiente a 20, 25 y 30 días, es decir que en total se obtendrán 36 muestras control.

Las muestras se fermentaron en una incubadora Shaker Innova 4300. La temperatura de la incubadora Shaker se ajustó a 28 °C a 100 rpm durante el tiempo establecido de 20, 25 y 30 días. Cada vez que se retiren las muestras cumpliéndose el tiempo requerido, se pausó por un máximo de 3 min, se abrió la compuerta de la incubadora, y se retiraron las muestras.

Tabla 6 Identificación de las muestras resultantes de la fermentación de harina de maíz azul con *Colletotrichum gloeosporioides*. Proporciones modificadas de la metodología de Aguilar et al (2010)

| Medio de cultivo líquido Czapek Dox (mL) – Harina de maíz (<i>Zea mays</i> L.) (g) | | | | | | | | | | | | |
|---|-------------|------|------|-----------------|------------|------|------|----------------|------------|------|------|-----------------|
| Tiempo (días) | 90 mL -10 g | | | Cx | 80 mL-20 g | | | Cx | 70 mL-30 g | | | Cx |
| 20 | 20 A | 20 B | 20 C | 90-10 20 cx | 20 D | 20 E | 20 F | 80-20 20 cx | 20 G | 20 H | 20 I | 70-30 20 cx |
| 25 | 25 A | 25 B | 25 C | 90 -10 25 cx | 25 D | 25 E | 25 F | 80-20 25 cx | 25 G | 25 H | 25 I | 70-30 25 cx |
| 30 | 30 A | 30 B | 30 C | 90 -10 30 Cx | 30 D | 30 E | 30 F | 80-20 30 cx | 30 G | 30 H | 30 I | 70 -30 30 cx |

4.2.7 Caracterización del gel obtenido en la muestra de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*.

4.2.7.1 Propiedades reológicas

Se determinó la temperatura de transición a los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul con *C. gloeosporioides* con un reómetro Discovery HR-3. Se determinó la temperatura de transición vítrea en los geles producidos en la fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) y *Colletotrichum gloeosporioides*. La geometría elegida fue un plato paralelo T. A. instruments de acero de 40 mm. Las muestras de los geles se sometieron a un barrido de temperatura de 25 °C a 98 °C, con un esfuerzo cortante al 1% constante, frecuencia de 1 hz y un gap de 1000 μM. Se graficó el módulo de almacenamiento (G'), el módulo de pérdida (G'') y el ángulo fase (δ) contra la temperatura. Se obtuvieron los datos en el software TRIOS® (T. A. instruments)

4.2.7.2 Análisis proximal

De igual manera que la harina de maíz azul (*Zea mays* L.) se le realizará el análisis proximal a los geles obtenidos en el proceso de fermentación, los cuales son los siguientes: Para la determinación de grasas presentes en los geles de la fermentación

se utilizará el método Soxhlet basado en la Norma Mexicana NMX-F427-1982. El porcentaje de proteínas se determinará por medio del método descrito en la Norma Mexicana NOM-F-68-S-1980. Se utilizará la Norma Mexicana NMX F-066-S-1978 para la determinación de carbohidratos.

4.2.7.3 Pruebas de solubilidad de solventes

Se disolvieron 200 mg de cada muestra de gel por triplicado (25 G y 25 H) en 5 mL de hexano, acetato de etilo, etanol y agua destilada. Se agitaron en Vórtex de 1-2 min. Se eligió el solvente donde las muestras de gel se disolvieron por completo.

Se determinó el pH de las muestras de gel 25 H y 25 F. Se prepararon las soluciones de los geles al 10% m/v. Se midió el pH de las muestras con el potenciómetro Thermo Scientific Orion 3-Star. Se depositaron 25 mg de muestra de gel en un tubo de ensayo. Se añadieron 500 µL de bicarbonato de sodio al 5% m/v. El ensayo se realizó por triplicado.

4.2.7.4 Dosis letal media (DL₅₀) con *Artemia salina*

La eclosión de los huevos de *Artemia salina*, se llevó a cabo depositando 0.1 g de los huevos en un matraz Erlenmeyer de 1 L con una solución salina de 38% en condiciones de oscuridad, con aportación de oxígeno y a 25°C. Después de 24 horas, los huevos se pasaron a otro matraz con las mismas condiciones de oscuridad, oxigenación y temperatura durante 24 horas más. Para la preparación de las soluciones con los geles se diluyeron en agua destilada, para formar concentraciones de 1000, 750, 500, 250, 100, 50, 1 mg/kg. Transcurridas las 24 horas se depositaron 10 nauplios en viales de vidrio estériles para después agregar 3 mL de las soluciones de gel a probar. Se utilizó como control positivo, dicromato de potasio utilizando las mismas condiciones de las soluciones de gel, y agua destilada con solución salina al 38% para control negativo. Se dejaron 24 horas en incubación en condiciones de oscuridad, se contaron los nauplios muertos con ayuda de un microscópico estereoscopio. Se determinó la DL₅₀ con el método probit en Minitab 17. (Lima *et al.*, 2022; Rodríguez *et al.*, 2010)

4.2.7.5 Caracterización microscópica

Se visualizaron las muestras en fresco de los geles 25 F (80 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 20 g de harina de maíz azul (*Zea mays* L.)) y 25 H ((70 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 30 g de harina de maíz azul (*Zea mays* L.)) en un microscopio óptico Optika B-192PL con cámara ensamblada con el objetivo 40X y 10X.

4.2.7.6 Caracterización por Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR)

Las muestras de los geles y la harina de maíz azul (*Zea mays* L.) se secaron en un horno de secado al vacío Thermo Scientific Isotemp® a una presión de 1 mmHg durante 48 horas. Las muestras de gel se liofilizaron en un equipo LABCONCO E-9320, a una temperatura de -45°C, una presión de 170×10^3 Bar durante 48 horas. Se elaboraron pellets con una prensa manual hidráulica especializada de Bromuro de Potasio (KBr) grado FT-IR Sigma Aldrich CAS 7758-02-3 previamente secado a 50 °C durante 48 horas y las muestras de los geles, para el posterior análisis en FT-IR. Los pellets de KBr-muestra de geles se depositaron directamente en el equipo. Los espectros infrarrojos de transmisión de los pellets se registraron a temperatura ambiente usando un espectrómetro Thermo Scientific Nicolet 6700 a una resolución de 2 cm^{-1} en el rango de $800\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$, metodología modificada de Sudhamani et al (2003).

4.2.7.7 Análisis experimental

El análisis estadístico constó de un diseño factorial de dos factores. Los factores a evaluar fueron el tiempo de fermentación (días) y las proporciones utilizadas (cantidad de harina de maíz azul en gramos y el medio de cultivo Czapek Dox en mililitros) y la interacción entre ambos factores. La variable de respuesta corresponde a la cantidad de gel producido en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*. Para cada estándar se obtuvo la suma de los cuadrados (SS), los grados de libertad (GL), el promedio de los cuadrados (MS), el valor de F y F crítica correspondiente al nivel de significancia (α) de 0.05. Todo el diseño se llevara a cabo en el software estadístico Minitab 17 ®.

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Caracterización Mediante Morfología de *Colletotrichum gloeosporioides*

El hongo endófito *Colletotrichum gloeosporioides* fue aislado e identificado molecularmente previamente del fruto Chagalapoli (*Ardisia compressa*) por Alarcón-Sáenz en el 2017. Se sembró el hongo cada 15 días en medios de cultivos nuevos Papa-Dextrosa (PDA) para el mantenimiento del hongo vivo en las condiciones estériles recomendadas.

5.2 Soluciones conidiales de *Colletotrichum gloeosporioides*

Se calculó la concentración de las soluciones conidiales, siendo ésta misma 1.3×10^6 con/mL. No se requirió hacer ninguna dilución, ya que la concentración obtenida es muy cercana a la concentración deseada de 1×10^6 con/mL que reportó Alarcón-Sáenz en el 2017 y que es el documento que se utilizó como base en este estudio.

$$\text{Concentración obtenida} = (26 \text{ conidias contadas})(5)(10,000) = 1.3 \times 10^6 \text{ conidias/mL}$$

Figura 3 Cálculo de las soluciones conidiales.

5.3 Producción del gel en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays*) con *Colletotrichum gloeosporioides*

En la fermentación se obtuvieron 2 geles procedentes de las muestras 25 F y 25 H, correspondientes a las proporciones de 80 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 20 gramos de harina de maíz azul y 70 mL de medio de cultivo Czapek Dox respectivamente. Villarreal-Rodríguez en el 2022, reportaron la producción de un único gel en la fermentación de harina de maíz azul y *C. gloeosporioides* por lo que en el presente proyecto con las mismas condiciones de fermentación se volvió a producir.

En la tabla 7 se pueden observar la cantidad de geles producido en cada una de las muestras ya mencionadas.

Tabla 7 Cantidad de gel producido en la fermentación de harina de maíz azul con *Colletotrichum gloeosporioides*

| Muestra | Proporción (mL-g) | Cantidad (g) |
|---------|-------------------|--------------|
| 25 F | 80 mL-20 | 33.2039 |
| 25 H | 70 mL-30 | 36.0244 |

En la figura 4 se muestran los geles producidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) y medio de cultivo Czapek Dox con *Colletotrichum gloeosporioides*.



Figura 4 Geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*.

