

## Effect of adding anthocyanins to blue maize dough on color, texture and antioxidant capacity of maize tortillas

## Efecto de la adición de antocianinas a masa de maíz azul sobre color, textura y capacidad antioxidante de tortilla

Víctor Manuel López-Vásquez<sup>1</sup>; Yolanda Salinas-Moreno<sup>2\*</sup>; Ivone Alemán-de la Torre<sup>2</sup>; Norma Morales-Hernández<sup>3</sup>; Edgardo Bautista-Ramírez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado de México, C. P. 56230, MÉXICO.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Centro-Altos de Jalisco, Tepatitlán de Morelos, Jalisco, C. P. 47600, MÉXICO.

<sup>3</sup>Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. Camino el Arenero, núm. 1227, El Bajío Arenal, Zapopan, Jalisco, C. P. 45019, MÉXICO.

\*Corresponding author: yolasm@gmail.com

### Abstract

**Introduction:** Anthocyanins of maize in microcapsules (MC) can be added in maize dough to modify color and antioxidants in tortillas and derivatives.

**Objective:** To evaluate the addition of anthocyanins of maize in MC or extract (EL) to blue-purple maize dough on color, texture, total soluble phenols (TSP), total anthocyanins content (TAC) and antioxidant capacity (AC) of maize tortillas.

**Methodology:** Different concentrations (0.5, 0.75 and 1.0 %) of MC or EL anthocyanins were added to blue-purple maize dough (Bolita). Blue tortilla made with Chalqueño maize (traditional) was used as reference for color and AC.

**Results:** The tortilla with 0.75 and 1.0 % MC had red-purple hue, and with EL the tortilla showed red-orange hues. When cooking the tortilla, it lost 39 to 49.1 % of anthocyanins, regardless of how anthocyanins were added to the dough (MC or EL). The hardness of the tortilla increased with addition of anthocyanins in EL, but not in MC. The addition of anthocyanins increased TAC and TSP. AC of the tortilla in the pigment treatments was higher ( $P \leq 0.05$ ) compared to the control and reference.

**Study limitations:** Results may change depending on the blue-purple maize grain used.

**Originality:** There are no reports of similar studies.

**Conclusions:** The addition of low amounts of anthocyanins (< 2 mg) to the blue-purple maize dough produces tortillas similar in color to traditional blue maize tortillas, and with higher AC.

### Resumen

**Introducción:** Las antocianinas de maíz en microcápsulas (MC) se pueden aplicar en masa de maíz para modificar el color y los antioxidantes en tortillas y derivados.

**Objetivo:** Evaluar la adición de antocianinas de maíz en MC o extracto (EL) a masa de maíz azul-morada sobre color, textura, fenoles solubles totales (FST), contenido de antocianinas totales (CAT) y capacidad antioxidante (CA) de tortilla.

**Metodología:** Se adicionaron diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1.0 %) de antocianinas en forma de MC o EL a masa de maíz azul-morado (Bolita). Como referencia para color y CA se utilizó tortilla azul de maíz Chalqueño (tradicional).

**Resultados:** La tortilla con 0.75 y 1.0 % de MC presentó tonos rojo-morado, y con EL se produjeron tonalidades rojo-naranja. Con el cocimiento, la tortilla perdió de 39 a 49.1 % de antocianinas, independiente de la forma en que se agregaron a la masa (MC o EL). La dureza de la tortilla incrementó con la adición de antocianinas en EL, pero no en MC. La adición de antocianinas incrementó el CAT y los FST. La CA de la tortilla en los tratamientos con pigmentos fue mayor ( $P \leq 0.05$ ) que en el testigo y la referencia.

**LIMITACIONES DEL ESTUDIO:** Los resultados podrían cambiar en función del grano de maíz azul-morado utilizado.

**ORIGINALIDAD:** No se tienen reportes de trabajos similares.

**CONCLUSIONES:** La adición de bajas cantidades de antocianinas (< 2 mg) a la masa de maíz azul-morado produce tortillas de color similar al de tortillas azules tradicionales, y con mayor CA.

**Palabras clave:** *Zea mays L.*, microencapsulación, capacidad antioxidante.

Please cite this article as follows (APA 6): López-Vásquez, V. M., Salinas-Moreno, Y., Alemán-de la Torre, I., Morales-Hernández, N., & Bautista-Ramírez, E. (2020). Effect of adding anthocyanins to blue maize dough on color, texture and antioxidant capacity of maize tortillas. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 12(2), 183-200. doi: 10.5154/r.inagbi.2020.07.040

Received: July 06, 2020 / Accepted: November 11, 2020



Ingeniería Agrícola  
y Biosistemas

<https://revistas.chapingo.mx/inagbi>

## Introduction

The demand for food products free of artificial colors is growing because consumers perceive them as healthier (Martins, Lobo-Roriz, Morales, Barros, & Ferreira, 2016). Anthocyanins are pigments of vegetable origin that exhibit a range of hues from pink to deep purple, and have high water solubility, which facilitates application in food. However, their use as colorants is limited by low stability to factors such as: pH, temperature, light and oxygen; elements present during food processing and transformation (Turturică, Oancea, Râpeanu, & Bahrim, 2015). The microencapsulation technique reduces instability of these pigments (Özkan & Biley, 2014), so studies have multiplied on incorporation of microencapsulated anthocyanins in food products as a way to enhance color (Díaz-García et al., 2014), provide new hues (Šaponjac et al., 2016; Vernon-Carter et al., 2020) and improve functional value (Mahdavi, Jafari, Assadpoor, & Ghorbani, 2016).

Mexico, as a center of origin and domestication of maize, has a wide diversity in this cereal, which is manifested in different colors, textures and grain sizes; blue-purple maize grains are part of this diversity. Its color is due to the presence of anthocyanins in aleurone (Salinas-Moreno, Pérez-Alonso, Vázquez-Carrillo, Aragón-Cuevas, & Velázquez-Cardelias, 2012), and they are used for the elaboration of diverse food products with natural coloring.

Blue native maize tortillas are appreciated by the consumer due to pleasant taste, color and texture, which positions them as a special product marketed at a higher price than the white grain maize tortillas (Chimimba, Pratt, Cuellar, & Delgado, 2019). However, most of the native blue-purple maize grains have floury texture, so dough lacks the necessary resistance to make tortillas in a mechanized manner. Blue-purple maize grains, with intermediate or hard grain texture, produces dough with the texture required for mechanized processing, but has lower anthocyanin content than floury maize grains, and tortillas have a lower amount of antioxidants and a blue-gray color (Hernández-Martínez et al., 2016).

To increase the supply of blue tortillas in the market, nixtamalized white maize flour can be supplemented with microencapsulated anthocyanins, which generates tortillas dyed with natural pigment (Vernon-Carter et al., 2020), but with a different color than the ones consumers are used to from blue tortillas. Another option is to add anthocyanins to the native maize dough with dentate blue-purple grains to increase antioxidant content of tortillas, and thus achieve a color similar to that of the traditional blue tortilla.

## Introducción

La demanda de productos alimenticios libres de colorantes artificiales es creciente debido a que los consumidores los perciben como más saludables (Martins, Lobo-Roriz, Morales, Barros, & Ferreira, 2016). Las antocianinas son pigmentos de origen vegetal que exhiben una gama de tonalidades desde rosa hasta morado intenso, y poseen alta solubilidad en agua, lo que facilita su aplicación en alimentos. Sin embargo, su uso como colorantes se ve limitado por su baja estabilidad a factores del tipo: pH, temperatura, luz y oxígeno; elementos presentes durante el procesamiento y transformación de los alimentos (Turturică, Oancea, Râpeanu, & Bahrim, 2015). La técnica de microencapsulado reduce la inestabilidad de estos pigmentos (Özkan & Biley, 2014), por lo que se han multiplicado los estudios sobre la incorporación de antocianinas microencapsuladas en productos alimenticios como una forma de favorecer su color (Díaz-García et al., 2014), impartir nuevas tonalidades (Šaponjac et al., 2016; Vernon-Carter et al., 2020) y mejorar su valor funcional (Mahdavi, Jafari, Assadpoor, & Ghorbani, 2016).

México, como centro de origen y domesticación del maíz, posee amplia diversidad en este cereal, lo que se manifiesta en diferentes colores, texturas y tamaños de grano; los maíces de grano azul-morado forman parte de esta diversidad. Su color se debe a la presencia de antocianinas en su aleurona (Salinas-Moreno, Pérez-Alonso, Vázquez-Carrillo, Aragón-Cuevas, & Velázquez-Cardelias, 2012), y son utilizadas para elaborar diversos productos alimenticios con coloración natural.

Las tortillas azules de maíces nativos son apreciadas por el consumidor por su agradable sabor, color y textura, lo que las posiciona como un producto diferenciado que se comercializa a un precio mayor que las de grano blanco (Chimimba, Pratt, Cuellar, & Delgado, 2019). No obstante, la mayoría de los maíces nativos de grano azul-morado son de textura harinosa, por lo que su masa carece de la resistencia necesaria para elaborar las tortillas de manera mecanizada. Los maíces de grano azul-morado, con textura de grano intermedia o dura, producen masa con las características de textura requeridas para su procesamiento mecanizado, pero poseen menor contenido de antocianinas que los de grano harinoso, y sus tortillas presentan menor cantidad de antioxidantes y un color azul grisáceo (Hernández-Martínez et al., 2016).

Para aumentar la oferta de tortilla azul en el mercado, se puede suplementar la harina nixtamalizada de maíz blanco con antocianinas microencapsuladas, lo que genera tortillas teñidas con pigmento natural (Vernon-

Therefore, the objective of this study was to evaluate the addition of anthocyanins in microcapsules (MC) or extract (EL), to the dent blue-purple maize dough on color, texture, phenolic composition and antioxidant capacity (AC) of the maize tortilla. The hypothesis of this study was that addition of anthocyanins to blue-purple maize dough allows obtaining tortillas with a blue color similar to the blue tortillas from central Mexico.

## **Materials and methods**

### **Plant material**

The study used native maize populations with purple and blue-purple grains. The purple grain population was collected in San Salvador Ixtenco, Tlaxcala, Mexico, and was used for extraction of pigments. Purple maize grains have, on average, 50 % more pigment than blue-purple maize grains. To obtain the dough in which anthocyanins were added, the blue-purple grain of variety VC-42 grown in Esla, Oaxaca, Mexico was used. This variety is derived from the Bolita (Bol) variety of maize and has a semi hard grain that produces dough with the necessary texture for mechanized processing. However, its low anthocyanin content gives the dough and the tortilla a grayish blue color (Hernández-Martínez et al., 2016), different from the characteristic color of the blue tortilla obtained from native Cónicos or Chalqueños maize grains, which are the most used to make blue tortillas in the central region of Mexico. As a reference for the blue tortilla color, blue-purple maize from the Chalqueño (Chal) variety from San Pedro Nexapa, Estado de Mexico, was used. This tortilla was also used as a reference for antioxidants content.

### **Pigment extraction from purple maize grain**

After removing the germ manually, 1 kg of maize grain was ground using a cyclone mill (UDY Corporation, USA) with 0.5 mm mesh. The extraction batches consisted of 100 g of flour and 500 mL of 63.5 % ethanol as solvent, the latter acidified with citric acid at a pH of  $2 \pm 0.2$ . The subsequent extraction steps were performed as described by Salinas-Moreno, Salas-Sánchez, Rubio-Hernández, and Ramos-Lobato (2005). The anthocyanin extract was concentrated in a rotary evaporator (R-215, Buchi, Sweden) until ethanol was removed. This aqueous extract (with pH of 2) was used to elaborate MC and for treatments of addition of anthocyanins in EL form.

### **Microencapsulation of anthocyanins**

EL of anthocyanin was adjusted to a pH of  $4 \pm 0.2$  with NaOH using a potentiometer ( $\phi$  45 pH Meter, Beckman).

