



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**CUANTIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE COMPUESTOS
BIOACTIVOS PRESENTES EN EL MAÍZ MORADO
NATIVO DE TEHUACÁN EN TRES ESTADOS DE
CRECIMIENTO**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

DANIELA THALÍA DÁVILA PÉREZ



Ciudad Universitaria, Cd, Mx., 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **ARTURO NAVARRO OCAÑA**

VOCAL: **HILDA ELIZABETH CALDERON VILLAGOMEZ**

SECRETARIO: **JORGE ARTURO ABURTO ANELL**

1er. SUPLENTE: **ILIANA ELVIRA GONZALEZ HERNANDEZ**

2do. SUPLENTE: **ARGELIA SANCHEZ CHINCHILLAS**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

FACULTAD DE QUÍMICA, CONJUNTO E. DEPARTAMENTO
DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA. LAB 321

ASESOR DEL TEMA:

Dr. **ARTURO NAVARRO OCAÑA**

SUPERVISOR TÉCNICO:

M en C. **MARÍA FERNANDA FERNÁNDEZ AULIS**

SUSTENTANTE:

DANIELA THALÍA DÁVILA PÉREZ

INDICE

1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	3
3. Marco teórico.....	5
3.1. Maíz morado: Origen y Descripción.....	5
3.1.1. Morfología de la planta.....	7
3.1.1.1. Etapas de crecimiento.....	9
3.1.1.2. Estructura del grano.....	11
3.1.1.3. Composición química.....	12
3.2. Compuestos bioactivos en el maíz morado.....	14
3.2.1. Polifenoles.....	15
3.2.1.1. Estructura.....	15
3.2.1.2. Biosíntesis de los polifenoles.....	15
3.2.1.3. Polifenoles en alimentos.....	16
3.2.1.4. Actividad biológica.....	18
3.2.1.5. Usos en alimentos.....	19
3.2.2. Flavonoides.....	19
3.2.2.1. Estructura.....	19
3.2.2.2. Flavonoides en alimentos.....	20
3.2.2.3. Actividad biológica.....	23
3.2.2.4. Usos en alimentos.....	23
3.2.3. Antocianinas (Colorantes naturales).....	23
3.2.3.1. Estructura.....	23
3.2.3.2. Antocianinas en alimentos.....	25
3.2.3.3. Actividad biológica.....	28
3.2.3.4. Usos en alimentos.....	28
3.2.4. Ácidos hidroxicinámicos.....	29
3.2.4.1. Estructura.....	29
3.2.4.2. Ácidos hidroxicinámicos en alimentos.....	30
3.2.4.3. Actividad biológica.....	33
3.2.4.4. Usos en alimentos y farmacia.....	33
3.2.5. Xilanos.....	34
3.2.5.1. Estructura.....	34
3.2.5.2. Xilanos en alimentos.....	34
3.2.5.3. Actividad biológica.....	36
3.2.5.4. Usos en alimentos.....	37
3.2.6. Propiedades biológicas de los compuestos bioactivos del maíz morado.....	37
3.3. Usos del maíz.....	40

3.3.1. Subproductos.....	42
3.3.2. Usos industriales del maíz.....	43
3.4. Rendimientos y Producción de maíz en Tehuacán.....	44
4. Hipótesis.....	46
5. Objetivos.....	46
5.1. Objetivo General.....	46
5.2. Objetivo Particular.....	46
6. Materiales y Equipos.....	47
7. Metodología.....	49
7.1. Preparación de muestras.....	49
7.2. Identificación de antocianinas por CCF.....	49
7.3. Medición de antocianinas por HPLC.....	50
7.4. Antocianinas totales.....	50
7.5. Identificación de ácidos hidroxicinámicos por CCF.....	51
7.6. Fenoles totales.....	52
7.7. Flavonoides totales.....	53
7.8. Ácidos hidroxicinámicos y Xilanos totales.....	53
7.9. Análisis estadístico.....	54
8. Resultados y Discusión.....	55
8.1. Preparación de muestras.....	55
8.2. Identificación de antocianinas por CCF.....	56
8.3. Medición de antocianinas mediante HPLC.....	61
8.4. Antocianinas totales.....	78
8.5. Identificación de Ácidos hidroxicinámicos por CCF.....	84
8.6. Fenoles totales.....	88
8.7. Flavonoides totales.....	92
8.8. Xilanos totales.....	96
9. Conclusiones.....	100
10. Anexos.....	102
11. Referencias.....	110