5.4 Caracterización del gel obtenido en la muestra de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*.

5.4.1 Análisis proximal del gel obtenido en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*.

El análisis proximal tiene la finalidad de comprender el porcentaje de los macronutrientes en un alimento para dar a conocer las características fisicoquímicas del mismo, en el cual influyen directamente distintos factores relacionados con el clima, genética, la composición del suelo entre otros. (Romo *et al.*, 2006; Edogbanya, 2016)

El análisis proximal de los geles obtenidos en la fermentación de harina de maíz azul y medio de cultivo Czapek Dox con *Colletotrichum gloeosporioides* arrojó que en la composición química el porcentaje más alto corresponde a los carbohidratos, el cual constó de 73.67%. Mex-Álvarez *et al* (2016) reportaron que obtuvieron un porcentaje de Carbohidratos de 74.30% en maíz azul-morado, siendo precisamente la macromolécula más abundante de igual manera en dicho ensayo. Es importante mencionar que el porcentaje de humedad y cenizas fue de 9.19% y 1.79% respectivamente, Mex-Álvarez *et al* (2016) indicaron que el porcentaje de humedad en el análisis proximal del maíz azul (*Zea mays* L.) fue de 10.43%, y el porcentaje de cenizas de 1.42%. Con respecto a la cantidad de lípidos y proteínas se obtuvo un porcentaje de 6.66% y 8.67% en el presente ensayo, por lo que se considera una cantidad alta de proteína y lípidos comparada con la revisión bibliográfica dónde normalmente se encuentran valores de 4% de lípidos y 6% de proteína en el análisis proximal del maíz azul (*Zea mays* L.)

El análisis proximal de los geles obtenidos en la fermentación de harina de maíz azul y medio de cultivo Czapek Dox con *Colletotrichum gloeosporioides* demostró que la macromolécula presente con el porcentaje más alto corresponde a los carbohidratos seguido por el porcentaje de humedad. Aunque la jerarquía es la misma en las dos muestras de los geles, es decir en los dos geles se obtuvieron más carbohidratos, seguidos por mayor cantidad de agua sin embargo el porcentaje presentó variación. En el gel 25 H (70 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 30 g de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con 25 días de fermentación) se obtuvo un porcentaje de carbohidratos correspondiente al 24.43% y en la muestra 25 F (80 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 20 g de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con 25 días de fermentación) obtuvo

un valor de 2.56% de carbohidratos. En el caso de la humedad la muestra 25 F fue la que obtuvo un mayor porcentaje con 84% a diferencia de la muestra 25 H, la cual demostró contener 63.78%. Todos los datos mencionados pueden revisarse en la tabla 8.

Tabla 8 Análisis proximal de las muestras de gel obtenidas en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides* y de la harina sin ser sometida a ningún proceso de fermentación.

| Muestra | Proporción (mL-g) | Humedad (%) | Cenizas (%) | Proteínas (%) | Lípidos (%) | Carbohidratos (%) |
|---------------------|-------------------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------------|
| Harina de maíz azul | N. A. | 9.19±0.04 | 1.79±0.00 | 8.67±0.30 | 6.66±0.03 | 73.6722±0.22 |
| 25 H | 70-30 | 63.78±0.28 | 1.01±0.06 | 5.17±0.68 | 5.58±0.39 | 24.4386±0.01 |
| 25 F | 80-20 | 84.75±0.19 | 0.85±0.03 | 5.30±0.60 | 6.51±0.45 | 2.5630±0.02 |

N. A. No aplica. Resultados expresados en porcentaje como media más/menos desviación estándar ($X \pm SD$; siglas en inglés: *Standard Deviation*).

5.4.2 Pruebas de solubilidad de solventes

Los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides* presentaron una solubilidad en compuestos polares como el agua destilada (H₂O) y el Etanol (CH₃CH₂OH). Los compuestos orgánicos pueden seguir tres reglas independientes de solubilidad. La primera regla indica que las moléculas orgánicas pequeñas son más solubles en agua que las moléculas largas. La segunda regla demuestra que las moléculas orgánicas polares especialmente aquellas que son capaces de tener puentes de hidrógeno, son más solubles en agua que las moléculas no polares. La tercera regla indica que los compuestos que se encuentran en su forma iónica presentan una mayor afinidad a solubilizarse en agua que los que se encuentran en sus formas neutras. (University of Delaware, 2018) En la tabla 9 se indican los resultados obtenidos en las pruebas de solubilidad en ambas muestras de gel.

Tabla 9 Prueba de solubilidad de los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) Con *Colletotrichum gloeosporioides*.

| Muestras | Solventes orgánicos | | | |
|-------------------|---------------------|------------------|--------|----------------|
| | Hexano | Acetato de etilo | Etanol | Agua destilada |
| 25 F ₁ | INS | INS | S | S |
| 25 F ₂ | INS | INS | S | S |
| 25 F ₃ | INS | INS | S | S |
| 25 H ₁ | INS | INS | S | S |
| 25 H ₂ | INS | INS | S | S |
| 25 H ₃ | INS | INS | S | S |

S: Soluble INS: Insoluble

La muestra 25 F (80 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 20 g de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) obtuvo un pH de 6.1 ± 0.10 . La muestra 25 H (70 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 30 g de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) obtuvo un valor pH de 6.63 ± 0.05 . Los valores de pH menores de 4 indican que tienen un ácido carboxílico, a diferencia de los que obtienen un pH igual o mayor a 8, presentan una amina en su estructura.

Tabla 10 Determinación de pH determinado por papel medidor de los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) Con *Colletotrichum gloeosporioides*.

| Muestras | pH de muestra | pH de control |
|----------|---------------|---------------|
| 25 F | 6.1±0.10 | 7.02±0.12 |
| 25 H | 6.63±0.05 | |

Resultados expresados valor absoluto de pH como media más/menos desviación estándar ($X \pm SD$; siglas en inglés: *Standar Deviation*).

La muestra 25 F (80 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 20 g de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) presentó burbujas al solubilizarse con NaHCO_3 al 5% (m/v). Los ácidos carboxílicos presentes en las muestras de gel, reaccionaron con el NaHCO_3 para formar sales solubles en agua, dicha reacción produjo Dióxido de Carbono (CO_2).

5.4.3 Dosis Letal Media con *Artemia salina*

La Dosis Letal Media los geles producidos en la fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*, indicó su toxicidad aguda, es decir, se determinó la concentración exacta (mg/kg) de cada muestra de gel necesaria para poder tener efecto tóxico a la mitad de individuos después de un tiempo determinado. A continuación en la tabla 11 se puede observar los datos obtenidos para la determinación de la Dosis Letal Media (DL_{50}) de los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) Con *Colletotrichum gloeosporioides*.

Tabla 11 Determinación de Dosis Letal Media (DL50) de los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) Con *Colletotrichum gloeosporioides*.

| Muestra | Concentración | Mortalidad | DL ₅₀ (mg/kg) |
|---------|---------------|------------|--------------------------|
| 25 F | 100 | 1±1.09 | 682 |
| | 75 | 2±0.89 | |
| | 50 | 2±1.87 | |
| | 25 | 1±1.41 | |
| | 10 | 1±0.5 | |
| 25 H | 100 | 2±0.44 | 601 |
| | 75 | 3±0.44 | |
| | 50 | 3±0.54 | |
| | 25 | 2±0.44 | |
| | 10 | 2±0.54 | |

Resultados expresados en número de individuos (Nauplios de *Artemia salina*) como media más/menos desviación estándar ($X \pm SD$; siglas en inglés: *Standar Deviation*).

La Figura 5 indica el ensayo Probit donde se determinó que las muestras 25 F y 25 H necesitan 682 mg/kg y 601 mg/kg respectivamente para que sea tóxico al consumo.

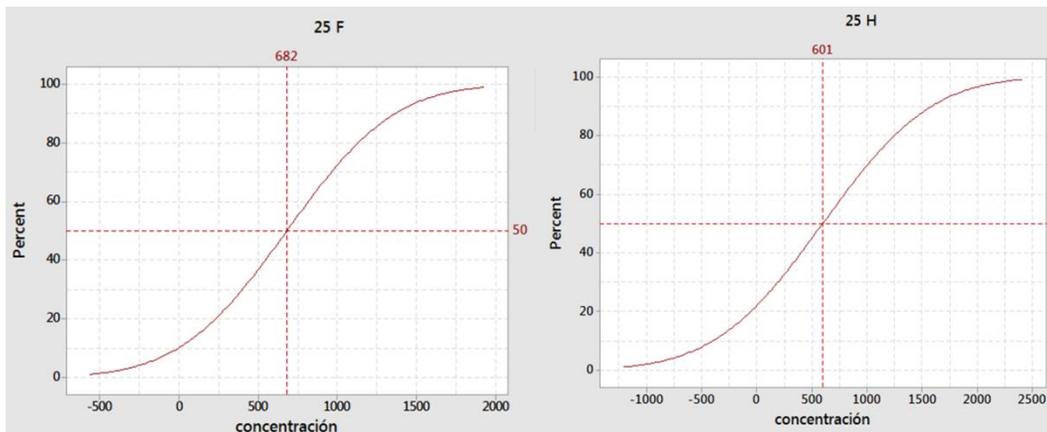


Figura 5 Análisis probit en Minitab® 17 de la Dosis Letal Media (DL50) de los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*

Es importante determinar si dichas concentraciones son permitidas al usarlas como aditivos de alimentos, que es la principal posible aplicación para los geles obtenidos en la fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*.