Carter et al., 2020), aunque con un color diferente al que está acostumbrado el consumidor de tortilla azul. Otra opción es adicionar antocianinas a la masa de maíces nativos con grano azul-morado dentado para incrementar el contenido de antioxidantes de sus tortillas, y con ello lograr un color similar al de la tortilla azul tradicional.

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar la adición de antocianinas, en microcápsulas (MC) o extracto (EL), a la masa de maíz azul-morado dentado sobre las características de color, textura, composición fenólica y capacidad antioxidante (CA) de la tortilla. La hipótesis del trabajo fue que la adición de antocianinas a la masa de maíz azul-morado permite obtener tortillas de un color azul similar a las tortillas azules características del centro de México.

## **Materiales y métodos**

### **Material vegetal**

En el estudio se usaron poblaciones de maíz nativo con grano morado y azul-morado. La población de grano morado se recolectó en San Salvador Ixtenco, Tlaxcala, México, y se utilizó para la extracción de los pigmentos. Los maíces de grano morado poseen, en promedio, 50 % más pigmento que los de grano azul-morado. Para obtener la masa en la que se adicionaron las antocianinas, se utilizó el grano de color azul-morado de la variedad VC-42 cultivada en Esla, Oaxaca, México. Esta variedad deriva de la raza de maíz Bolita (Bol), y posee un grano semi duro que produce masa con la textura necesaria para su laminado mecánico. Sin embargo, su bajo contenido de antocianinas hace que la masa y la tortilla sean de color azul grisáceo (Hernández-Martínez et al., 2016), diferente al color característico de la tortilla azul obtenida a partir de maíces nativos Cónicos o Chalqueños, que son los más utilizados para elaborar tortilla azul en la región centro de México. Como referencia para el color de tortilla azul, se utilizó el maíz azul-morado de la raza Chalqueño (Chal) proveniente de San Pedro Nexapa, Estado de México. Esta tortilla también se usó como referencia en el contenido de antioxidantes.

### **Extracción de pigmentos del maíz de grano morado**

Después de retirar el germen de manera manual, se molieron 1 kg de grano de maíz en un molino tipo ciclónico (UDY Corporation, EUA) con malla de 0.5 mm. Los lotes de extracción consistieron de 100 g de harina y 500 mL de etanol al 63.5 % como disolvente, este último acidificado con ácido cítrico a un pH de  $2 \pm 0.2$ . Los pasos posteriores en la extracción se realizaron de acuerdo con lo descrito por Salinas-Moreno, Salas-Sánchez, Rubio-Hernández, y Ramos-Lobato (2005).

The methodology described by García-Tejeda, Salinas-Moreno, Hernández-Martínez, and Martínez-Bustos (2016) was followed to obtain MC by spray drying. As wall material, 20 g of a 50:50 Capsul®:maltodextrin (DE = 10) mixture were used, which were dispersed in water and extract. Preparation was homogenized in an Ultra turrax (T-25-SI, Ultra Turrax®, USA) at 18 000 rpm for 5 min. Emulsion was adjusted to 25 % total solids with a refractometer (Atago®, Japan). Encapsulation was performed in a spray dryer (Mini Spray Dryer B-191, Buchi) with air inlet and outlet temperatures of  $180 \pm 1$  °C and  $100 \pm 5$  °C, respectively, pressure of 35 psi, nozzle diameter of 0.5 mm and feed flow of 10 mL·min<sup>-1</sup>. Powders were collected in glass bottles protected from light with aluminum foil and stored in a desiccator at room temperature.

#### Total and surface anthocyanins of microcapsules

Total anthocyanin content (TAC) in MC was performed as described by Salinas-Moreno et al. (2005), with adjustments in the sample size (20 mg) and sonication time (20 min) to ensure the complete breakdown of MC and release of anthocyanins. Surface anthocyanins were determined using Robert et al. (2010) methodology, in which MC are washed with ethanol and aqueous methanol, filtered with Whatman No. 4 and the filtrate is analyzed to obtain TAC.

#### Nixtamalization of blue-purple maize grain samples

Nixtamalization of blue-purple maize grains was carried out in 1 kg grain lots according to the methodology described by Salinas-Moreno and Vazquez (2006). The cooking time was assigned according to the grain hardness measured by the flotation index (25 min for maize Chal and 45 min for maize Bol). Resting time was 12 h at room temperature. The nixtamal was washed with running water and passed through a stone mill. The dough of maize Chal was conditioned with purified water to elaborate the tortillas from 20 g of dough. A portion of this maize dough was used as a color reference for pigment addition treatments. Treatments were adjusted to the amount of pigment added, so that the color of the dough was equal to, or as close as possible to, that of the Chal maize dough.

The dough was molded with discs of 11 cm in diameter using a manual metal press. The cooking was done in a metallic comal heated with butane gas at an average temperature of  $240 \pm 5$  °C. The dough of maize Bol was separated in 200 g portions, which constituted the experimental unit on which the treatments of addition of pigments were applied. The dough of this maize without added pigments and tortillas were used as control of the treatments added with anthocyanins.

El extracto de antocianinas se concentró en un rotaevaporador (R-215, Buchi, Suecia) hasta eliminar el etanol. Este extracto acuoso (con pH de 2) se utilizó para elaborar las MC y para los tratamientos de adición de antocianinas en forma de EL.

#### Microencapsulado de antocianinas

El EL de antocianinas se ajustó a un pH de  $4 \pm 0.2$  con NaOH utilizando un potenciómetro ( $\phi$  45 pH Meter, Beckman). Para obtener las MC mediante secado por aspersión, se siguió la metodología descrita por García-Tejeda, Salinas-Moreno, Hernández-Martínez, y Martínez-Bustos (2016). Como material de pared se utilizaron 20 g de una mezcla 50:50 Capsul®:maltodextrina (DE = 10), los cuales se dispersaron en agua y extracto. La preparación se homogenizó en un Ultra turrax (T-25-SI, Ultra Turrax®, EUA) a 18 000 rpm durante 5 min. La emulsión se ajustó a 25 % de sólidos totales con un refractómetro (Atago®, Japón). La encapsulación se efectuó en un secador por aspersión (Mini Spray Dryer B-191, Buchi) con temperaturas de entrada y salida del aire de  $180 \pm 1$  °C y  $100 \pm 5$  °C, respectivamente, presión de 35 psi, diámetro de boquilla de 0.5 mm y flujo de alimentación de 10 mL·min<sup>-1</sup>. Los polvos se colectaron en frascos de vidrio protegidos de la luz con papel aluminio y se almacenaron en un desecador a temperatura ambiente.

#### Antocianinas totales y superficiales de las microcápsulas

El contenido de antocianinas totales (CAT) en las MC se realizó según lo descrito por Salinas-Moreno et al. (2005), con ajustes en el tamaño de muestra (20 mg) y el tiempo de sonicación (20 min) para asegurar el completo rompimiento de las MC y la liberación de sus antocianinas. Las antocianinas superficiales se determinaron con la metodología de Robert et al. (2010), en la que se lavan las MC con etanol y metanol acuoso, se filtran con Whatman no. 4 y el filtrado se analiza para obtener el CAT.

#### Nixtamalización de las muestras de maíz con grano azul-morado

La nixtamalización de los maíces de grano azul-morado se realizó en lotes de 1 kg de grano conforme a la metodología descrita por Salinas-Moreno y Vázquez (2006). El tiempo de cocción se asignó de acuerdo con la dureza del grano medida por el índice de flotación (25 min para el maíz Chal y 45 min para el maíz Bol). El tiempo de reposo fue de 12 h a temperatura ambiente. El nixtamal se lavó con agua corriente y se pasó por un molino de piedras. La masa del maíz Chal se acondicionó con agua purificada para elaborar las tortillas a partir de 20 g de masa. Una porción de la

## Anthocyanin addition treatments

The addition of anthocyanins was done in the form of MC or EL on 100 g samples of Bol maize dough. Surface anthocyanins in the form of MC were  $7.36 \pm 0.29 \mu\text{g}$  cyanidine-3-glucoside equivalent (ECG) per gram of MC, while total anthocyanins amounted to  $1090.7 \pm 142.8 \mu\text{g ECG}\cdot\text{g}^{-1}$  of MC. Previous analysis was carried out with different amounts of MC in dough and its color was visually compared with that of the reference dough (Chal). These tests allowed defining the range of MC quantities to be used, which was established in 0.5, 0.75 and 1.0 % in weight (corresponding to T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> and T<sub>3</sub>, respectively). Thus, 0.5 g of MC were added to 100 g of dough, and so on. According to the content of anthocyanins in MC, 0.5 g of MC contained 0.5453 mg of anthocyanins, 0.75 g was equivalent to 1.0907 mg and 1 g corresponded to 1.636 mg. These same amounts of anthocyanins were added in the form of EL, so that treatments were: 0.5 % EL (T<sub>4</sub>), 0.75 % EL (T<sub>5</sub>) and 1.0% EL (T<sub>6</sub>). All treatments were carried out in duplicate.

Dough moisture content varied from 50 to 52 %. Once anthocyanins (MC or EL) were added, the dough was manually homogenized to integrate anthocyanins, adding purified water to reduce hardness, and it was left to rest in plastic bags for 20 minutes before making tortillas under the procedure described above. A portion of dough from each treatment was separated to determine color, moisture, TAC and total soluble phenols (TSP). The tortillas were placed on a piece of cotton blanket and let cool at room temperature before being refrigerated.

## Color and moisture in dough and tortilla

The color was measured using a Minolta colorimeter (CM-5, Konica Minolta) in CIELab scale. The parameters obtained were luminosity (L\*, black/white), a\* (red/green), and b\* (yellow/blue). A 20 g portion of dough was placed on a glass surface to obtain readings. In the case of the tortilla, it was exposed directly on the reader of the equipment with the opposite side where the tortilla expands. The color of the dough and the tortilla were measured on the day of preparation. For the tortilla, this determination was repeated after 7 days of refrigerated storage. Hue angle [ $H^* = \arctan(b^*/a^*)$ ] and chroma [ $C^* = \sqrt{(a^*2 + b^*2)}$ ] were calculated as described by Jha (2010). Moisture content in dough and tortilla was determined by the method 44-10 of the American Association of Cereal Chemists (AACC, 2000).

## Tortilla texture

Texture was determined in the tortilla stored for 24 h under refrigeration. This is due to the fact that retrogradation of starch in tortilla accelerates at low

masa de este maíz se utilizó como referencia de color para los tratamientos de adición de pigmentos. Los tratamientos se ajustaron a la cantidad de pigmentos añadida, de manera que el color de la masa fuera igual, o lo más parecido posible, al de la masa del maíz Chal.

El moldeado de la masa a discos de 11 cm de diámetro se hizo con una prensa metálica manual. El cocimiento se realizó en un comal metálico calentado con gas butano a una temperatura promedio de  $240 \pm 5^\circ\text{C}$ . La masa del maíz Bol se separó en porciones de 200 g, que constituyeron la unidad experimental sobre la cual se aplicaron los tratamientos de adición de pigmentos. La masa de este maíz sin pigmentos añadidos y sus tortillas se utilizaron como testigos de los tratamientos adicionados con antocianinas.

## Tratamientos de incorporación de antocianinas

La adición de antocianinas se realizó en forma de MC o EL sobre muestras de 100 g de masa de maíz Bol. Las antocianinas superficiales de las MC fueron  $7.36 \pm 0.29 \mu\text{g}$  equivalentes de cianidina 3-glucósido (ECG) por gramo de MC, en tanto que las antocianinas totales sumaron  $1090.7 \pm 142.8 \mu\text{g ECG}\cdot\text{g}^{-1}$  de MC. Se realizaron análisis previos con diferentes cantidades de MC en la masa y se comparó visualmente su color con el de la masa de referencia (Chal). Estas pruebas permitieron definir el rango de las cantidades de MC a usar, el cual se estableció en 0.5, 0.75 y 1.0 % en peso (correspondientes a T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>, respectivamente). De esta manera, 0.5 g de MC se agregaron a 100 g de masa, y así sucesivamente. De acuerdo con el contenido de antocianinas en las MC, 0.5 g de MC contenían 0.5453 mg de antocianinas, 0.75 g equivalían a 1.0907 mg y 1 g correspondía a 1.636 mg. Estas mismas cantidades de antocianinas se agregaron en forma de EL, de manera que se tuvieron los tratamientos: 0.5 % EL (T<sub>4</sub>), 0.75 % EL (T<sub>5</sub>) y 1.0 % EL (T<sub>6</sub>). Todos los tratamientos se realizaron por duplicado.