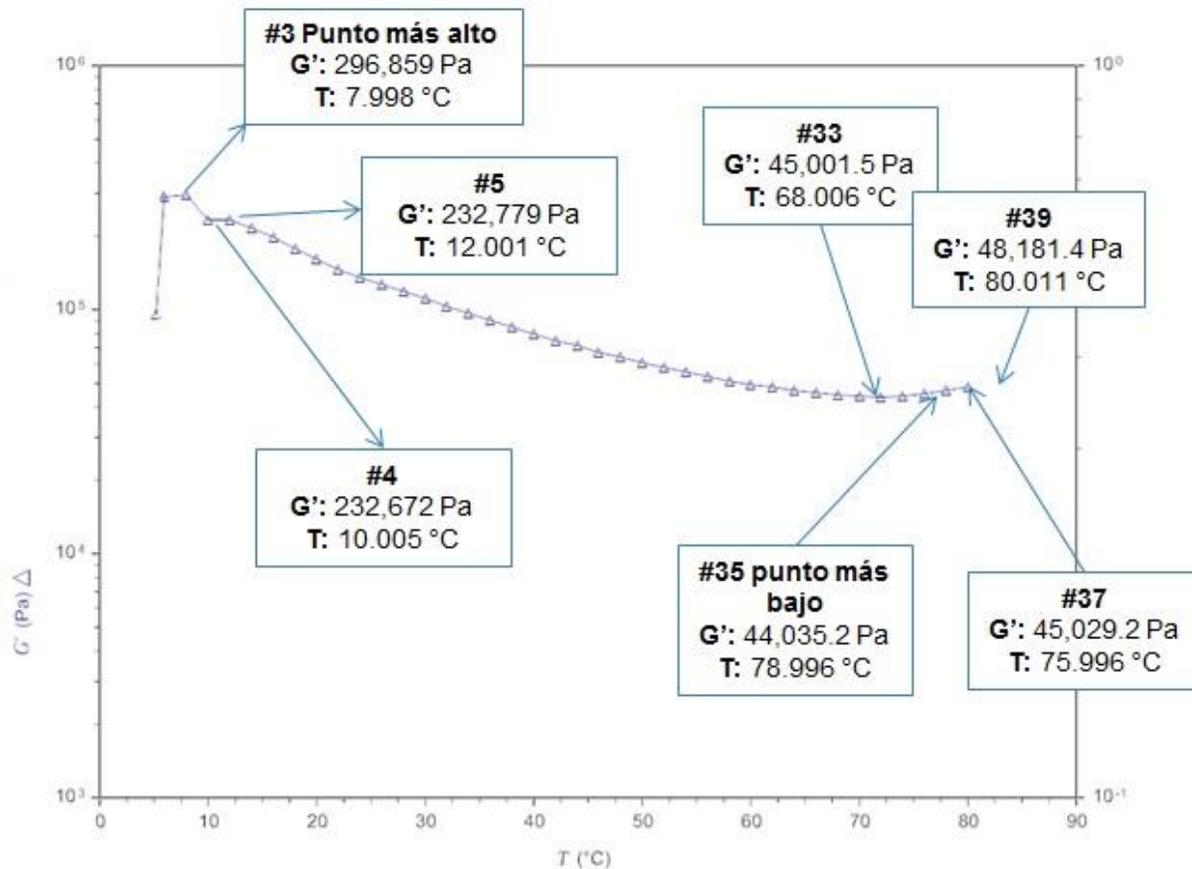
Según la Evaluación de algunos aditivos de alimentos de la Organización de Alimentos y agricultura de los Estados Unidos (FAO, por sus siglas en inglés; *Food and Agriculture Organization*) existen algunos agentes gelificantes a los cuales es de suma importancia determinar la dosis letal media de dichas sustancias para establecer la seguridad alimentaria durante su consumo. (FAO, 2015)

Unas de las gomas más utilizadas en la industria alimentaria es la goma Xantana es un polisacárido de alto peso molecular que está constituido principalmente por D-glucosa y D-manosa como hexosa dominante en su estructura, además de poseer ácido D-glucorónico y ácido pirúvico. La xantana es producida por la fermentación de una fuente rica en carbohidratos por la bacteria *Xanthomonas campestris*, algo similar con los geles obtenidos en el presente proyecto, a diferencia del microorganismo usado, donde precisamente se utilizó un hongo filamentoso en vez de una bacteria. La goma Xantana exhibió baja toxicidad oral, en ratas, ratones y perros con valores de LD₅₀ que oscilaron de 1000-45,000 mg/kg. (FAO, 2015) en comparación con los geles

obtenidos en el presente trabajo de investigación, la dosis letal media, aunque fue realizada en individuos diferentes, tiene valores muy altos a diferencia de los geles producidos en la fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) y *Colletotrichum gloeosporioides* donde se obtuvieron concentraciones mínimas de 682 mg/kg para la muestra 25 H y 601 mg/kg para la muestra 25 F, donde claramente en el caso de la goma xantana es usada de manera segura como aditivo alimentario.

5.4.4 Análisis de propiedades reológicas del gel obtenido en el proceso de fermentación de la harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*.

Se sometió a un barrido de temperatura a los geles producidos en la fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*, donde se determinaron los cambios reológicos producidos como cambios irreversibles en su forma, se detectó la sensibilidad que tienen a la temperatura y la repercusión de esto en la calidad y la eficacia que pueden aportar a un producto.



G'=Modulo de almacenamiento; T=Temperatura

Figura 6 Análisis reológico de Barrido de temperatura a la muestra 25 H de los geles obtenidos en el proceso de fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays L.*) con *Colletotrichum gloeosporioides*

En la figura 6 se pueden observar distintos puntos que describen el comportamiento del gel a través de aumentar el módulo de almacenamiento (G') y la temperatura. El punto #3 alcanzó el valor de G' más alto correspondiente a una temperatura de 7.998°C lo que indica que a esas condiciones el gel conserva su estado sólido. (Rheology Testing services, 2022) La temperatura aumenta a 10.005°C y el módulo de almacenamiento a 232.672 Pa , identificado como el punto #4 luego, al aumentar la temperatura a 12.001°C , el valor de G' vuelve a aumentar ligeramente a 232.779 Pa , en el punto #5. A partir de los puntos mencionados, la temperatura incrementa y la G' disminuye linealmente. Entre el punto #33 (G' : $45,001.5\text{ Pa}$; T : 68.006°C) y el punto #37 (G' : $45,029.2\text{ Pa}$; T : 75.996°C) se puede observar una ligera curva donde precisamente en el punto #35 el

cual es el valor de G' más bajo, con 44,035.2 Pa y 78.996°C cesa el decremento y empieza el aumento de G' . Esto representa que el gel al aumentar la temperatura y disminuir el valor de G' iba perdiendo su estado sólido pasando al estado gomoso, pero en el momento de que el valor de G' empieza a aumentar, se vuelve a solidificar. En el punto #37, el valor de G' sigue aumentando conforme la temperatura aumenta, lo que puede indicar que el gel podría tener cambios reversibles, porque el valor de G' sigue aumentando mientras la temperatura aumenta, de la misma manera, el gel podría ser resistente a las altas temperaturas.

5.4.5 Caracterización microscópica

Se observó en las microfotografías de los geles obtenidos en el proceso de fermentación, la morfología de los gránulos de almidón presentes en el maíz. Di Paola y colaboradores en el 2003 evaluaron la gelatinización del almidón de maíz a distintas temperaturas para su posterior hidrólisis con métodos enzimáticos, donde demostraron por medio de microfotografías en microscopio óptico con 40X de objetivo que al aumentar la temperatura los gránulos se observan los cambios morfológicos y la disminución de birrefringencia (presencia de “cruz de malta” en el centro de los gránulos) hasta la ruptura granular a partir de los 65°C.

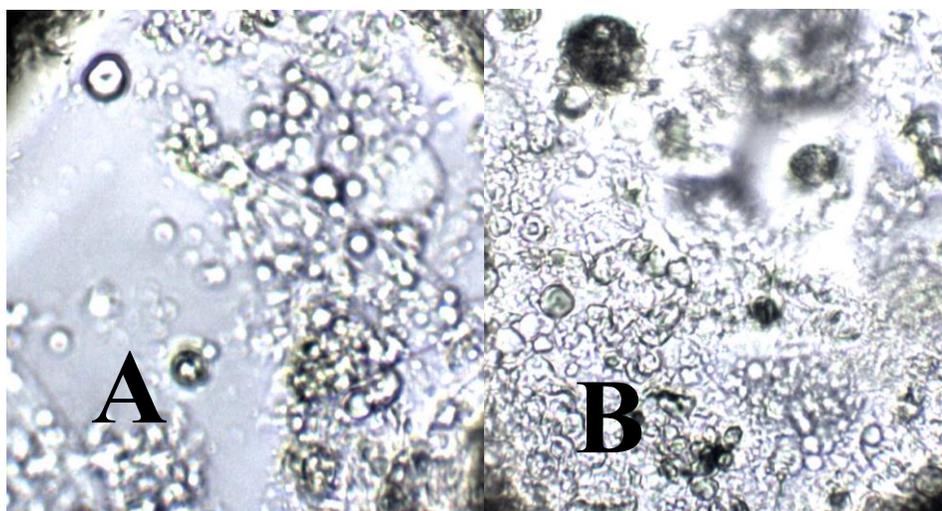


Figura 7 Caracterización microscópica de los geles procedentes de la fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) y *Colletotrichum gloeosporioides*. A. Muestra 25 H B. Muestra 25 F

Cuando los gránulos de almidón se someten a temperaturas altas en exceso de humedad, se rompen e hinchan lo cual ocasiona que la amilasa sea filtrada y se solubilice, ocurriendo la gelatinización. (Banerjee *et al.*, 2012) En la microfotografía de la figura 7, de las dos muestras de gel, se observó cómo los gránulos no presentan las características ya mencionadas de la gelatinización, ya que aún se puede ver la birrefringencia de los gránulos además de permanecer íntegros.

Se considera un hallazgo importante, ya que aquí se puede descartar que la gelatinización del almidón sea la principal causa de la formación de los geles en la fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides*.

Cabe mencionar que existen una gran variedad de procesos relacionados con la producción de geles, ya sea por el tipo de microorganismo, su metabolismo, los sustratos utilizados y en qué procesos relacionados se pueden obtener, siendo la fermentación precisamente la técnica más empleada. Se necesitan pruebas más específicas para saber que vías metabólicas emplea *Colletotrichum gloeosporioides* para la generación de sustancias gelatinosas, que si bien por lo reportado por otros autores y por su servidor, se sabe que efectivamente las produce, pero no se sabe con exactitud el como lo hace, aunque podría estar relacionado con la utilización del sustrato en este caso de la harina de maíz azul y del medio de cultivo Czapek Dox con la ayuda de enzimas especializadas propias del hongo.

5.4.5 Caracterización estructural con Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR)

Los espectros de FT-IR muestran los grupos funcionales y brindan información estructural sobre la harina de maíz azul y los geles obtenidos en la fermentación, en las longitudes de onda entre 800 y 4,000 cm^{-1} . De las figuras 8-10 se pueden observar los espectros obtenidos tanto en las muestras de gel como en la muestra de harina de maíz azul (*Zea mays* L.).

Los espectros FT-IR en el rango de longitud de onda de 950 a 1200 cm^{-1} se consideran como la región de la "huella digital" de los carbohidratos, ya que permite la identificación de los principales grupos químicos en los polisacáridos (Cerna *et al.*,

2003). Los principales grupos funcionales de la pectina suelen estar en la región entre 1000 y 2000 cm^{-1} de los espectros FTIR (Kalapathy *et al.*, 2001)

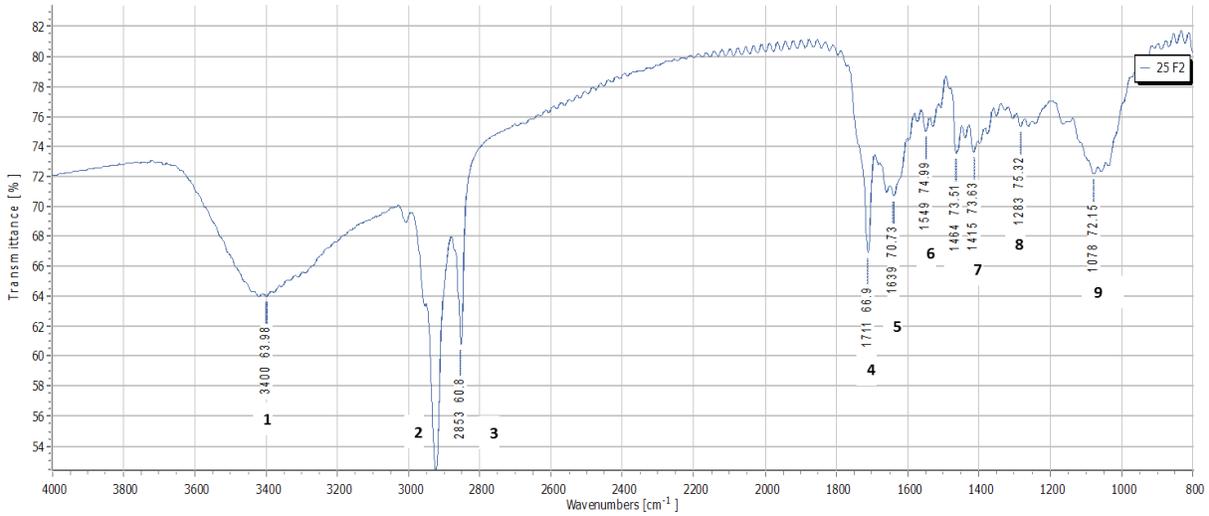


Figura 8 Caracterización microscópica de los geles procedentes de la fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) y *Colletotrichum gloeosporioides*. A. Muestra 25 H B. Muestra 25 F

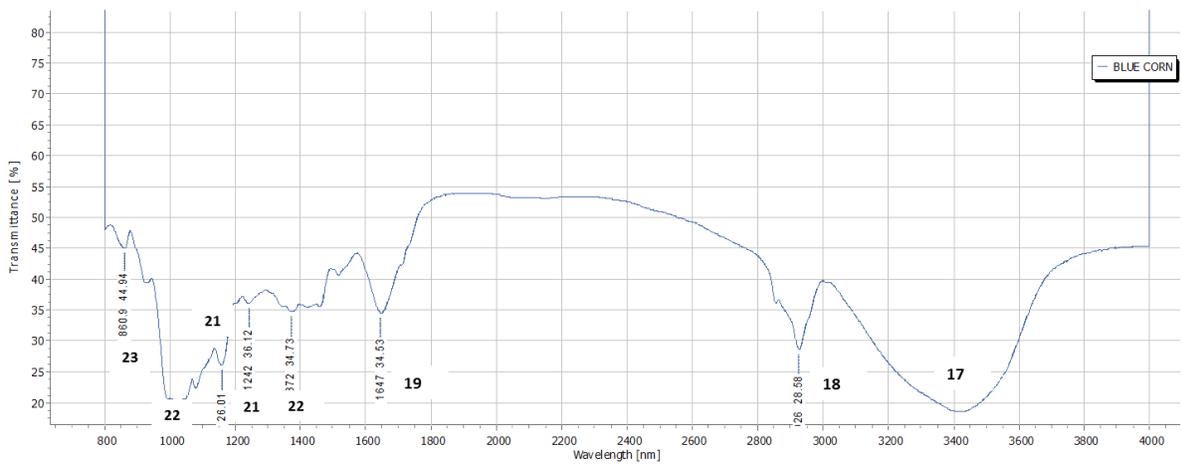


Figura 9 Espectros de FTIR de la muestra 25 F (80 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 20 g de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) 25 días de fermentación)

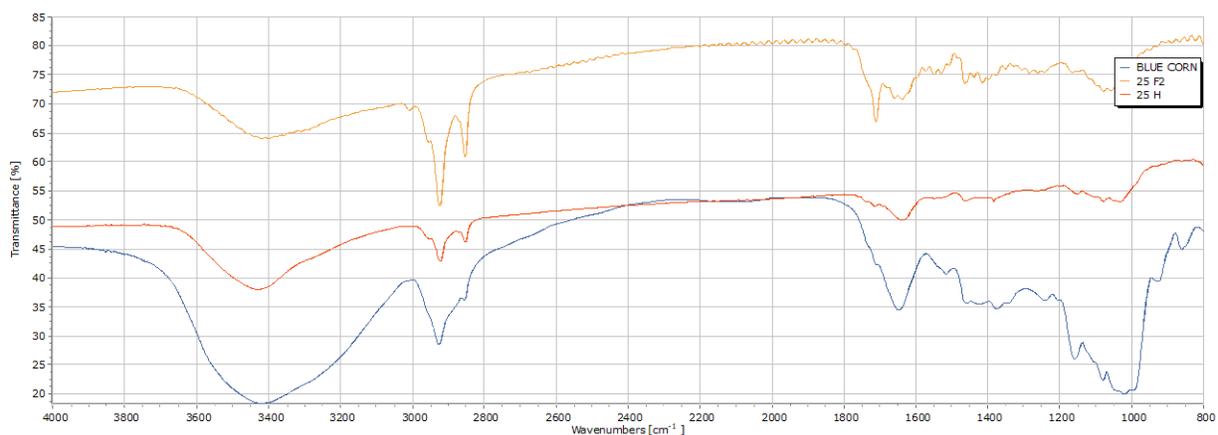


Figura 10 Espectros de FTIR de la muestras de gel 25 F, 25 H y harina de maíz azul (*Zea mays* L.)

Las primeras 9 bandas corresponden a la muestra 25 F (80 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 20 g de harina de maíz azul. (*Zea mays* L.)) La banda ancha 1 en 3400 cm^{-1} podría deberse a la vibración de estiramiento O-H, indicando un ácido carboxílico presente, de igual manera indicaría la vibración de estiramiento N-H, de sales de amina. La banda 4 en 1711 cm^{-1} probablemente puede deberse a la vibración de estiramiento C=O de un ácido carboxílico, la banda 5 de absorción en 1639 cm^{-1} probablemente se deba a la flexión C=C. La banda 7 en 1415 cm^{-1} se debería a la vibración de estiramiento N-O, la banda 8 en 1283 cm^{-1} podría deberse a la vibración de estiramiento C-N. Las demás bandas encontradas están descritas en la tabla 12.

Tabla 12 Absorción de las muestras y absorción de referencia (cm⁻¹), apariencia, enlace y grupo funcional referente a los picos de los espectros FT-IR de la muestras de gel 25 F (Sigma Aldrich, 2022)

| Número de banda | Absorción | Absorción de referencia (cm ⁻¹) | Apariencia | Enlace | Grupo funcional |
|-----------------|-----------|---|------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 3400 | 3300-2500 | Fuerte | O-H <i>Stretching</i> | Ácido carboxílico |
| | | 3000-2800 | Fuerte | N-H <i>Stretching</i> | Sales de amina |
| 2 | 2924 | 3000-2840 | Media | C-H <i>Stretching</i> | Aldehído |
| 3 | 2853 | 3000-2840 | Media | C-H <i>Stretching</i> | Aldehído |
| 4 | 1711 | 1725-1705 | Fuerte | C=O <i>Stretching</i> | Cetona |
| | | 1720-1706 | Fuerte | C=O <i>Stretching</i> | Ácido carboxílico |
| 5 | 1639 | 1650-1600 | Media | C=C <i>Stretching</i> | Alquenos |
| | | 1650-1580 | Media | N-H <i>Bending</i> | Amina |
| | | 1648-1638 | Fuerte | C=C <i>Stretching</i> | Alquenos |
| 6 | 1549 | 1390-1380 | Media | C-H <i>Bending</i> | Aldehído |
| 7 | 1415 | 1550-1500 | Fuerte | N-O <i>Stretching</i> | Compuesto nitrogenado |
| 8 | 1283 | 1342-1266 | Fuerte | C-N <i>Stretching</i> | Amina aromática |
| | | 1310-1250 | Fuerte | C-O <i>Stretching</i> | Éster aromático |
| 9 | 1078 | 1250-1020 | Media | C-N <i>Stretching</i> | Amina |
| | | 1085-1050 | Fuerte | C-O <i>Stretching</i> | Alcohol primario |

Las bandas correspondientes a la muestra 25 H (70 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 30 g de harina de maíz azul. (*Zea mays* L.)) Son desde la 10-16. La banda ancha 10 en 2922 cm⁻¹ podría deberse a la vibración de estiramiento O-H, indicando un ácido carboxílico presente, de igual manera indicaría la vibración de estiramiento N-H, de sales de amina, exactamente como se mostró anteriormente en la muestra 25 F. La banda 11 en 2853 cm⁻¹ probablemente puede deberse a la vibración de estiramiento O-H de un ácido carboxílico, la banda 12 de absorción en 1640 cm⁻¹ probablemente se deba a la flexión C=C de alquenos. La banda 15 en 1078 cm⁻¹ se debería a la vibración de estiramiento C-O y la banda 16 en 1033 cm⁻¹ podría deberse

a la vibración de estiramiento S=O. Las demás bandas encontradas están descritas en la tabla 13.