La humedad de la masa varió de 50 a 52 %. Una vez agregadas las antocianinas (MC o EL), la masa se homogenizó manualmente para integrarlas, agregando agua purificada para reducir su dureza, y se dejó reposar en bolsas de plástico por 20 min antes de elaborar las tortillas bajo el procedimiento descrito previamente. Una porción de masa de cada tratamiento se separó para realizar las determinaciones de color, humedad, CAT y fenoles solubles totales (FST). Las tortillas se colocaron en servilletas de algodón y se dejaron enfriar a temperatura ambiente antes de llevarse a refrigeración.

## Color y humedad en masa y tortilla

El color se midió con un colorímetro Minolta (CM-5, Konica Minolta) en escala CIELab. Los parámetros obtenidos fueron: luminosidad (L\*, blanco/negro),

temperatures (Bueso, Waniska, Moreira, Seetharaman, & Rooney, 2006), and greater changes in texture occur within the first 24 h of elaboration (Campas-Baypoli, Rosas-Burgos, Torres-Chávez, Ramírez-Wong, & Serna-Saldivar, 2002). To determine texture, the tortilla was heated in a microwave oven for 30 s at medium intensity, in blocks of three tortillas wrapped in a cotton blanket and inside a plastic bag, which was placed in a plastic container to maintain the temperature of the tortilla between 35 and 40 °C. From the central part of the tortilla, a 4 x 9 cm rectangle was cut and placed between the ends of the "tensile grips" tensor of the texture analyzer (Texture Analyser TA-XT2, Stable Micro Systems, England). The test speed was 1 mm·s<sup>-1</sup>, with a distance of 40 mm (Suhendro, Almeida-Domínguez, Rooney, Waniska, & Moreira, 1999). The parameters determined were force at 1 mm extensibility (FE; N), shear force at tension (FC; N) and extensibility distance (E; mm). For each treatment, four to five measurements were taken.

#### Total soluble phenols and anthocyanins

Portions of dough and tortilla, from the different treatments, were placed in aluminum trays and dehydrated for 15 h at 37 °C in a drying oven, and then ground using a cyclone-type mill with 0.5 mm mesh. Phenolic compounds were extracted as described by Salinas-Moreno et al. (2005) from 1 g of ground sample and 20 mL of methanol (J.T. Baker®, Mexico) acidified to 1 % with triflouracetic acid (Sigma Aldrich, USA). The mixture was sonicated for 15 min in a sonicator bath (model 2510, Branson, USA) and refrigerated to complete 2 h of extraction. Subsequently, it was centrifuged (Universal 32, Hettich, Germany) at 2 660 g for 10 min, and the supernatant was filtered using Whatman paper No. 4 and its volume was measured. TSP, TAC and AC were determined from this extract.

The quantification of TSP was carried out by the method of Folin-Cicalteau (Singleton & Rossi, 1965). A standard curve of ferulic acid (Sigma-Aldrich, USA) was prepared and the results were expressed in milligrams of ferulic acid equivalent per gram of dry sample (mg EAF·g<sup>-1</sup> MS). TAC was obtained according to Salinas-Moreno et al. (2005); for this purpose, a cyanidine-3-glucoside (Extrasynthese, France) standard curve was prepared. The results were expressed in milligrams of cyanidine 3-glucoside equivalent per gram of dry sample (mg ECG·g<sup>-1</sup> MS). The analyses of these variables were carried out in duplicate.

#### Antioxidant capacity

The AC of the tortillas was determined by two methods to achieve a more complete assessment, given the diversity of compounds present in the extract. The ABTS method (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-

a\* (rojo/verde) y b\* (amarillo/azul). Para obtener las lecturas, una porción de masa de 20 g se colocó sobre una superficie de vidrio. En el caso de la tortilla, ésta se expuso directamente sobre el lector del equipo con la cara opuesta a la formación de la ampolla. El color de la masa y la tortilla se midió el mismo día de su elaboración. En la tortilla, esta determinación se repitió después de 7 días de almacenamiento en refrigeración. El ángulo de tono o hue [H\* = arctag(b\*/a\*)] y el croma [C\* = √(a\*<sup>2</sup> + b\*<sup>2</sup>)] se calcularon de acuerdo con lo descrito por Jha (2010). El contenido de humedad en masa y tortilla se determinó por el método 44-10 de la American Association of Cereal Chemists (AACC, 2000).

#### Textura en tortilla

La textura se determinó en la tortilla almacenada por 24 h bajo refrigeración. Lo anterior debido a que la retrogradación del almidón en la tortilla se acelera a temperaturas bajas (Bueso, Waniska, Moreira, Seetharaman, & Rooney, 2006), y los mayores cambios en textura ocurren dentro de las primeras 24 h de su elaboración (Campas-Baypoli, Rosas-Burgos, Torres-Chávez, Ramírez-Wong, & Serna-Saldivar, 2002). Para determinar la textura, se calentó la tortilla en un horno de microondas por 30 s a intensidad media, en bloques de tres tortillas envueltas en una servilleta de algodón (manta) y dentro de una bolsa de plástico, la cual se colocó en un recipiente de plástico para conservar la temperatura de la tortilla entre 35 y 40 °C. De la parte central de la tortilla, se cortó un rectángulo de 4 x 9 cm, el cual se colocó entre los extremos del tensor "tensile grips" del texturómetro (Texture Analyser TA-XT2, Stable Micro Systems, Inglaterra). La velocidad de prueba fue de 1 mm·s<sup>-1</sup>, con una distancia de 40 mm (Suhendro, Almeida-Domínguez, Rooney, Waniska, & Moreira, 1999). Los parámetros determinados fueron: fuerza a 1 mm de extensibilidad (FE; N), fuerza de corte a tensión (FC; N) y distancia de extensibilidad (E; mm). Para cada tratamiento se realizaron de cuatro a cinco mediciones.

#### Antocianinas y fenoles solubles totales

Porciones de masa y de tortilla, de los diferentes tratamientos, se colocaron en charolas de aluminio y se deshidrataron por 15 h a 37 °C en un horno de secado, para luego molerse en un molino tipo ciclónico con malla de 0.5 mm. La extracción de los compuestos fenólicos se realizó de acuerdo con lo descrito por Salinas-Moreno et al. (2005) a partir de 1 g de muestra molida y 20 mL de metanol (J.T. Baker®, México) acidificado al 1 % con ácido triflouracético (Sigma Aldrich, EUA). La mezcla se sonicó por 15 min en un baño sonicador (model 2510, Branson, EUA) y se refrigeró para completar 2 h de extracción. Posteriormente, se centrifugó (Universal 32, Hettich, Alemania) a 2 660 g por 10 min, y el sobrenadante se filtró con papel Whatman

6-sulfonic acid) was carried out according to Re et al. (1999), and the FRAP method (iron reducing antioxidant power) was carried out according to Benzie and Strain (1996). In both methods, standard Trolox curves were run to express the results in  $\mu\text{mol}$  of this compound equivalent per gram of dry matter ( $\mu\text{mol ET}\cdot\text{g}^{-1}$  MS).

### Statistical analysis

Data was analyzed under a completely randomized experimental design, and the results obtained were subjected to an analysis of variance to evaluate the effect of treatments and Tukey mean comparison test ( $P \leq 0.05$ ). The SAS statistical package version 9.0 (SAS Institute, 2002) was used for this purpose.

## Results and discussion

### Color in dough and tortilla

The reference dough (Chal) had a dark blue-green color, with  $L^*$  values of  $50.2 \pm 0.2\%$ ,  $H^*$  of  $204.1 \pm 0.9^\circ$  (Figure 1a) and  $C^*$  of  $5.4 \pm 0.1$  (Figure 1b). On the other hand, the control dough (Bol) was less dark ( $L^* = 56.9 \pm 0.1\%$ ), greenish hue ( $H^* = 190.4 \pm 1.3^\circ$ ; Figure 1a) and less blue ( $C^* = 3.7 \pm 0.02$ ) compared to the reference dough (Figure 1b). The addition of anthocyanins to the dough in MC at medium (0.75 %) and high (1.0 %) concentrations changed the color to  $H^*$  values of  $295.7 \pm 3.1$  at  $302.2 \pm 1.2^\circ$ , and  $C^*$  of  $0.66 \pm 0.03$  at  $1.1 \pm 0.1$ , respectively, without changing  $L^*$  (Figure 1a), so the dough hue became blue-purple (Figure 1b). With the lowest MC level, a colored dough closer to the reference dough was achieved (DE = 7.19, data not shown).

When the pigment was added in EL, changes in the color variables ( $L^*$ ,  $H^*$  and  $C^*$ ) of the dough, with the three levels of anthocyanins, were minimal (Figure 1b). This result is attributed to the fact that, when adding anthocyanins in EL, the contact of flavonoids with alkaline matrix that represents the dough, is immediate, which causes the chemical form of flavylium cation (intense red color predominant at acid pH) to change to that of ionized chalcone (straw yellow color), which is unstable (Brouillard, 1982). By adding anthocyanins in MC, the wall material surrounding them protects them from alkaline pH.

The color of the dough with anthocyanins added in MC or EL changed with the heating applied to obtain the tortilla. The luminosity was reduced as a result of the loss of water through cooking (Figure 1c), and hue values were located in the first and second quadrants of the color diagram (Figure 1d). The tortillas of the reference sample (Chal) and control (Bol) were located in the second quadrant, with Hue values of 160.5 and  $130.1^\circ$ , respectively, corresponding to green-

no. 4 y se midió su volumen. A partir de este extracto se realizaron las determinaciones de FST, CAT y CA.

La cuantificación de FST se realizó por el método de Folin-Cicalteau (Singleton & Rossi, 1965). Se preparó una curva patrón de ácido ferúlico (Sigma-Aldrich, EUA) y los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido ferúlico por gramo de muestra seca (mg EAF $\cdot\text{g}^{-1}$  MS). El CAT se obtuvo de acuerdo con Salinas-Moreno et al. (2005); para ello, se preparó una curva patrón de cianidina 3-glucósido (Extrasynthese, Francia). Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de cianidina 3-glucósido por gramo de muestra seca (mg ECG $\cdot\text{g}^{-1}$  MS). Los análisis de estas variables se efectuaron por duplicado.

### Capacidad antioxidante

La CA de las tortillas se determinó por dos métodos para lograr una valoración más completa, dada la diversidad de compuestos presentes en el extracto. El método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) se efectuó de acuerdo con lo descrito por Re et al. (1999), y el método de FRAP (poder antioxidante reductor del hierro) se realizó según Benzie y Strain (1996). En ambos métodos se corrieron curvas estándar de Trolox para expresar los resultados en jumoles equivalentes de este compuesto por gramo de materia seca ( $\mu\text{mol ET}\cdot\text{g}^{-1}$  MS).