Tabla 13 Absorción (cm⁻¹), apariencia, enlace y grupo funcional referente a los picos de los espectros FT-IR de la muestras de gel 25 H (Sigma Aldrich, 2022)

| Número de banda | Absorción | Absorción de referencia (cm ⁻¹) | Apariencia | Enlace | Grupo funcional |
|-----------------|-----------|---|------------|-----------------------|-------------------|
| 10 | 2922 | 3300-2500 | Fuerte | O-H <i>Stretching</i> | Ácido carboxílico |
| | | 3000-2800 | Fuerte | N-H <i>Stretching</i> | Sales de amina |
| 11 | 2853 | 3300-2500 | Fuerte | O-H <i>Stretching</i> | Ácido carboxílico |
| | | 3000-2800 | Fuerte | N-H <i>Stretching</i> | Sales de amina |
| 12 | 1640 | 1690-1640 | Media | C=N <i>Stretching</i> | Aldehído |
| | | 1650-1600 | Media | C=C <i>Stretching</i> | Alqueno |
| | | 1650-1580 | Media | N-H <i>Bending</i> | Aminas |
| | | 1650-1566 | Media | C=C <i>Stretching</i> | Alqueno |
| | | 1648-1638 | Fuerte | C=C <i>Stretching</i> | Alquenos |
| 13 | 1465 | 1465 | Media | C-H <i>Bending</i> | Alquenos |
| 14 | 1384 | 1390-1380 | Media | C-H <i>Bending</i> | Aldehído |
| 15 | 1078 | 1085-1050 | Fuerte | C-O <i>Stretching</i> | Alcohol primario |
| 16 | 1033 | 1070-1030 | Fuerte | S=O <i>Stretching</i> | Alcohol sulfóxido |

Para poder comparar de mejor manera los grupos funcionales presentes en las muestras de gel, también se analizó por espectroscopía FTIR la harina de maíz azul (*Zea mays* L.). Las 6 últimas bandas corresponden a la harina de maíz azul (*Zea mays* L.) La banda ancha 17 en 3440 cm⁻¹ podría deberse a la vibración de estiramiento O-H, de un alcohol. La banda 19 de absorción en 1647 cm⁻¹ probablemente se deba a la flexión C=C de alquenos. La banda 20 en 1372 cm⁻¹ se debería a la vibración de estiramiento de C=O de un ácido carboxílico. La banda 21 en 1242 cm⁻¹ se debería a la vibración de estiramiento C=C de alquenos y la banda 22 en 1158 cm⁻¹ podría deberse a la flexión C-H. Las demás bandas encontradas están descritas en la tabla 14.

Tabla 14 Absorción (cm⁻¹), apariencia, enlace y grupo funcional referente a los picos de los espectros FT-IR de la muestras de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) (Sigma Aldrich, 2022)

| Número de banda | Absorción | Absorción de referencia (cm ⁻¹) | Apariencia | Enlace | Grupo funcional |
|-----------------|-----------|---|---------------|-----------------------|-------------------|
| 17 | 3440 | 3550-3200 | strong, broad | O-H <i>stretching</i> | Alcohol |
| 18 | 2926 | 3300-2500 | Fuerte | O-H <i>Stretching</i> | Ácido carboxílico |
| | | 3000-2800 | Fuerte | N-H <i>Stretching</i> | Sales de amina |
| 19 | 1647 | 1690-1640 | Media | C=N <i>Stretching</i> | Amina |
| | | 1650-1580 | Media | N-H <i>Bending</i> | Amina |
| | | 1648-1638 | Fuerte | C=C <i>Stretching</i> | Alquenos |
| 20 | 1372 | 1725-1705 | Fuerte | C=O <i>Stretching</i> | Cetona |
| | | 1720-1706 | Fuerte | C=O <i>Stretching</i> | Ácido carboxílico |
| 21 | 1242 | 1650-1600 | Media | C=C <i>Stretching</i> | Alquenos |
| | | 1650-1580 | Media | N-H <i>Bending</i> | Amina |
| | | 1648-1638 | Fuerte | C=C <i>Stretching</i> | Alquenos |
| 22 | 1158 | 1390-1380 | Media | C-H <i>Bending</i> | Alquenos |

En la figura 11 se mostraron las bandas representativas las cuales corresponden a la banda en 3438 cm⁻¹, la cual se debe a la vibración de estiramiento O-H de un alcohol. La banda en 2923.9 cm⁻¹ se debe a la vibración de estiramiento O-H de un ácido carboxílico. La banda en 1750 cm⁻¹ se debe a la vibración en estiramiento C=O de ésteres. La banda en 1636 cm⁻¹ se debe a la vibración en estiramiento C=C de alquenos, y por último la banda en 1016.2 cm⁻¹ se debe a la vibración en estiramiento de C-N de una amina.

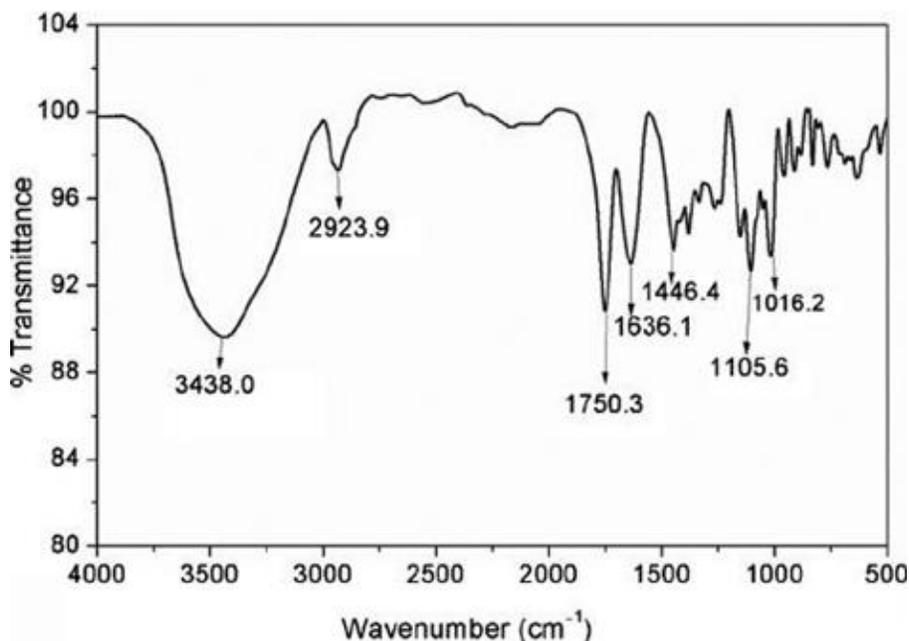


Figura 11 Espectros de FT-IR de la moléculas de pectina comercial extraídas de manzana (Joel et al., 2018)

Esto demostró que si se comparan los espectros FT-IR de los geles con los de la pectina comercial (figura 11), tienen una similitud importante, como se mencionó anteriormente los resultados obtenidos en las pruebas de solubilidad indicaron la presencia de ácidos carboxílicos, los cuales son grupos funcionales encontrados en la estructura de los polisacáridos, por lo que los espectros FT-IR confirmaron que los geles podrían estar compuestos precisamente de polisacáridos, especialmente de pectina. Se encontró que los espectros de ambos geles exhibieron similitudes en sus patrones de absorción con los de la pectina comercial.

Según lo reportado en la bibliografía las gomas son un grupo de polímeros que poseen cadenas largas en su estructura, que poseen la propiedad de formar dispersiones viscosas o geles cuando se dispersan en agua (Thakur, *et al.*, 1997). La aparición de un gran número de grupos hidroxilo se relaciona por ser la tendencia unir moléculas de agua convirtiéndolas en compuestos hidrofílicos.

Además, producen una dispersión, que es intermedia entre una solución verdadera y una suspensión y exhibe las propiedades de un coloide. Los materiales hidrocoloides tienen diferentes propiedades funcionales que incluyen; espesante, gelificante, actividad superficial y emulsionante, estabilización, recubrimiento, etc. Ejemplos de materiales hidrocoloidales son carragenano, derivados de celulosa, quitosano, goma, pectina, almidones, etc. Las pectinas son hidrocoloides heteropolisacáridos estructurales contenidos principalmente en las paredes celulares primarias de muchas plantas. También es un ingrediente alimentario multifuncional que se usa ampliamente como agente gelificante y principalmente como estabilizador en las industrias de procesamiento de alimentos. (Ralet *et al.*, 2009)

Dastgeer et al (2022) reportaron que los hidrogeles pueden ser utilizados en múltiples áreas como lo son el área de almacenamiento de datos, conversión de energía, equipos médicos, debido a que presentan flexibilidad y maleabilidad con alta eficiencia y por supuesto bajo costo. Los hidrogeles son utilizados en aparatos flexibles principalmente por su capacidad de tener una plasticidad semisólida y con facilidad de movimiento, lo que hace que se pueda adaptar de la manera que el consumidor prefiera. Los hidrogeles se pueden utilizar en la industria electrónica en la producción de baterías, transistores, condensadores, paneles de dispositivos móviles táctiles, así como también en la informática siendo parte de sistemas de almacenamiento. (Xin *et al.*, 2023)

De igual manera los hidrogeles se caracterizan por ser biocompatibles, ya que se adhieren en la superficie del órgano, e imitan las distintas funciones mecánicas, químicas y ópticas de los tejidos biológicos, lo que genera demasiado interés en aplicaciones biológicas. Los geles solubles en agua se utilizan en dispositivos portátiles, para la administración de medicamentos, material de curaciones de heridas, entre otras aplicaciones. (Tang *et al.*, 2019) Existen distintos dispositivos de detección portátiles que presentan flexibilidad, los cuales muestran una facilidad de adherirse en la piel de los pacientes, para monitorear ciertos parámetros fisiológicos aunque el cuerpo de los pacientes se encuentre en movimiento, lo que se espera que conlleve

una revolución en la industria biomédica, debido a que mejoraría la calidad de vida de los pacientes. (Nguyen *et al.*, 2020)

5.4.6 Diseño factorial

El valor de F en el factor de las proporciones es igual a 0.5016, el del factor tiempo es 0.5016 , y por último el valor de la interacción entre ambos factores pertenece a 1.2491, los tres valores mencionados son menores a la F crítica correspondiente al valor de α (nivel de significancia) de 0.05 el cual es 3.5545, en el caso de los dos factores y 2.9277 en la interacción, por lo que no se rechazó la hipótesis nula para ninguno de los dos factores y su interacción, dando como resultado que las proporciones, el tiempo ni la interacción entre ellos no influye en la cantidad de gel producido en las muestras fermentadas. En la tabla 19 se puede ver el estadístico completo. En la Figura 12 se observa el diseño factorial completo de la producción de geles de la fermentación de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) y *Colletotrichum gloeosporioides*.