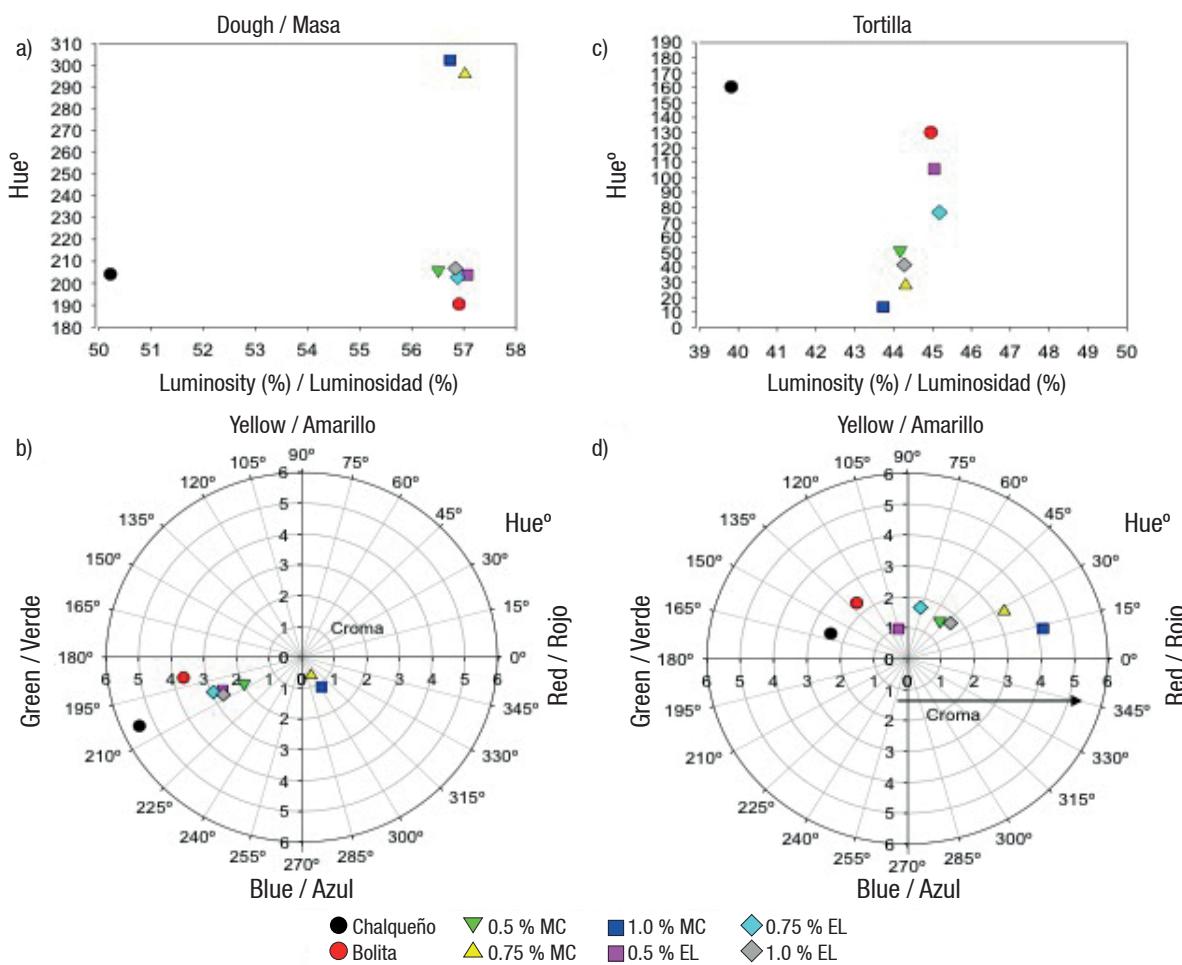
### Análisis estadístico

Los datos se analizaron bajo un diseño experimental completamente al azar, y los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza para evaluar el efecto de los tratamientos y una prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Para ello, se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute, 2002).

## Resultados y discusión

### Color en masa y tortilla

La masa de referencia (Chal) mostró color azul-verdoso oscuro, con valores de  $L^*$  de  $50.2 \pm 0.2\%$ ,  $H^*$  de  $204.1 \pm 0.9^\circ$  (Figura 1a) y  $C^*$  de  $5.4 \pm 0.1$  (Figura 1b). Por su parte, la masa del testigo (Bol) fue menos oscura ( $L^* = 56.9 \pm 0.1\%$ ), tono verdoso ( $H^* = 190.4 \pm 1.3^\circ$ ; Figura 1a) y menos azul ( $C^* = 3.7 \pm 0.02$ ) que la masa de referencia (Figura 1b). La adición de antocianinas a la masa mediante MC en las concentraciones media (0.75 %) y alta (1.0 %) cambió el color a valores de  $H^*$  de  $295.7 \pm 3.1$  a  $302.2 \pm 1.2^\circ$ , y de  $C^*$  de  $0.66 \pm 0.03$  a  $1.1 \pm 0.1$ , respectivamente, sin variar su  $L^*$  (Figura 1a), por lo que el tono de la masa se volvió azul-morado (Figura 1b). Con el nivel más bajo de MC se logró una masa de color más parecido al de referencia (DE = 7.19, datos no mostrados).



**Figure 1. Distribution in the hue-luminosity (a, c) and hue-chromaticity (b, d) diagrams of dough and tortilla color data of treatments with addition of pigments and the reference sample (Chal). MC = microcapsules; EL = extract; Bolita = control without pigments.**

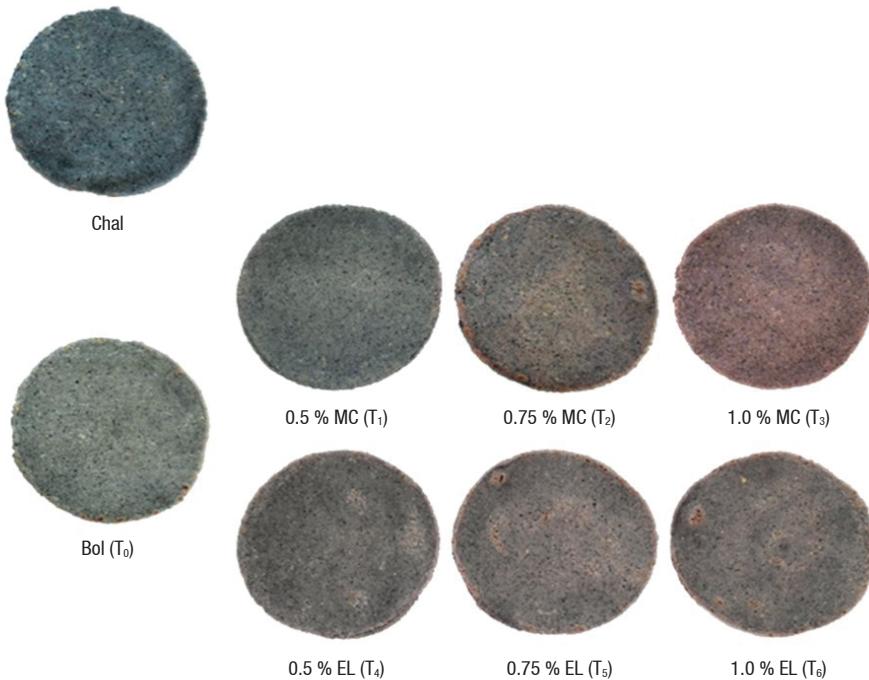
**Figura 1. Distribución en los planos hue-luminosidad (a, c) y hue-cromática (b, d) de los datos de color de masa y tortilla de los tratamientos con adición de pigmentos y la muestra de referencia (Chal). MC = microcápsulas; EL = extracto; Bolita = testigo sin pigmentos.**

yellow hues. The chroma was 2.4 for both tortillas, so the color was not very bright. The color of the dough was not a good predictor of the color of the tortilla in the treatments added with anthocyanins. This is because, although color was similar to the reference dough (with values of  $\Delta E$  between 7 and 8; data not shown), the tortillas have a different color, which was characterized by reddish hues, particularly those added with anthocyanins in MC (Figure 1d). Tortillas with anthocyanins in EL showed red-orange to yellow-green hues, with  $H^*$  values from 41.7 to 105.6° and  $C^*$  from 1.0 to 1.7, so appearance was opaque (Figure 2).

Tortillas with anthocyanins in MC stored for 7 days under refrigeration conditions showed higher  $L^*$  values compared to freshly made tortillas (day 0). In contrast, anthocyanins in EL reduced  $L^*$  values, so they were less luminous and darker compared to freshly made tortillas (Figure 3a). Cookies with MC

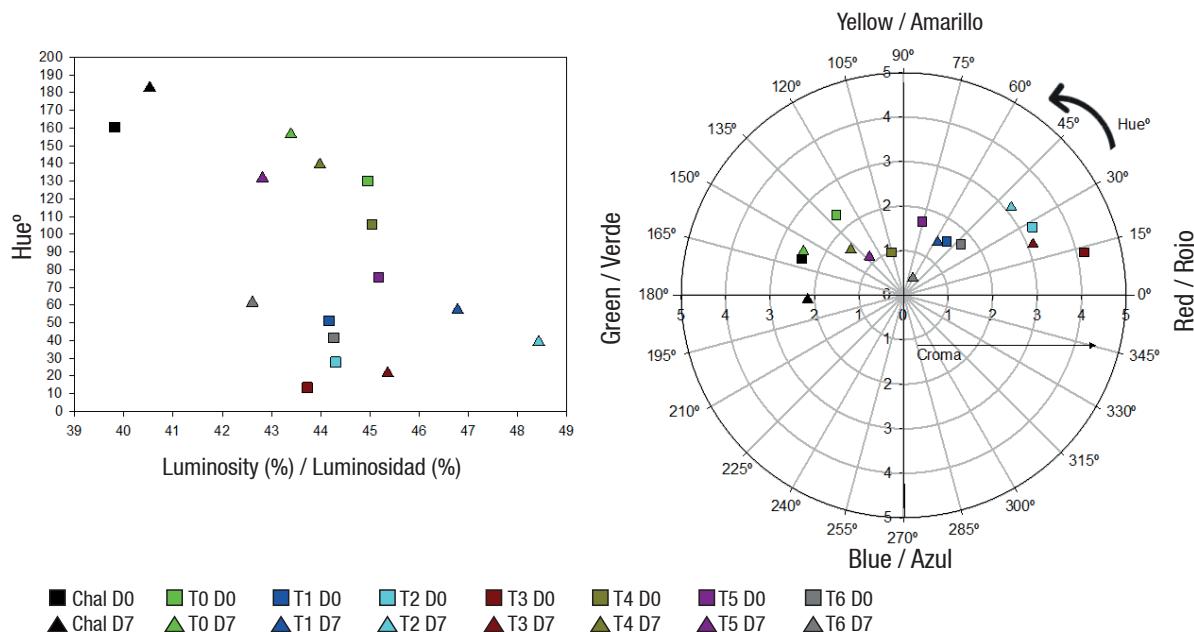
Cuando el pigmento se agregó en EL, los cambios en las variables de color ( $L^*$ ,  $H^*$  y  $C^*$ ) de la masa, con los tres niveles de antocianinas, fueron mínimos (Figura 1b). Este resultado se atribuye a que, al agregar las antocianinas en EL, el contacto de los flavonoides con la matriz alcalina que representa la masa es inmediato, lo que ocasiona que la forma química del catión flavylium (color rojo intenso predominante a pH ácido) cambié a la de chalcona ionizada (color amarillo paja), que es inestable (Brouillard, 1982). Al agregar las antocianinas en MC, el material de pared que las envuelve las protege del pH alcalino.

El color de la masa con antocianinas añadidas mediante MC o EL cambió con el calentamiento aplicado para obtener la tortilla. La luminosidad se redujo como consecuencia de la pérdida de agua por el cocimiento (Figura 1c), y los valores de hue se ubicaron en el primero y segundo cuadrante del plano de color (Figura 1d).