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-------------|--------------|----------------------|
| Proporciones | 89.1930219 | 2 | 44.59651094 | 0.501657161 | 0.613745583 | 3.554557146 |
| Tiempo | 89.1930219 | 2 | 44.59651094 | 0.501657161 | 0.613745583 | 3.554557146 |
| Interacción | 444.197283 | 4 | 111.0493207 | 1.24917142 | 0.325909664 | 2.927744173 |
| Dentro del grupo | 1600.17091 | 18 | 88.8983841 | | | |

Figura 12 Diseño Factorial de la cantidad de gel producido en las muestras de la fermentación de harina de maíz azul con *Colletotrichum gloeosporioides*

6. CONCLUSIONES

Se produjo el gel en la fermentación de la harina de maíz azul (*Zea mays* L.) con *Colletotrichum gloeosporioides* a los 25 días de fermentación en dos muestras procedentes a las proporciones de 80 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 20 g de harina de maíz azul (*Zea mays* L.) y 70 mL de medio de cultivo Czapek Dox y 30 g de harina de maíz azul (*Zea mays* L.). La biomolécula más importante en composición química tanto de la harina de maíz azul (*Zea mays* L.) como en los geles producidos en la fermentación son los carbohidratos.

En el análisis de Dosis Letal media con *Artemia salina*, los geles presentaron toxicidad en alimentos a bajas concentraciones, en comparación con otros agentes gelificantes como la goma xantana. En las pruebas de solubilidad de solventes los geles producidos en la fermentación presentaron solubilidad en solventes polares, lo que indicó que las moléculas presentes en el mismo contienen enlaces entre átomos con electronegatividades muy diferentes. En el análisis reológico, se determinó por medio de un barrido de temperatura que el gel presentó cambios reversibles en altas temperaturas, con gran potencial para distintas aplicaciones: en la industria informática conformando partes de dispositivos móviles flexibles, en el área de almacenamiento de datos, en la industria electrónica en la producción de baterías, conversión energía y en la industria médica, ya que presentan una biocompatibilidad interesante con el cuerpo humano lo que facilita su participación en dispositivos para la monitorización fisiológica en pacientes, entre otras cosas de interés en la medicina. El diseño factorial confirmó que las proporciones, el tiempo de fermentación, o la interacción de ambos factores influyen la producción de los geles en la fermentación. Este trabajo de investigación mostró que los geles producidos en la fermentación de la harina de maíz azul (*Zea mays* L.) pueden estar compuestos por polisacáridos especialmente por pectina, la cual puede servir como una buena fuente alternativa de la misma para fines comerciales, que es una materia prima potencial para las industrias alimentaria.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agama, E. 2011. Características físicas y químicas de dos razas de maíz azul. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 3: 317-329.

Aguilar, C.N. 2010. Fungal Culture Systems for Production of Antioxidant Phenolics Using Pecan Nut Shells as Sole Carbon Source. American Journal of Agricultural and Biological Sciences 5 (3): 397-402.

Aguilar, C.N. 2010. Fungal Culture Systems for Production of Antioxidant Phenolics Using Pecan Nut Shells as Sole Carbon Source. American Journal of Agricultural and Biological Sciences 5 (3): 397-402.

Aguilera, J. M. and Rademacher, B. 2004. Protein gels. In: Proteins in Food Processing, Rickey Yoshio Yuda, Ed. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, New York. pp. 468–482.

Aguilera, J. M. and Kessler, H. G. 1989. Properties of mixed and filled-type dairy gels. J. Food Sci. 54: 1213–1217.

Aguilera, J. M. and Rademacher, B. 2004. Protein gels. In: Proteins in Food Processing Rickey Yoshio Yuda, Ed. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, New York. , pp. 468–482.

Aguilera, J. M. and Stanley, D.W. 1999. Food structuring. In: Microstructural Principles of Food Processing and Engineering, pp. 185–249. Aguilera, J. M., and Stanley, D. W., Eds., Chapman and Hall, New York.

Aguilera, J. M., Kessler, H. G. 1989. Properties of mixed and filled-type dairy gels. J. Food Sci. 54: 1213–1217.

Alarcón-Saenz, M.A. 2017. Aislamiento E Identificación De Un Hongo Endófito Del Fruto De Chagalapoli (Ardisia Compressa) Y Su Relación En La Composición Química. Tesis para maestro en ciencia y tecnología de alimentos. Universidad Autónoma de Chihuahua.

Alarcón-Saenz, M.A. 2017. Aislamiento E Identificación De Un Hongo Endófito Del Fruto De Chagalapoli (Ardisia Compressa) Y Su Relación En La Composición Química.

Tesis para maestro en ciencia y tecnología de alimentos. Universidad Autónoma de Chihuahua.

Alting, A. C., De Jongh, H. H. J., Visschers, R. W., Simons, J. W. F. A. 2002. Physical and chemical interactions in cold gelation of food proteins. *J. Agric. Food Chem.* 50:

Arenas, R. 2014. *Micología Médica ilustrada*. 5ª Edición. Editorial McGraw-Hill.

Armisen, R., Galatas, F., and Hispanagar, S. A. (2000). Agar. In: *Handbook of Hydrocolloids*, pp. 21–39. Phillips, G. O., and Williams, P. A., Eds., Woodhead Publishing Co., Cambridge, U.K.

Badui, S. 2006. *Química de los alimentos*. Cuarta edición. Editorial Alhambra. México, D.F. 140-145.

Banerjee S., Bhattacharya, S. 2012. Food Gels: Gelling Process and New Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52:334–346

Betran, F., Bockholt, A., Rooney, R. 2001. Blue corn in specialty corns. *Food Hydrocolloids* 5: 455-467.

Betran, F., Bockholt, A., Rooney, R. 2001. Blue corn in specialty corns. *Food Hydrocolloids* 5: 455-467.

Bhattacharya, S., and Jena, R. 2007. Gelling behavior of defatted soybean flour dispersions due to microwave treatment: Textural, oscillatory, microstructural and sensory properties, *J. Food Eng.* 78: 1305–1314.

Bonifaz-Trujillo, A. 2012. *Micología médica básica*. 4ª Edición. Editorial McGrawHill.

Boyer, C., Shannon, J. 2001. Carbohydrates of the kernel, corn: chemistry and technology. *Journal of cereal science*.

Bryant, C. M., McClements, D. J. 1998. Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat denatured whey. *Trends in Food Sci. Technol.* 9: 143–151.

Cayot, P., and Lorient, D. 1997. Surface-function relationships of whey proteins. In: *Food Proteins and their Applications*, pp. 225–256. Damodaran, S., and Paraf, A., Eds., Marcel Dekker, Inc., New York.

Chaves-López, C. R., Maggio, F., Paparella, A., Serio, A. 2020. Changes Occurring in Spontaneous Maize Fermentation: An Overview. *Fermentation*, 6, 36.

Chaves-López, C., Serio, A., Grande-Tovar, C.D., Cuervo-Mulet, R., Delgado-Ospina, J.}, Paparella, A. 2014. Traditional fermented foods and beverages from a microbiological and nutritional perspective: The Colombian heritage. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13, 1031–1048.

Cerna, M., Barros, A.S., Nunes, A., Rocha, S.M., Delgadillo, I., Copikova, J., Coimbra, M.A. 2003. Use of FT-IR spectroscopy as a tool for the analysis of polysaccharide food additives. *Carbohydr. Polym.* 19, 793–801.

Cui, S. W., Ikeda, S., and Eskin, M. N. A. 2007. Seed Polysaccharide Gums. In: *Functional Food Carbohydrates*, pp. 128–139. Biliaderis, C. G., and Izydorczyk, M., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL.

Clark, A. H. 1992. Gels and Gelling. In: *Physical Chemistry of Foods*,. Schwartzberg, H. G., and Hartel, R.W., Eds., Marcel Dekker, New York. pp. 263–283.

Daverey, A. and Pakshirajan, K. 2009. Production of sphingolipids by the yeast *Candida bombicola* using simple and low cost fermentative media. *Food Research International*, 42: 499-504.

Dastgeer, G.; Shahzad, Z.M.; Chae, H.; Kim, Y.H.; Ko, B.M.; Eom, J. 2022. Bipolar junction transistor exhibiting excellent output characteristics with a prompt response against the selective protein. *Adv. Funct. Mater.* 32, 2204781.

De la Parra, C., Serna, S., Hai, L. 2008. Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 55: 4177- 4183.

De-Gennes, P. G. 1979. *Scaling Concepts in Polymer Physics*; Cornell University

- Demain, A.L.** 1999. Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52: 455-463.
- Depypere, F., Verbeken, D., Thas, O., Dewettinck, K.** 2003. Mixture design approach on the dynamic rheological and uniaxial compression behavior of milk desserts. *Food Hydrocoll.* 17: 311–320.
- Dewanto, V.; Wu, K.K.; Liu, R.H.** 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3010–3014.
- Dharmaraj, S.** 2010 Marine Streptomyces as a novel source of bioactive substances. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26: 2123-2139.
- Díaz-Ocampo, R.** 2018. Reología aplicada a sistemas alimentarios. 1ra edición. Editorial Grupo compás. Capítulo 1. pp. 13-17.
- Dickerson, G.** 2008. Nutritional analysis of New México blue corn and dent corn kernels. *Cooperative Extension of Agriculture*, 20:7-8.
- Di Paola, R. D., Asis, R., Aldao, M. A. J.** 2003. Evaluation of the Degree of Starch Gelatinization by a New Enzymatic Method. *Starch/Stärke* 55 (2003) 403–409.
- Dulf, F.V.** 2016. Effects of solid-state fermentation with two filamentous fungi on the total phenolic contents, flavonoids, antioxidant activities and lipid fraction of plum fruit (*Prunus domestica* L.) by-products. *Food Chemistry*, v.209, p.27-36.
- Edogbanya, P.R.O.** 2016. Comparative Study of the Proximate Composition of Edible Parts of *Adansonia digitata* L. Obtained from Zaria, Kaduna State, Nigeria. *Journal of Biology*, 1: 1–6.
- Food And Agriculture Organization (FAO).** 2016. Evaluation of certain food additives. Eighty-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. ISBN 978 92 4 069586 3.