**Figure 2. Images of tortillas with anthocyanins treatment in the form of microcapsules (MC) or extract (EL). Bol = Bolita maize tortilla without addition of anthocyanins; Chal = tortilla made with Chalqueño maize used as color reference.**

**Figura 2. Imágenes de las tortillas con tratamiento de antocianinas en forma de microcápsulas (MC) o extracto (EL). Bol = tortilla de maíz Bolita sin adición de antocianinas; Chal = tortilla del maíz Chalqueño utilizada como referencia de color.**



**Figure 3. Distribution in hue-luminosity (a) and hue-chromaticity (b) diagrams of the tortilla color data, stored for 7 days, of the treatments added with anthocyanins in the form of microcapsules (MC) or extract (EL). Chal = tortilla made with Chalqueño maize used as color reference.**

**Figura 3. Distribución en los planos hue-luminosidad (a) y hue-cromaticidad (b) de los datos de color de tortilla, almacenada por 7 días, de los tratamientos adicionados con antocianinas en forma de microcápsulas (MC) o extracto (EL). Chal = tortilla del maíz Chalqueño utilizada como referencia de color.**

of bitter cherry (*Prunus cerasus*) anthocyanins had an increase in L\* values during storage (Šaponjac et al., 2016). On the other hand, Jimenez-Lopez et al. (2019) observed no change in L\* during storage for 7 days of waffles added with EL of anthocyanins obtained from strawberry tree (*Arbutus unedo*). In the first case, the results of L\* in tortillas added with anthocyanins in MC coincide with that reported in cookies (Šaponjac et al., 2016); but in the second case they do not coincide, which can be attributed to the pH of the matrix in which anthocyanins were found in one case and in the other. Tortillas are an alkaline pH product (from 8 to 8.8) (Vázquez-Carrillo, García-Lara, Salinas-Moreno, Bergvinson, & Palacios-Rojas, 2011), while waffles have slightly acidic pH (from 5.5 to 6), so it is possible that the degradation of anthocyanins during storage has been more accelerated in tortillas because they are unstable at alkaline pH.

H\* values increased with the storage of tortillas (Figure 3a). This increase was associated with the level of anthocyanins added to the dough. That is, the more anthocyanins in MC the tortilla has, the more the color changed from reddish-purple (day 0) to red-orange (day 7) (Figure 3b). The increase in H\* values could be due to degradation of anthocyanins during storage, which was attributed to alkaline pH of the product. C\* values were slightly reduced with the storage of tortillas, so their grayish appearance was more accentuated compared to freshly made tortilla.

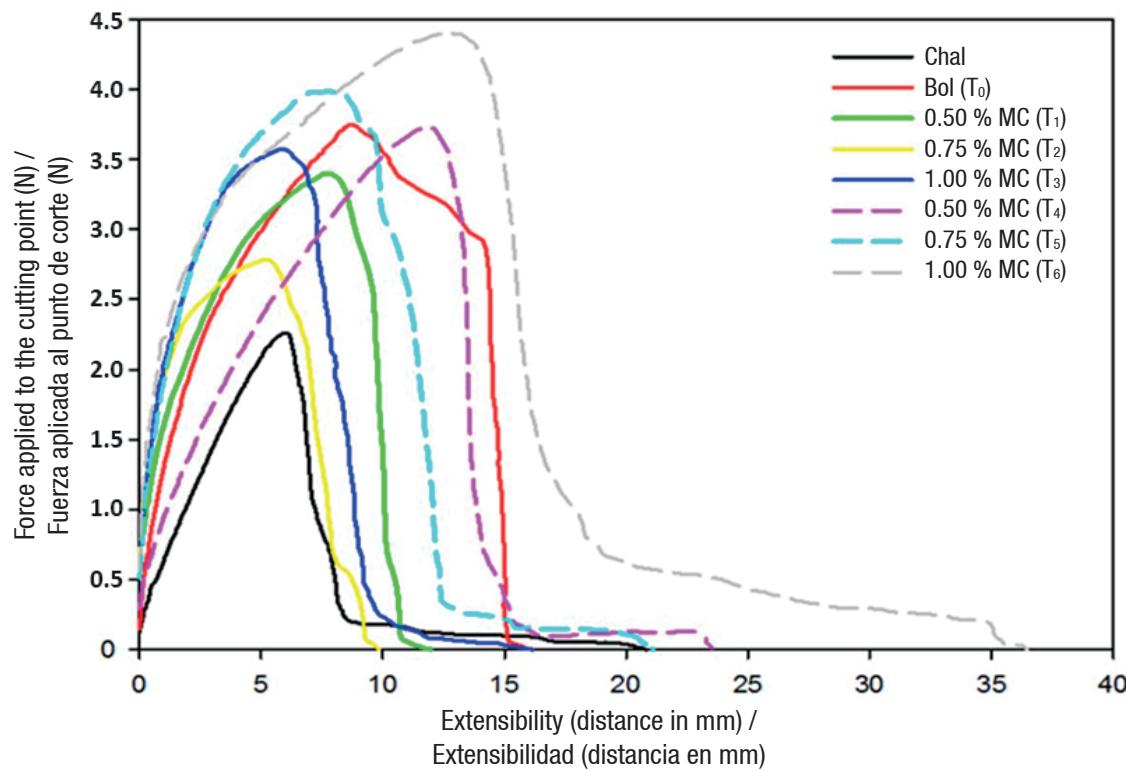
### Tortilla texture

Texture profiles of tortillas, including reference sample (Chal) and control Bol ( $T_0$ ), are shown in Figure 4. A marked difference was observed between the texture profile of the reference tortillas (floury grain) and those of the control (dent grain). Chal maize tortillas were characterized by low values of strength at 1 mm (FE) and FC, which were lower ( $P \leq 0.05$ ) than those of the control tortillas. Extensibility of Chal and Bol tortillas was statistically equal ( $P \leq 0.05$ ) (Table 1). Texture differences between Chal and Bol tortillas are attributed to the hardness of the grain of each maize, which is related to protein content and predominant type of starch (Santiago-Ramos, Figueroa-Cárdenas, Vélez-Medina, & Mariscal-Moreno, 2017). Chal maize has a soft grain and lower protein and amylose content than Bol maize, which has a hard grain (Salinas-Moreno et al., 2012). Protein-starch interactions in hard maize grains are stronger than in soft maize grains, making soft maize tortillas less resistant to breakage compared to hard maize grains (Osorio-Díaz et al., 2011). However, Salinas-Moreno and Aguilar-Modesto (2010) found no statistical difference in FC between tortillas with soft maize grains (floury) and hard maize grains.

Las tortillas de la muestra de referencia (Chal) y el testigo (Bol) se ubicaron en el segundo cuadrante, con valores de Hue de 160.5 y 130.1°, respectivamente, que corresponden a tonos verde amarillo. El croma fue de 2.4 para ambas tortillas, por lo que el color se apreció muy poco brillante. El color de la masa no resultó un buen predictor del color de la tortilla en los tratamientos adicionados con antocianinas. Lo anterior debido a que, aunque su color fue parecido al de la masa de referencia (con valores de ΔE entre 7 y 8; datos no mostrados), las tortillas presentan un color diferente, el cual se caracterizó por tonalidades rojizas, particularmente aquellas adicionadas con antocianinas en MC (Figura 1d). Las tortillas con antocianinas en EL mostraron tonos rojo-naranja a amarillo-verdoso, con valores de H\* de 41.7 a 105.6° y C\* de 1.0 a 1.7, por lo que su aspecto fue opaco (Figura 2).

Las tortillas con antocianinas en MC almacenadas por 7 días bajo condiciones de refrigeración presentaron valores de L\* mayores que las tortillas recién elaboradas (día 0). En contraste, las antocianinas en EL redujeron los valores de L\*, por lo que fueron menos luminosas y más oscuras que las recién elaboradas (Figura 3a). En galletas adicionadas con MC de antocianinas de cereza amarga (*Prunus cerasus*) se observó un incremento en los valores de L\* durante el almacenamiento (Šaponjac et al., 2016). Por su parte, Jiménez-López et al. (2019) no observaron cambios en L\* durante el almacenamiento por 7 días de waffles adicionados con EL de antocianinas obtenidas del madroño (*Arbutus unedo*). En el primer caso, los resultados de L\* en las tortillas adicionadas con antocianinas en MC coinciden con lo reportado en las galletas (Šaponjac et al., 2016); en el segundo, no, lo que se puede atribuir al pH de la matriz en la que se encontraban las antocianinas en un caso y en otro. La tortilla es un producto de pH alcalino (de 8 a 8.8) (Vázquez-Carrillo, García-Lara, Salinas-Moreno, Bergvinson, & Palacios-Rojas, 2011), mientras que los waffles son de pH ligeramente ácido (de 5.5 a 6), por lo que es posible que la degradación de las antocianinas durante el almacenamiento haya sido más acelerada en las tortillas debido a que son inestables a pH alcalino.

Los valores de H\* incrementaron con el almacenamiento de las tortillas (Figura 3a). Dicho aumento estuvo asociado con el nivel de antocianinas añadido a la masa. Es decir, mientras más antocianinas en forma de MC contenía la tortilla, más cambió su color, el cual se desplazó de tonos rojo-morado (día 0) a rojo-naranja (día 7) (Figura 3b). El incremento en los valores de H\* se podría deber a la degradación de las antocianinas durante el almacenamiento, lo que se atribuyó al pH alcalino del producto. Los valores de C\* se redujeron ligeramente con el almacenamiento de las tortillas, por lo que su aspecto grisáceo fue más acentuado que en la tortilla recién elaborada.



**Figure 4.** Texture of tortillas with Bolita maize (Bol) added with anthocyanins in the form of microcapsules (MC) or extract (EL). Chal is the tortilla made with Chalqueño maize used as reference, and T<sub>1</sub> to T<sub>6</sub> are the different treatments with addition of pigments.

**Figura 4.** Textura de tortillas de maíz Bolita (Bol) adicionadas con antocianinas en forma de microcápsulas (MC) o extracto (EL). Chal es la tortilla del maíz Chalqueño utilizada como referencia, y T<sub>1</sub> a T<sub>6</sub> son los diferentes tratamientos con adición de pigmentos.

**Table 1.** Mean of texture variables in tortillas with Bolita maize (Bol) added with anthocyanins in the form of microcapsules (MC) or extract (EL).

**Cuadro 1.** Medias de las variables de textura en tortillas de maíz Bolita (Bol) adicionadas con antocianinas en forma de microcápsulas (MC) o extracto (EL).

Treatments / Tratamientos	Extensibility strength (N·mm <sup>-1</sup> ) / Fuerza de extensibilidad (N·mm <sup>-1</sup> )	Cutting strength (N) / Fuerza de corte (N)	Extensibility (mm) / Extensibilidad (mm)	Tortilla moisture (%) / Humedad de tortilla (%)
Reference (Chal) / Referencia (Chal)	0.57 b <sup>a</sup>	2.19 d	7.0 ab	43.4 ed
Control (T <sub>0</sub> ) / Testigo (T <sub>0</sub> )	1.11 ab	3.51 ab	10.4 ab	46.9 abc
0.5 % MC (T <sub>1</sub> )	1.39 ab	3.41 bc	9.0 ab	48.5 ab
0.75 % MC (T <sub>2</sub> )	1.49 ab	2.45 cd	5.0 b	44.6 cde
1.0 % MC (T <sub>3</sub> )	1.67 ab	3.19 bcd	5.8 ab	49.2 a
0.5 % EL (T <sub>4</sub> )	1.10 ab	3.69 ab	11.0 ab	41.8 e
0.75 % EL (T <sub>5</sub> )	1.53 ab	4.08 ab	10.0 ab	46.1 bcd
1.0 % EL (T <sub>6</sub> )	1.87 a	4.46 a	12.5 a	47.5 ab
LSD / DMSH	1.3	1.04	7.3	2.8

Chal is the tortilla with Chalqueño maize used as reference, and T<sub>1</sub> a T<sub>6</sub> are the different treatments with addition of pigments; LSD = least significant difference.

<sup>a</sup>Means with the same letter within each column do not differ statistically (Tukey, P ≤ 0.05).

Chal es la tortilla del maíz Chalqueño utilizada como referencia, y T<sub>1</sub> a T<sub>6</sub> son los diferentes tratamientos con adición de pigmentos; DMSH = diferencia mínima significativa honesta. <sup>a</sup>Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05).

The addition of anthocyanins to dough did not affect FE of the tortillas, because there was no statistical difference between control tortillas and treatments. However, a trend towards higher FE was observed by increasing the amount of anthocyanins added in both MC and EL. FC ranged from 2.19 to 4.46 N, where the tortillas with the highest values were those with anthocyanin added by EL, and the lower values corresponded to tortillas with anthocyanins in the form of MC (Table 1). Of the texture variables, FC is related to the hardness of the tortilla, and can be measured by tension, as in this study, or by puncture, as Vernon-Carter et al. did (2020). These authors, when adding MC of anthocyanins of purple maize to nixtamalized white maize flour in concentrations of 30, 60 and 120 mg·100 g<sup>-1</sup> of dough to obtain naturally dyed tortillas, observed a hardness reduction when increasing the amount of MC added to the flour, and attributed this result to the interaction between tortilla's starch and polyphenols from MC that contained 25 % of anthocyanins.

The addition of anthocyanins to the dough, in MC or EL, did not alter the extensibility of tortillas, which was statistically the same ( $P \leq 0.05$ ) between treatments. However, there was a trend of lower extensibility in MC treatments, which could be due to the effect of polysaccharides in the wall material.

Tortilla moisture is related to its hardness, the higher the moisture the lower the hardness (Salinas-Moreno & Aguilar-Modesto, 2010). Tortilla moisture values varied from 41.8 to 49.2 %, with the lowest value in tortillas of T<sub>4</sub> and the highest values in tortillas from treatments T<sub>3</sub> and T<sub>6</sub>. However, no clear relationship was observed between anthocyanin levels and the way they were added (MC or EL) with tortilla moisture.

FC values of blue-purple maize tortillas with and without added pigments are within those reported by Cruz-Chávez, Cadena-Iñiguez, Salinas-Moreno, and Garrido-Ramírez (2013), which were 1.96 to 5.88 N for tortillas obtained from different accessions of Mexican maize, with the same grain color and evaluated under tortilla temperature conditions similar to the present study. When FC evaluation is performed on cold tortilla, values are considerably elevated due to tortilla stiffness. This was demonstrated by Chávez-Santoscoy, Gutiérrez-Uribe, Serna-Saldivar, and Pérez-Carrillo (2016), who reported FC values of 10.2 to 10.4 N in maize tortillas with the addition of black bean seed coat extract.

#### Total anthocyanins, total soluble phenols and antioxidant capacity in dough and tortilla

Phenolic composition variables (TAC and TSP) and AC of dough and tortilla are shown in Table 2. The incorporation of anthocyanins to dough in the form of

#### Textura de tortilla

Los perfiles de textura de las tortillas, incluyendo la muestra de referencia (Chal) y el testigo Bol (T<sub>0</sub>), se presentan en la Figura 4. Se observó una diferencia marcada entre el perfil de textura de las tortillas de referencia (grano harinoso) y las del testigo (grano dentado). Las tortillas del maíz Chal se caracterizaron por valores bajos de fuerza a 1 mm (FE) y FC, que fueron menores ( $P \leq 0.05$ ) a los de las tortillas testigo. La extensibilidad de las tortillas Chal y Bol fue estadísticamente igual ( $P \leq 0.05$ ) (Cuadro 1). Las diferencias de textura entre las tortillas Chal y Bol se atribuyen a la dureza del grano de cada maíz, que se relaciona con el contenido de proteína y el tipo de almidón predominante (Santiago-Ramos, Figueroa-Cárdenas, Vélez-Medina, & Mariscal-Moreno, 2017). El maíz Chal es de grano suave, y posee menor contenido de proteína y amilosa que el maíz Bol, que es de grano duro (Salinas-Moreno et al., 2012). Las interacciones proteína-almidón en los maíces de grano duro son más fuertes que en los maíces de grano suave, lo que hace que la tortilla de maíces suaves sea menos resistente a la ruptura que la de maíces de grano duro (Osorio-Díaz et al., 2011). No obstante, Salinas-Moreno y Aguilar-Modesto (2010) no encontraron diferencia estadística en la FC entre tortillas de maíces de grano suave (harinoso) y maíces de grano duro.

La adición de antocianinas a la masa no afectó la FE de las tortillas, ya que no hubo diferencia estadística entre las tortillas testigo y los tratamientos. Sin embargo, se observó una tendencia hacia mayor FE al incrementar la cantidad de antocianinas agregada, tanto en MC como en EL. La FC varió de 2.19 a 4.46 N, en donde las tortillas con los mayores valores fueron las de los tratamientos adicionados con antocianinas mediante EL, y los menores correspondieron a las tortillas con antocianinas en forma de MC (Cuadro 1). De las variables de textura, la FC se relaciona con la dureza de la tortilla, y se puede medir a tensión, como en este trabajo, o mediante punción, como lo hicieron Vernon-Carter et al. (2020). Estos autores, al adicionar MC de antocianinas de maíz morado a harina nixtamalizada de maíz blanco en concentraciones de 30, 60 y 120 mg·100 g<sup>-1</sup> de masa para obtener tortillas teñidas naturalmente, observaron una reducción de la dureza al incrementar la cantidad de MC añadidas a la harina, y atribuyeron este resultado a la interacción entre el almidón de la tortilla y los polifenoles de las MC que contenían 25 % de antocianinas.

La adición de antocianinas a la masa, en MC o EL, no alteró la extensibilidad de las tortillas, que fue estadísticamente igual ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos. No obstante, se presentó una tendencia de menor extensibilidad en los tratamientos con MC, lo que se

**Table 2. Mean values of total anthocyanins (TAC), total soluble phenols (TSP) and antioxidant capacity (ABTS and FRAP) in blue-purple maize tortilla and dough added with anthocyanins in microcapsules (MC) or extract (EL).**

**Cuadro 2. Medias de los valores de antocianinas totales (CAT), fenoles solubles totales (FST) y capacidad antioxidante (ABTS y FRAP) en masa y tortilla de maíz azul-morado adicionado con antocianinas en forma de microcápsulas (MC) o extracto (EL).**

Treatment/ Tratamiento	TAC/ CAT	TSP / FST	ABTS	FRAP	Loss of anthocyanins (%) / Pérdida de antocianinas (%)
Dough/Masa					
Reference (Chal)/ Referencia (Chal)	32.4 a <sup>z</sup>	148.0 a	14.1 a	7.2 a	
Control (T <sub>0</sub> ) / Testigo (T <sub>0</sub> )	21.0 e	124.9 c	12.3 b	5.5 c	
0.5 % MC (T <sub>1</sub> )	24.1 cd	122.1 c	13.1 ab	5.9 b	
0.75 % MC (T <sub>2</sub> )	24.6 bc	127.2 bc	13.9 ab	6.2 b	
1.0 % MC (T <sub>3</sub> )	25.8 b	132.8 b	13.1 ab	6.2 b	
0.5 % EL (T <sub>4</sub> )	22.9 d	106.7 d	10.5 c	5.4 c	
0.75 % EL (T <sub>5</sub> )	22.9 d	122.2 c	12.6 ab	6.1 b	
1.0 % EL (T <sub>6</sub> )	26.1 b	122.3 c	13.3 ab	5.9 b	
LSD/DMSH	1.7	6.2	1.6	0.4	
Tortilla					
Reference (Chal)/ Referencia (Chal)	16.1 a	78.9 bc	7.9 d	4.2 b	50.2
Control (T <sub>0</sub> ) / Testigo (T <sub>0</sub> )	12.2 f	69.9 d	7.6 e	3.7 f	41.3
0.5 % MC (T <sub>1</sub> )	12.9 e	70.1 d	8.0 d	4.1 c	46.5
0.75 % MC (T <sub>2</sub> )	15.0 c	79.7 b	8.2 c	4.0 d	39
1.0 % MC (T <sub>3</sub> )	15.5 b	81.9 a	8.9 b	4.2 b	39.9
0.5 % EL (T <sub>4</sub> )	11.6 g	59.4 e	7.5 e	3.3 g	49.1
0.75 % EL (T <sub>5</sub> )	14.0 d	77.3 c	8.3 c	3.8 e	38.8
1.0 % EL (T <sub>6</sub> )	15.5 b	82.5 a	9.8 a	4.4 a	40.5
LSD/DMSH	0.5	2.1	0.3	0.1	

TAC = milligrams of cyanidine 3-glucoside equivalent per 100 g of dry matter (ECG-100 g<sup>-1</sup> MS); TSP = milligrams of ferulic acid equivalent per 100 g of dry matter (mg EAF-100 g<sup>-1</sup> MS). ABTS and FRAP values are expressed in µmol Trolox equivalent per gram of dry matter (µmol ET·g<sup>-1</sup> MS); LSD = least significant difference. Chal = Chalqueño maize used as reference. <sup>z</sup>Mean with the same letter within each column do not differ statistically (Tukey, P ≤ 0.05).

CAT = miligramos equivalentes de cianidina 3-glucócidio por 100 g de materia seca (mg ECG-100 g<sup>-1</sup> MS); FST = miligramos equivalentes de ácido ferúlico por 100 g de materia seca (mg EAF-100 g<sup>-1</sup> MS). Los valores de ABTS y FRAP están expresados en µmoles equivalentes de Trolox por gramo de materia seca (µmol ET·g<sup>-1</sup> MS); DMSH = diferencia mínima significativa honesta. Chal = maíz Chalqueño utilizado como referencia. <sup>z</sup>Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05).

MC or EL increased TAC to values of 26.1 mg ECG·100 g<sup>-1</sup> MS, but without equaling the value observed in the reference dough (32.4 mg ECG·100 g<sup>-1</sup> MS). When the pigment was added in the form of MC, TAC increased as the concentration increased. However, when it was added as EL, the increase was observed only with the highest concentration, which is attributed to the possible degradation of anthocyanins by alkaline pH of dough, which was not observed in the

pudiera deber al efecto de los polisacáridos del material de pared.

La humedad de la tortilla se encuentra relacionada con su dureza, a mayor humedad menor dureza (Salinas-Moreno & Aguilar-Modesto, 2010). Los valores de humedad en las tortillas variaron de 41.8 a 49.2 %, con el valor más bajo en las tortillas de T<sub>4</sub>, y los valores más altos en las tortillas de los tratamientos T<sub>3</sub> y T<sub>6</sub>. Sin

low and medium concentrations due to the low amount of added anthocyanins. TSP showed a similar behavior to that observed in TAC.

When assessing AC from the dough, the ABTS method reported higher values compared to the FRAP test, which is attributed to a greater affinity of the phenolic compounds in the extract for the radical of the ABTS method (Žilić, Serpen, Akillioğlu, Gökmən, & Vančetović, 2012). It is also possible that the mechanism by which anti-radical activity is analyzed in both techniques has some involvement. The ABTS method shows both electron transfer and proton exchange (transfer of a hydrogen atom), while the FRAP method shows only electron transfer as it is an oxide-reduction method (Karadag, Ozcelik, & Saner, 2009).

With the ABTS and FRAP tests, the highest AC from the dough was in the reference (Chal), and the lowest in treatment T<sub>4</sub>. The addition of anthocyanins in MC or EL form to the dough of maize Bol increased AC values, but it was not enough to equal the value of the dough used as reference. This result is attributed to the fact that the amounts of anthocyanins added were very low (0.5453 to 1.636 mg·100 g<sup>-1</sup> of dough), because efforts were made to keep the color of the tortilla as close as possible to the reference color.

When the dough was transformed into tortillas, TAC (38.8 to 50.2 %) and TSP (32.5 to 46.7 %) values were reduced due to high temperature (200 to 240 °C) during this process. Although the exposure time to high temperature was less than 1 min, the thickness of the tortilla (1.5 to 2 mm) causes a high percentage of phenolic compounds to degrade. TAC values were between 12.3 and 16.1 mg ECG·100 g<sup>-1</sup> MS, while TSP varied from 59.4 (T<sub>4</sub>) to 82.5 mg EAF·100 g<sup>-1</sup> MS (T<sub>6</sub>). The values obtained in phenolic variables (TAC and TSP) are similar to those reported by Hernández-Martínez et al. (2016) in tortillas from populations of blue-purple maize grain of Chalqueño and Bolita varieties.