Fertsch, B., Muller, M., and Hinrichs, J. 2003. Firmness of pressure-induced casein and whey protein gels modulated by holding time and rate of pressure release. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 4: 143–150.

Figura, L. O., Teixeira, A. A. 2007. *Food Physics Physical Properties: Measurement and Applications.* Editorial Springer. pp. 117-206

Flory, P. J. 1953. *Principles of Polymer Chemistry;* Cornell University Press: Ithaca, NY.

Galarza, J. M. 2001. Situación actual y perspectivas del maíz en México. SIAP. <https://www.siap.gob.mx>

Gentès, M. C., St-Gelais, D., Turgeon, S. L. 2011. Gel formation and rheological properties of fermented milk with in situ exopolysaccharide production by lactic acid bacteria. *INRA © Dairy Sci. and Technol.* (2011) 91:645–661.

González, A. 2015. TESIS: Aislamiento e identificación de hongos endófitos de la especie *Piper aduncum* (Piperaceae) y su actividad bactericida antagónica frente a distintas cepas microbianas. Universidad Tecnológica de Pereira.

Heremans, K. 1995. High-pressure effects on biomolecules. In: *High Pressure Processing of Foods.* Ledward, D. A., Johnston, D. E., Earnshaw, E. G., and Hasting, A. P. M., Eds., Nottingham University Press, Nottingham, UK. pp. 81–98.

Horkay, F., Douglas, J. F. 2018. *Polymer Gels: Basics, Challenges, and Perspectives.* ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC

Jong, S. H., Klok, J., and Velde, F. V. 2009. The mechanism behind microstructure formation in mixed whey protein–polysaccharide cold-set gels. *Food Hydrocoll.* 23: 755–764.

Kalapathy, U., Proctor, A. 2001. Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin. *Food Chemistry* 73: 393-396.

Keogh, M. K., Laine, K. I., and O'Connor, J. F. 1996. Rheology of sodium caseinate-carrageenan mixtures. *J. Text. Stud.* 26: 635–652.

Kim, H. J., Decker, E. A., McClements, D. J. (2006). Preparation of multiple emulsions based on thermodynamic incompatibility of heat-denatured whey protein and pectin solutions. *Food Hydrocoll.* 20: 586–595.

Kong, C. S. 2005. Effects of lubrication and sample dimensions on compression property of fish–meat gels. *Food Res. Int.* 38: 673–679.

Kumar, R., and Katare, O. P. 2005. Lecithin organogels as a potential phospholipid-structured system for topical drug delivery: A review. *American Association of Pharmaceutical Scientists. Pharm Sci. Tech.* 6: E298–E310.

Kumar-Gautam, A. 2014. *Colletotrichum gloeosporioides*: Biology, Pathogenicity and Management in India Review Article, *J Plant Physiol Pathol* Vol: 2 Issue: 2

Lauber, S., Krause, I., Klostermeyer, H., Henle, T. (2003). Microbial transglutaminase crosslinks β -casein and β -lactoglobulin to heterologous oligomers under high pressure. *Eur. Food Res. Technol.* 216: 15–17.

Lee, K. Y., Shim, J., Bae, I. Y., Cha, J., Park, C. S., and Lee, H. G. 2003. Characterization of gellan/gelatin mixed solutions and gels. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* 36: 795–802.

Lee, S.J., Kim, J. H., Jung, Y. W., Park, S.Y., Shin, W. C. 2011. Composition of organic acids and physiological functionality of commercial makgeolli. *Korean J Food Sci Technol* 43: 206-212.

Lindman, B. 1993. Polysaccharide Surfactant systems: Interactions, phase diagrams and Novel gels. In: *Food Colloids and Polymers*, pp.113–126. Dickinson, E. and Walstra, P., Eds., Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.

Llamas, I., Torres, M., Béjar, V. 2019. Exopolisacáridos microbianos. *Revista electrónica Investigación y Ciencia. Microbiología.* Madrid España URL:

<https://www.investigacionyciencia.es/revistas/investigacion-y-ciencia/aprender-mientras-dormimos-757/exopolisacridos-microbianos-17048>

Logaraaj, K., Udayshankar, K., Venkataswaran, G., and Bhattacharya, S. 2007. Emulsion-gel containing poly unsaturated fatty acids for health benefits. Indian Patent Application NF # 161/07.

Lorén, N., Hermansson, A. M., Williams, M. A. K., Lundin, L., Foster, T. J., Hubbard, C. D., Clark, A. H., Norton, I. T., Bergstrom, E. T., and Goodall, D. M. 2001. Phase separation induced by conformational ordering of gelatin in gelatin/maltodextrin mixtures. *Macromolecules*. 34: 289–297.

Lucey, J. A., Singh, H. 1997. Formation and physical properties of acid milk gels: A review. *Food Res. Int.* 30: 529–542.

Lundin, L., Norton, I. T., Foster, T. J., Williams, M. A. K., Hermansson, A. M., and Bergstrom, E. 2000. Phase separation in mixed biopolymer systems. In: *Gums and Stabilisers for the Food Industry 10*, pp. 167–180. Williams, P. A. and Phillips, G. O., Eds., Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.

Marshall, E., Mejia, D. 2012. Traditional Fermented Food and Beverages for Improved Livelihoods; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy; pp. 1–79.

Mbugua, S.K. 1988. The nutritional and fermentation characteristics of uji produced from dry milled flour (unyabaridi) and whole wet milled maize. *Chem. Mikrobiol Technol Lebensm*, 10, 154–161.

Méndez, G., Solorza, J., Paredes, O. 2005. Composición química y colorimétrica de híbridos y variedades de maíz. *Revista Agrociencia*. 39: 267-274.

Mesfin, T., Wassie, H., Kassa, S. 2019. Effects of Nitrogen and Blended Fertilizers on Yield and Yield Components of tef (*Eragrostis tef* Trotter) in Central Highlands of Ethiopia. *International Journal of Advances in Agricultural Science and Technology* Vol 6 Issue 8, pg. 15-64.

Méx-Álvarez, R. M. J., Garma-Quen, P. M., Bolívar-Fernández, N. J., Guillén-Morales, M. M. 2016. Análisis Proximal y Fitoquímico de Cinco Variedades de Maíz del Estado de Campeche (México). *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales* 12 (2): 74-80.

Mohammed, Z. H., Haque, A., Richardson, R. K., and Morris, E. R. 2007. Promotion and inhibition of xanthan “weak gel” rheology by calcium ions. *Carbohydr Polym.* 70: 38–45.

Montejano, J. G., Hamann, D. D., Ball, H. R. (Jr.), and Lanier, T. C. (1984). Thermally induced gelation of native and modified egg white-rheological changes during processing; final strengths and microstructures. *J. Food Sci.* 49: 1249–1257.

Murphy, P. 2000. Starch. In: *Handbook of Hydrocolloids*, pp. 41–65. Philips, G. O. and Williams, P. A., Eds., Woodhead Publishing Limited, New York.

Nácher-Vázquez, M., Ibarburu-López, I., Notararigo, S., Fernández De Palencia-Delgado, P., Aznar-Novella, R., Dueñas-Chasco, M. T., López-García, P. 2016. Aplicaciones De Los Exopolisacáridos Producidos Por Bacterias Lácticas En La Calidad Y Funcionalidad De Los Alimentos. Departamento de Microbiología Molecular y Biología de las Infecciones. Centro de Investigaciones Biológicas (CIB). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid, España.

Nguyen, T., Khine, M. 2020. Advances in materials for soft stretchable conductors and their behavior under mechanical deformation polymers, 12, 1454.

Nishinari, K., and Zhang, H. 2004. Recent advances in the understanding of heat set gelling polysaccharides. *Trends in Food Sci. Technol.* 15: 305–312.

Norton, I. T., Frith, W. J., and Ablett, S. 2006. Fluid gels, mixed fluid gels and satiety. *Food Hydrocoll.* 20: 229–239.

- Nunes, M. C., Raymundo A., and Sausa, I.** 2006. Rheological behavior and microstructure of pea protein/k-carrageenan/starch gels with different setting conditions. *Food Hydrocoll.* 20: 106–113.
- Nussinovitch, A.** 1997. Hydrocolloid applications. In: *Gum Technology in Food and other Industries*, pp. 76–78. Blackie Academic and Professional, London.
- Nwokoro, O., Chukwu, B.C.** 2012. Studies on Akamu, a traditional fermented maize food. *Rev. Chil. Nutr.* 39, 180–184.
- Oakenfull, D.** (1987). Gelling agents. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 26: 1–25. Oakenfull, D., and Scott, A. (1984). Hydrophobic interaction in the gelation of high methoxyl pectins. *J. Food Sci.* 49: 1093–1098.
- Oakenfull, D., and Scott, A.** 1984. Hydrophobic interaction in the gelation of high methoxyl pectins. *J. Food Sci.* 49: 1093–1098.
- Osorio-Cadauid, E., Chaves-López, C., Tofalo, R., Paparella, A., Suzzi, G.** 2008. Detection and identification of wild yeasts in Champús, a fermented Colombian maize beverage. *Food Microbiol.* 25, 771–777.
- Pandey, A., Selvakumar, P., Soccol, C.R., Singh–Nee, N., Poonam.** 1999. Solid state fermentation for the production of industrial enzymes. *Current Science*, 77 (1): 149-162.
- Paulis, J.W.** 1982. Recent development in corn protein research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30, 14–20.
- Paterson, R.R.M.; Bridge, P.D. Biochemical Techniques for Filamentous Fungi.** IMI Technical Handbooks No. 1. CAB International: Wallingford. 1994
- Picullel, L., Nilsson, S., Viebke, C., and Zhang, W.** 1994. Gelation of some seaweed polysaccharides. In: *Food Hydrocolloids-Structure, Properties and Functions*, pp. 35–37. Nishinari, K. and Doi, E., Eds., Plenum Press, New York.