TAC and TSP values in the tortilla increased as the amount of anthocyanins added to the dough increased. The highest values in both variables were found in tortillas with the highest concentration added, both in MC and EL. The loss of anthocyanins when transformed into tortillas was 41.4 and 50.2 %, respectively for reference dough and control treatment. While losses varied from 39.1 to 49.1 % for dough added with pigments, without any relation between the mode the pigment was added (MC or EL) and stability of anthocyanins at high temperatures. Azzurra-Papillo et al. (2018) used black rice anthocyanins in EL or MC in the formulation of biscuits to add color and enrich the product with bioactive compounds. Baking caused between 33 and 49 % of anthocyanin losses, with moderate protection of anthocyanins at baking temperatures when added in MC.

embargo, no se observó una relación clara entre los niveles de antocianinas y la forma en que se agregaron (MC o EL) con la humedad de la tortilla.

Los valores de FC de las tortillas de maíz azul-morado con y sin adición de pigmentos se encuentran dentro de los reportados por Cruz-Chávez, Cadena-Iñiguez, Salinas-Moreno, y Garrido-Ramírez (2013), que fueron de 1.96 a 5.88 N para tortillas obtenidas de distintas accesiones de maíz de razas mexicanas, con el mismo color de grano y evaluadas bajo condiciones de temperatura de tortilla similares al presente estudio. Cuando la evaluación de la FC se realiza en tortilla fría, los valores se elevan considerablemente por la rigidez de la tortilla. Así lo demostraron Chávez-Santoscoy, Gutiérrez-Uribe, Serna-Saldivar, y Pérez-Carrillo (2016), quienes reportan valores de FC de 10.2 a 10.4 N en tortillas de maíz adicionadas con extracto de cáscara de frijol negro.

#### **Antocianinas totales, fenoles solubles totales y capacidad antioxidante en masa y tortilla**

Las variables de composición fenólica (CAT y FST) y CA de la masa y la tortilla se presentan en el Cuadro 2. La incorporación de antocianinas a la masa en forma de MC o EL incrementó el CAT hasta valores de 26.1 mg ECG·100 g<sup>-1</sup> MS, pero sin igualar el valor observado en la masa de referencia (32.4 mg ECG·100 g<sup>-1</sup> MS). Cuando el pigmento se agregó en forma de MC, la variable CAT incrementó al aumentar la concentración. Sin embargo, cuando se agregó como EL, el aumento se observó sólo con la concentración más alta, lo que se atribuye a la posible degradación de las antocianinas por el pH alcalino de la masa, lo cual no se observó en las concentraciones baja y media debido a la baja cantidad de antocianinas agregadas. Los FST presentaron un comportamiento similar al observado en el CAT.

Al evaluar la CA de la masa, el método de ABTS reportó mayores valores que el ensayo FRAP, lo que se atribuye a una mayor afinidad de los compuestos fenólicos del extracto por el radical del método ABTS (Žilić, Serpen, Akillioğlu, Gökmən, & Vančetović, 2012). También es posible que el mecanismo con el que se analiza la actividad antirradical en ambas técnicas tenga alguna participación. En el método ABTS se presentan tanto la transferencia de electrones como el intercambio de protones (transferencia de un átomo de hidrógeno), mientras que en el de FRAP ocurre únicamente la transferencia de electrones al ser un método de óxido-reducción (Karadag, Ozcelik, & Saner, 2009).

Con los ensayos ABTS y FRAP, la mayor CA de la masa se presentó en la referencia (Chal), y la menor en el tratamiento T<sub>4</sub>. La adición de antocianinas en forma de MC o EL a la masa del maíz Bol incrementó los valores

Stability of anthocyanins at elevated temperatures is influenced by the pH of the matrix in which they are found. According to Li et al. (2013), anthocyanins are more stable at acidic pH.

The losses of anthocyanins when changing from dough to tortillas were higher than those reported by Chávez-Santoscoy et al. (2016) for maize tortillas added with black bean coats bioactives (12 to 20 %), and to those obtained by López-Martínez, Parkin, and García (2011) for blue-purple maize grains (32 %). The differences can be attributed to the cooking time of the tortilla, because when produced in a traditional way this variable is difficult to standardize. However, de la Parra, Serna-Saldivar, and Liu (2007) report a 44 % increase in the content of these compounds when changing from dough to tortilla, and Mendoza-Díaz et al. (2012) report a 111.9 % increase. Dough has a higher moisture content than tortilla, so the anthocyanin content for both products should be reported on a dry basis to make comparisons. De la Parra et al. (2007) indicate that the values are on a dry basis, while Mendoza-Díaz et al. (2012) do not mention it. However, an increase in anthocyanin content of tortillas in relation to that of dough is difficult to explain, due to susceptibility of anthocyanins to temperature (Patras, Brunton, O'Donnell, & Tiwari, 2010).

Anthocyanins represent a significant proportion of TSP, so changes observed in the latter variable were in the same direction as those of TAC, although magnitudes varied slightly. In the reference sample (Chal) and control (Bol), reductions were 46.7 and 44.0 %, respectively; while in treatments with addition of pigments the values varied from 32.5 to 44.3 % (in  $T_6$  and  $T_4$ , respectively).

The addition of pigments to the dough improved the AC of the tortillas. According to the results of the ABTS method, all treatments equaled or exceeded the AC of the reference and control tortillas, except for  $T_4$ , which was the same as the control. With the FRAP test, only treatments  $T_3$  and  $T_6$ , which correspond to the highest concentration of anthocyanins added in MC and EL, respectively, equaled or exceeded the CA of the reference tortillas. These results differ from those obtained in dough, where none of the treatments added with anthocyanins equaled the CA of the Chal maize dough used as reference. This could be related to the loss of anthocyanins during tortilla cooking, because Chal maize dough lost the most anthocyanins.

The ABTS method was more sensitive compared to the FRAP method to changes in the anthocyanin content of the tortilla, as AC values with ABTS were reduced similarly to TAC. However, with the FRAP method, AC of the tortilla was reduced by an average of 34 % compared to the dough.

de CA, pero no fue suficiente para igualar el valor de la masa usada como referencia. Este resultado se atribuye a que las cantidades de antocianinas agregadas fueron muy bajas (0.5453 a 1.636 mg·100 g<sup>-1</sup> de masa), pues se procuró mantener el color de la tortilla lo más parecido posible al de referencia.

Al transformar la masa en tortilla se redujeron los valores de CAT (38.8 a 50.2 %) y FST (32.5 a 46.7 %) debido a la temperatura elevada (200 a 240 °C) durante este proceso. Aunque el tiempo de exposición a la temperatura elevada fue menor a 1 min, el espesor de la tortilla (de 1.5 a 2 mm) ocasiona que se degrade un alto porcentaje de los compuestos fenólicos. Los valores de CAT se ubicaron entre 12.3 y 16.1 mg ECG·100 g<sup>-1</sup> MS, en tanto que los FST variaron desde 59.4 ( $T_4$ ) hasta 82.5 mg EAF·100 g<sup>-1</sup> MS ( $T_6$ ). Los valores obtenidos en las variables fenólicas (CAT y FST) son parecidos a los reportados por Hernández-Martínez et al. (2016) en tortillas de poblaciones de maíz con grano azul morado de las razas Chalqueño y Bolita.

Los valores de CAT y FST en la tortilla aumentaron al incrementar la cantidad de antocianinas añadida a la masa. Los valores mayores en ambas variables se tuvieron en las tortillas con la mayor concentración añadida, tanto en MC como en EL. En la masa de la referencia y el testigo, la pérdida de antocianinas al transformarla en tortilla fue de 41.4 y 50.2 %, respectivamente. Mientras que, en la masa adicionada con pigmentos, las pérdidas variaron de 39.1 a 49.1 %, sin que se observara alguna relación entre la forma en que se agregó el pigmento (MC o EL) y la estabilidad de las antocianinas a las temperaturas elevadas. Azzurra-Papillo et al. (2018) utilizaron antocianinas de arroz negro en EL o MC en la formulación de bisquets para agregar color y enriquecer el producto con compuestos bioactivos. El horneado causó entre 33 y 49 % de pérdidas de antocianinas, con una moderada protección de las antocianinas a las temperaturas de horneado cuando se agregaron en MC. La estabilidad de las antocianinas a las temperaturas elevadas es influenciada por el pH de la matriz en la que se encuentren. De acuerdo con Li et al. (2013), las antocianinas son más estables en pH ácido.

Las pérdidas de antocianinas al pasar de masa a tortilla fueron más elevadas que lo reportado por Chávez-Santoscoy et al. (2016) en tortillas de maíz adicionadas con bioactivos de cáscara de frijol negro (12 a 20 %), y a lo obtenido por López-Martínez, Parkin, y García (2011) para maíz de grano azul-morado (32 %). Las diferencias se pueden atribuir al tiempo de cocción de la tortilla, ya que cuando se elaboran de manera artesanal esta variable es difícil de estandarizar. Sin embargo, de la Parra, Serna-Saldivar, y Liu (2007) reportan un incremento de 44 % en el contenido de estos compuestos al pasar de masa a tortilla, y

In experiments on the enrichment of food products with bioactives to increase AC, the amounts added do not consider the final color of the product (Chavez-Santoscoy et al., 2016; Azzurra-Papillo et al., 2018). However, when a color reference is established, as was the case with the Chal maize tortilla, the addition of bioactives is restricted, so the gain in AC with respect to the control was moderate (17 to 29 %).

## Conclusions

The addition of anthocyanins in the form of microcapsules or extract to the blue-purple maize dough modified the color of the tortilla and increased the contents of anthocyanins and total soluble phenols, and antioxidant capacity. Tortilla hardness increased with the addition of anthocyanins in extract, although other texture variables were not affected. With high concentrations of anthocyanins, both in microcapsules and in extract, the color of the tortillas was different from that of the reference sample, presenting reddish tones.

## Acknowledgements

The authors thank M.C. Álvaro A. Chávez Durán for his support in editing the images contained in this document.

*End of English version*

## References / Referencias

- American Association of Cereal Chemists (AACC). (2000). *Official methods of analysis*. Gaithersburg, USA: Author.
- Azzurra-Papillo, V., Locatelli, M., Travaglia, F., Bordiga, M., Garino, C., Arlorio, M., & Coïsson, J. D. (2018). Spray-dried polyphenolic extract from Italian black rice (*Oryza sativa L.*, var. Artemide) as new ingredient for bakery products. *Food Chemistry*, 269, 603-609. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.07.059
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76. doi: 10.1006/abio.1996.0292
- Brouillard, R. (1982). Chemical structure of anthocyanins. In: Markakis, P. (Ed). *Anthocyanins as Food Colors* (pp. 1-40). New York: Academic Press.
- Bueso, F. J., Waniska, R. D., Moreira, R., Seetharaman, K., & Rooney, L. W. (2006). Effect of temperature on texture of corn tortilla with and without antistaling agents. *Cereal Chemistry*, 83(4), 348-353. doi: 10.1094/CC-83-0348

Mendoza-Díaz et al. (2012) precisaron 111.9 % de incremento. La masa posee un contenido de humedad mayor que el de la tortilla, por lo que el contenido de antocianinas para ambos productos debe ser reportado en base seca a fin de poder realizar comparaciones. De la Parra et al. (2007) indican que los valores están en base seca, mientras que Mendoza-Díaz et al. (2012) no lo mencionan. De cualquier manera, un incremento en el contenido de antocianinas en la tortilla con relación al de masa resulta difícil de explicar, esto debido a la susceptibilidad de las antocianinas a las temperaturas elevadas (Patras, Brunton, O'Donnell, & Tiwari, 2010).

Las antocianinas representan una proporción importante de los FST, por lo que los cambios observados en esta última variable fueron en la misma dirección que los de CAT, aunque las magnitudes variaron ligeramente. En la muestra de referencia (Chal) y el testigo (Bol), las reducciones fueron de 46.7 y 44.0 %, respectivamente; mientras que en los tratamientos con adición de pigmentos los valores variaron de 32.5 a 44.3 % (en T<sub>6</sub> y T<sub>4</sub>, respectivamente).

La adición de pigmentos a la masa mejoró la CA de las tortillas. De acuerdo con los resultados del método ABTS, todos los tratamientos igualaron o superaron la CA de las tortillas de referencia y el testigo, con excepción de T<sub>4</sub>, que fue igual que el testigo. Con el ensayo FRAP, únicamente los tratamientos T<sub>3</sub> y T<sub>6</sub>, que corresponden a la concentración más alta de antocianinas agregadas en MC y EL, respectivamente, igualaron o superaron la CA de las tortillas de referencia. Estos resultados difieren de los obtenidos en masa, en donde ninguno de los tratamientos adicionados con antocianinas igualó la CA de la masa del maíz Chal usada como referencia. Lo anterior podría estar relacionado con la pérdida de antocianinas durante la cocción de la tortilla, ya que la masa del maíz Chal fue la que más perdió.

El método ABTS fue más sensible que el FRAP a cambios en el contenido de antocianinas en la tortilla, ya que los valores de CA con ABTS se redujeron de manera similar al CAT. Sin embargo, con el método FRAP, la CA de la tortilla se redujo en promedio 34 % en comparación con la masa.

En experimentos sobre enriquecimiento de productos alimenticios con bioactivos para incrementar su CA, las cantidades que se agregan no consideran el color final del producto (Chavez-Santoscoy et al., 2016; Azzurra-Papillo et al., 2018). No obstante, cuando se establece un referente de color, como fue el caso de la tortilla de maíz Chal, la adición de bioactivos se restringe, por lo que la ganancia en CA con respecto al testigo fue de sólo 17 a 29 %.

- Campas-Baypoli, O. N., Rosas-Burgos, E. C., Torres-Chávez, P. I., Ramírez-Wong, B., & Serna-Saldivar, S. O. (2002). Physicochemical changes of starch in maize tortillas during storage at room and refrigeration temperatures. *Starch*, 54(8), 358-363. doi: 10.1002/1521-379X(200208)54:8<358::AID-STAR358>3.0.CO;2-W
- Chávez-Santoscoy, R. A., Gutiérrez-Uribe, J. A., Serna-Saldivar, S. O., & Pérez-Carrillo, E. (2016). Production of maize tortillas and cookies from nixtamalized flour enriched with anthocyanins, flavonoids and saponins extracted from black bean (*Phaseolus vulgaris*) seed coats. *Food Chemistry*, 192, 90-97. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.06.113
- Chimimba, J., Pratt, R., Cuellar, M., & Delgado, E. (2019). Quality parameters of masa and tortillas produced from blue maize (*Zea mays* sp. *mays*) landraces. *Journal of Food Science*, 84(2), 213-223. doi: 10.1111/1750-3841.14442
- Cruz-Chávez, F. J., Cadena-Iñiguez, P., Salinas-Moreno, Y., & Garrido-Ramírez, E. (2013). Características industriales de maíces (*Zea mays* L.) pigmentados de Chiapas. *Agroproductividad*, 6(5), 44-52. Retrieved from <http://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/482/361>
- de la Parra, C., Serna-Saldivar, S. O., & Liu, R. H. (2007). Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4177-4183. doi: 10.1021/jf063487p
- Díaz-García, M. C., Castelar, M. R., Obón, J. M., Obón, C., Alcaraz, F., & Rivera, D. (2014). Production of an anthocyanin-rich food colourant from *Thymus moroderi* and its application in foods. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 95(6), 1283-1293. doi: 10.1002/jsfa.6821
- García-Tejeda, Y. V., Salinas-Moreno, Y., Hernández-Martínez, A. R., & Martínez-Bustos, F. (2016). Encapsulation of purple maize anthocyanins in phosphorylated starch by spray drying. *Cereal Chemistry*, 93(2), 130-137. doi: 10.1094/CCHM-04-15-0072-R
- Hernández-Martínez, V., Salinas-Moreno, Y., Ramírez-Díaz, J. L., Vázquez-Carrillo, G., Domínguez-López, A., & Ramírez-Romero, A. G. (2016). Color, phenolic composition and antioxidant activity of blue tortillas from Mexican maize races. *CyTA - Journal of Food*, 14(3), 473-481. doi: 10.1080/19476337.2015.1136842
- Jha, S. N. (2010). Color measurements and modeling. In: Jha, S. N. (Ed), *Nondestructive Evaluation of Food Quality* (pp. 12-40). Berlin, Germany: Springer-Verlag.
- Jiménez-López, C., Caleja, C., Prieto, M., Sokovic, M., Calhelha, R. C., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2019). Stability of a cyanidin-3-O-glucoside extract obtained from *Arbutus unedo* L. and incorporation into wafers for colouring purposes. *Food Chemistry*, 275, 426-438. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.09.099

## Conclusiones

La adición de antocianinas en forma de microcápsulas o extracto a la masa de maíz azul-morado modificó el color de la tortilla y aumentó los contenidos de antocianinas y fenoles solubles totales, así como su capacidad antioxidante. La dureza de la tortilla incrementó al agregar las antocianinas en extracto, aunque las demás variables de textura no fueron afectadas. Con las concentraciones altas de antocianinas, tanto en microcápsulas como en extracto, el color de las tortillas fue diferente al de la muestra de referencia, al presentar tonos rojizos.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al M.C. Álvaro A. Chávez Durán por el apoyo en la edición de las imágenes contenidas en el documento.

## Fin de la versión en español

- Karadag, A., Ozcelik, B., & Saner, S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*, 2(1), 41-60. doi: 10.1007/s12161-008-9067-7
- Li, J., Li, X. D., Zhang, Y., Zheng, Z. D., Qu, Z. Y., Liu, M., Zhu, S. H., Liu, S., Wang, M., & Qu, L. (2013). Identification and thermal stability of purple-fleshed sweet potato anthocyanins in aqueous solutions with various pH values and fruit juices. *Food Chemistry*, 136(3-4), 1429-1434. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.09.054
- López-Martínez, L. X., Parkin, K. L., & García, H. S. (2011). Phase II-inducing, polyphenols content and antioxidant capacity of corn (*Zea mays* L.) from phenotypes of white, blue, red and purple colors processed into masa and tortillas. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66, 41-47. doi: 10.1007/s11130-011-0210-z
- Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Assadpoor, E., & Ghorbani, M. (2016). Storage stability of encapsulated barberry's anthocyanin and its application in jelly formulation. *Journal of Food Engineering*, 181, 59-66. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2016.03.003
- Martins, N., Lobo-Roriz, C., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agroindustries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science & Technology*, 52, 1-15. doi: 10.1016/j.tifs.2016.03.009
- Mendoza-Díaz, S., Ortiz-Valerio, M. C., Castaño-Tostado, E., Figueroa-Cárdenas, J. D., Reynoso-Camacho, R., Ramos-Gómez, M., Campos-Vega, R., & Loarca-Piña, G. (2012). Antioxidant capacity and antimutagenic activity of anthocyanin and carotenoid extracts from nixtamalized pigmented creole maize races (*Zea mays* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(4), 442-449. doi: 10.1007/s11130-012-0326-9

- Osorio-Díaz, P., Agama-Acevedo, E., Bello-Pérez, L. A., Islas-Hernández, J. J., Gómez-Montiel, N. O., & Paredes-López, O. (2011). Effect of endosperm type on texture and in vitro starch digestibility of maize tortillas. *LWT - Food Science and Technology*, 44(3), 611-615. doi: 10.1016/j.lwt.2010.09.011
- Özkan, G., & Bilek, S. E. (2014). Microencapsulation of natural food colourants. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(3), 145-156. doi: 10.11648/j.ijnfs.20140303.13
- Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C., & Tiwari, B. K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*, 21(1), 3-11. doi: 10.1016/j.tifs.2009.07.004
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. doi: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chávez, J., & Saenz, C. (2010). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (*Punica granatum*) by spray drying. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(7), 1386-1394. doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02270.x
- Santiago-Ramos, D., Figueroa-Cárdenas, J. D., Vélez-Medina, J. J., & Mariscal-Moreno, R. M. (2017). Changes in the thermal and structural properties of maize starch during nixtamalization and tortilla-making processes as affected by grain hardness. *Journal of Cereal Science*, 74, 72-78. doi: 10.1016/j.jcs.2017.01.018
- Salinas-Moreno, Y., & Aguilar-Modesto, L. (2010). Efecto de la dureza del grano de maíz (*Zea mays L.*) sobre el rendimiento y calidad de la tortilla. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 2(1), 5-11. doi: 10.5154/r.inagbi.2010.08.009
- Salinas-Moreno, Y., Pérez-Alonso, J. J., Vázquez-Carrillo, G., Aragón-Cuevas, F., & Velázquez-Cardelás, G. A. (2012). Antocianinas y actividad antioxidante en maíces (*Zea mays L.*) de las razas Chalqueño, elotes cónicos y bolita. *Agrociencia*, 46(7), 693-706. Retrieved from [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-31952012000700005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-31952012000700005&script=sci_arttext)
- Salinas-Moreno, Y., & Vázquez, C. G. (2006). *Metodologías de análisis de la calidad nixtamalera-tortillera en maíz* (Folleto técnico núm. 24). Mexico: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias.
- Salinas-Moreno, Y., Salas-Sánchez, G., Rubio-Hernández, D., & Ramos-Lobato, N. (2005). Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *Journal of Chromatographic Science*, 43(9), 483-487. doi: 10.1093/chromsci/43.9.483
- Šaponjac, V. T., Ćetković, G., Čanadanović-Brunet, J., Pajin, B., Djilas, S., Petrović, J., Lončarević, I., Stajić, S., & Vulić, J. (2016). Sour cherry pomace extract encapsulated in whey and soy proteins: Incorporation in cookies. *Food Chemistry*, 207, 27-33. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.03.082
- SAS Institute. (2002). *SAS/STAT User's guide version 9*. Cary, New York: Author.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. Retrieved from <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>
- Suhendro, E. L., Almeida-Domínguez, H. D., Rooney, L. W., Waniska, R. D., & Moreira, R. G. (1999). Use of extensibility to measure corn tortilla texture. *Cereal Chemistry*, 76(4), 536-540. doi: 10.1094/CCHEM.1999.76.4.536
- Turturică, M., Oancea, A. M., Râpeanu, G., & Bahrim, G. (2015). Anthocyanins: naturally occurring fruit pigments with functional properties. *The Annals of the University Dunărea de Jos of Galați Fascicle VI – Food Technology*, 39(1), 9-24. Retrieved from <https://www.gup.ugal.ro/ugaljournals/index.php/food/article/view/1557>
- Vázquez-Carrillo, G., García-Lara, S., Salinas-Moreno, Y., Bergvinson, D. J., & Palacios-Rojas, N. (2011). Grain and tortilla quality in landraces and improved maize grown in the highlands of Mexico. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(2), 203-208. doi: 10.1007/s11130-011-0231-7
- Vernon-Carter, E. J., Álvarez-Ramírez, J., Bello-Pérez, L. A., González, M., Reyes, I., & Álvarez-Poblano, L. (2020). Supplementing white maize masa with anthocyanins: Effects on masa rheology and on the in vitro digestibility and hardness of tortillas. *Journal of Cereal Science*, 91, 102883. doi: 10.1016/j.jcs.2019.102883
- Žilić, S., Serpen, A., Akıllioğlu, G., Gökmən, V., & Vančetović, J. (2012). Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays L.*) kernels. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 60(5), 1224-1231. doi: 10.1021/jf2043