- Prathyushaa, A.M.V.N., Sheela, M., Bramhachar, P.V.** 2018. Chemical characterization and antioxidant properties of exopolysaccharides from mangrove filamentous fungi *Fusarium equiseti*. *Biotechnology reports*. Vol. 19. Press: Ithaca, NY.
- Ralet, M.C., Crépeau, M.J., Bonnin, E.** 2008. Evidence for a blockwise distribution of acetyl groups onto homogalacturonans from a commercial sugar beet (*Beta vulgaris*) pectin. *Phytochemistry*, 69, 1903-1909.
- Rees, D. A., Morris, E. R., and Robinson, G. R.** 1980. Cation specific aggregation of carrageenan helices: Domain model of polymer gel structure. *J. Mol. Biol.* 138: 349–362.
- Renard, D., van de Velde, F., Visschers, R. W.** 2006. The gap between food gel structure, texture and perception. *Food Hydrocoll.* 20: 423–431.
- Richardson, P. H., Willmer, J., Foster, T. J.** 1998. Dilute solution properties of guar and locust bean gum in sucrose solutions. *Food Hydrocoll.* 12: 339–348.
- Romo, S., Rosero, A., Forero, C.L., and Ceron, E.** 2006. Potencial Nutricional de Harinas de Quinoa (*Chenopodium quinoa* W) Variedad Piartal en los Andes Colombianos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 4: 112-125.
- Ross-Murphy, S. B.** (1995). Rheological characterisation of gels 1. *J. Text. Stud.* 26: 391–400.
- Sangwan, S., Kumar, S., Goyal, S.** 2014. Maize utilisation in food bioprocessing: An overview. In *Maize: Nutrition Dynamics and Novel Uses*; Chaudhary, D.P., Kumar, S., Langyan, S., Eds.; Springer: New Delhi, India. pp. 119–134
- Scalbert, A., Willianson, G.** 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition.* 1300: 2073-2085.
- Schorsch, C., Jones, M. G., and Norton, I. T.** 2000. Phase behavior of pure micellar casein/k-carrageenan systems in milk-salt ultra filtrate. *Food Hydrocoll.* 14: 347–358.

Sigma Aldrich. 2022. Infrared Spectrum Table and Chart. URL: <https://www.sigmaaldrich.com/CA/en/technical-documents/technical-article/analytical-chemistry/photometry-and-reflectometry/ir-spectrum-table>

Sikora, M., Kowalski, S., Tomasik, P., and Sady, M. 2007. Rheological and sensory properties of dessert sauces thickened by starch-xanthan gum combination. *J. Food Eng.* 79: 1144–1151.

Sikora, M., Kowalski, S., and Tomasik, P. 2008. Binary hydrocolloids from starches and xanthan gum. *Food Hydrocoll.* 22: 943–952.

Sosa-Herrera, M. G., Berli, C. L. A., and Martínez-Padilla, L. P. 2008. Physicochemical and rheological properties of oil-in-water emulsions prepared with sodium caseinate/gellan gum mixtures. *Food Hydrocoll.* 22: 934– 942.

Stanley, N. F. 2006. Agar. In: *Food Polysaccharides and their Application*, pp. 186–204. Stephen, A. M., Philips, G. O., and Williams, P. A., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL.

Steinkraus, K.H. 1996. *Handbook of Indigenous Fermented Food*, 2nd ed.; Marcel Dekker: New York, NY, USA.

Styles, E., Ceska, O. 1972. Flavonoid pigments in generic strains of maize. *Journal of Phytochemistry.* 11: 3019- 3021.

Stuart, B. 2004. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. Chichester, West Sussex, England; Hoboken, NJ :J. Wiley.

Su, M., Chien, P. 2007. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of blue corn (*Zea mays* L.). *Food Chemistry.* 104: 181-187.

Subramaniam, R., Vimala, R. 2012. Solid State and submerged fermentation for the production of bioactive substances: a comparative study. *International Journal of Science and Nature.* I.J.S.N., VOL. 3. 480-486.

Sudhamani, S. R., Prasad, M. S., Udaya-Sankar, K. (2003). DSC and FTIR studies on gellan and polyvinyl alcohol (PVA) blend films. *Food Hydrocoll.* 17: 245–250.

Surayot, U., Wang, J., Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Tabarsa, M. 2014. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: structural analysis, molecular weight effect on immunomodulation. *Int J Biol Macromol* 68: 233-240.

Sutherland, I. W. 2007. Biotechnology of Microbial Polysaccharides in Food, In: *Food Biotechnology*. 2nd Ed., pp. 193–220. Shetty, K., Paliyath, G., Pometto, A., and Levin, E., Eds. CRC Press, Boca Raton, FL.

Tang, J. D., Mura, C., Lampe, K, J. 2019. A stimuli-responsive, pentapeptide, nanofiber hydrogel for tissue engineering. *J. Am. Chem. Soc.* 141, 4886-4889.

Thakur, B. R., Singh, R. K. and Handa, A. K. (1997). Chemistry and uses of pectin – A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 37: 47-73.

Thermo Nicolet Corporation. 2001. Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry. URL: <https://www.chem.uci.edu/~dmitryf/manuals/Fundamentals/FTIR%20principles.pdf>

Terech, P. 1997. Low-molecular weight organogelators In: *Specialist Surfactants*, pp. 208–268. Robb, I. D., Ed., Blackie Academic and Professional, Glasgow, UK.

Totosaus, A., Montejano, J. G., Salazar, J. A., Guerrero, I. 2002. A review of physical and chemical protein-gel inductions. *Int. J. Food Sci. Technol.* 37: 589–601.

University of Delaware. 2018. Manual of Characterization of unknown samples. Faculty of Chemistry. URL: http://www1.udel.edu/chem/CHEM322/Handouts/unknowns_lab_handout.pdf

Valenzuela-Cobos, J.D., Rodríguez-Grimón, R. O., Grijalva-Endara, A., Marcillo-Vallejo, R., Mercader-Camejo, O. A. 2020. Production and characterization of biomass and exopolysaccharides obtained in submerged culture under different initial pHs used in the cultivation of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifera*. *Journal of Food and Agriculture*. 2020. 32(8): 628-632.

Valli, C. R., and Miskiel, F. J. 2001. Gellan gum In: *Handbook of Dietary Fiber*. pp. 695–720. Cho, S. and Dreher, M. L., Eds. CRC Publication, Boca Raton, Florida, USA.

- Van Esch, J., Schoonbeek, F., De Loos, M., Veen, E. M., Kellog, R. M., Feringa, B. L.** 1999. Low molecular weight gelators for organic solvents from serendipity towards design, pp. 233–260. In: *Supramolecular Science: Where It Is and Where It Is Going*. Ungaro, R. and Dalcanale, E., Eds. Kluwer Academic Publishers.
- Van Vliet, T.** (1995). Mechanical properties of concentrated food gels. In: *Food Macromolecules and Colloids*, pp. 447–455. Dickinson, E., Eds., RSC Publication, UK.
- Viebke, C., Piculell, L., and Nilsson, S.** 1994. On the mechanism of gelation of helix-forming biopolymer. *Macromolecules*, 27: 4160–4166.
- Viturawong, Y., Achayuthakan, P., and Suphantharika, M.** 2008. Gelatinization and rheological properties of rice starch/xanthan mixtures: Effects of molecular weight of xanthan and different salts. *Food Chem.* 111: 106–114.
- Villarreal-Rodríguez, G., Escajeda-García, J.M., Amaya-Olivas, N. I., Chávez-Flores, D., Neder-Suárez, D., Ayala-Soto, J. G., Quintero-Ramos, A., Ruiz-Anchondo, T., Hernández-Ochoa, L.** 2022. Determination of Phenolic Compounds in Blue Corn Flour (*Zea mays* L.) Produced and/or Metabolized by *Colletotrichum gloeosporioides* in a Fermentation Process. *Fermentation* 2022, 8, 243. <https://doi.org/10.3390/fermentation8060243>
- Wacher, C., Canas, A., Cook, P.E., Barzana, E., Owens, J.D.** 1993. Sources of microorganisms in pozol, a traditional Mexican fermented maize dough. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 9, 269–274.
- Walstra, P.** 2003. Soft Solids. In: *Physical Chemistry of Foods*. Walstra, P., Ed. Pp. 688–771. Marcel Dekker, New York.
- Walter, R. H.** 1998. Polysaccharide molecular structures, In: *Polysaccharide Association Structures in Food*. pp. 1–14., Walter, R. H., Ed., CRC Press, New York.
- Wang, Q., Rademacher, B., Sedlmeyer, F., and Kulozik, U.** 2005. Gelation behavior of aqueous solutions of different types of carrageenan investigated by low-intensity-

ultrasound measurements and comparison to rheological measurements. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 6: 465–472.

Xin, F., Lyu, Q. 2023. A Review on Thermal Properties of Hydrogels for Electronic Devices Applications. *Gels*, 9, 7. <https://doi.org/10.3390/gels9010007>

Zajsek, K., Gorsek, A., Kolar, M. 2013. Cultivating conditions effects on kefir production by the mixed culture of lactic acid bacteria imbedded within kefir grains. *Food Chem* 139: 970-977.

Zasytkin, D. V., Braudo, E. E., Tolstoguzov, V. B. 1997. Multicomponent biopolymer gels. *Food Hydrocoll.* 11: 159–170.

Žilić, A., Serpen, A., Akilloğlu, G., Gökmen, V.; Vančetović, J. 2012. Phenolic Compounds, Carotenoids, Anthocyanins, and Antioxidant Capacity of Colored Maize (*Zea mays* L.) Kernels *J. Agric. Food Chem.* 60 (5), pp. 1224–1231.

Zuñiga, R. N., and Aguilera, J. M. 2008. Aerated food gels: fabrication and potential applications. *Trends in Food Sci. Technol.* 19: 176–187.