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del maíz.....	6
Tabla 2. Composición físico-química del grano y el olote del maíz morado (Variedad Morado- Perú).....	12
Tabla 3. Composición química del grano de maíz blanco.....	13
Tabla 4. Composición físico-químico proximal de grano y olote de maíz morado (100 gr de parte comestible).....	13
Tabla 5. Ingesta de polifenoles cuando se consumen 5 raciones de frutas y hortalizas.....	18
Tabla 6. Comparación de los monómeros totales flavan-3-ol en las frutas y nueces (Miligramos por cada 100 g de peso fresco).....	22
Tabla 7. Contenido de antocianinas en el grano de 17 razas mexicanas de maíz.....	27
Tabla 8. Contenido de fenoles totales.....	32
Tabla 9. Contenido de compuestos fenólicos totales en variedades de maíz.....	33
Tabla 10. Principales nutraceuticos asociados a maíces morados.....	39
Tabla 11. Antocianinas identificadas en maíz morado en la etapa de Jilote en HPLC.....	62
Tabla 12. Concentración de C3G y C36G.....	64
Tabla 13. Cromatogramas del perfil de antocianinas en Jilote.....	65
Tabla 14. Antocianinas identificadas en maíz morado en la etapa de Elote en HPLC.....	67
Tabla 15. Concentraciones de C3G y C36G en Elote.....	69
Tabla 16. Cromatogramas del perfil de antocianinas en Elote.....	71
Tabla 17. Antocianinas identificadas en maíz morado en la etapa de Mazorca, mediante HPLC.....	73
Tabla 18. Concentraciones de C3G y C36G en Mazorca.....	74
Tabla 19. Cromatogramas del perfil de antocianinas en Mazorca.....	77

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Maíces pigmentados nativos.....	4
Figura 2. Maíz Morado de Tehuacán.....	5
Figura 3. Mazorca completa y con corte longitudinal.....	9
Figura 4. Estructura del grano de maíz.....	11
Figura 5. Esquema con las estructuras de los principales compuestos bioactivos encontrados en maíces morados.....	14
Figura 6. Esquema de la Ruta biosintética de los polifenoles en plantas.....	16
Figura 7. Núcleo estructural de los principales grupos de flavonoides.....	20
Figura 8. Estructura y sustituyentes de antocianinas.....	24

Figura 9. Estructuras más abundantes en el maíz morado.....	26
Figura 10. Estructuras de algunos ácidos hidroxicinámicos y ácidos hidroxibenzoicos.....	30
Figura 11. Estructura química general de los arabinoxilanos.....	34
Figura 12. Unión del ácido ferúlico al residuo de L-arabinofuranosil.....	36
Figura 13. Productos maíz morado.....	42
Figura 14. Otros usos del maíz.....	43
Figura 15. Mapa del Estado de Puebla.....	44
Figura 16. Muestras de la planta de maíz morado analizadas.....	49
Figura 17. Extractos de las diferentes muestras.....	56
Figura 18. CCF para identificación de antocianinas para la etapa de crecimiento de Jilote.....	57
Figura 19. CCF para identificación de antocianinas para la etapa de crecimiento de Elote.....	58
Figura 20. CCF para la identificación de antocianinas para la etapa de crecimiento de Mazorca.....	60
Figura 21. CCF para la identificación de ácidos hidroxicinámicos para la etapa de crecimiento de Jilote.....	85
Figura 22. CCF para la identificación de ácidos hidroxicinámicos para la etapa de crecimiento de Elote.....	86
Figura 23. CCF para la identificación de ácidos hidroxicinámicos para la etapa de crecimiento de Mazorca.....	87

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1. Promedio de antocianinas totales en la planta del maíz morado.....	79
Gráfico 2. Antocianinas totales presentes en la planta del maíz morado nativo en tres estados de crecimiento.....	80
Gráfico 3. Promedio de fenoles totales en la planta del maíz morado.....	88
Gráfico 4. Fenoles totales, de maíz morado nativo en tres etapas de crecimiento.....	89
Gráfico 5. Promedio de flavonoides totales en la planta de maíz morado.....	92
Gráfico 6. Flavonoides totales, de maíz morado nativo en tres etapas de crecimiento.....	93
Gráfico 7. Promedio de xilanos totales en la planta del maíz morado.....	96
Gráfico 8. Xilanos totales, en maíz morado nativo en tres etapas de crecimiento....	97

1. RESUMEN

En la actualidad el maíz morado está siendo objeto de estudio por su contenido de compuestos bioactivos entre estos se encuentran las antocianinas que son un colorante natural que se distribuye en toda la planta pero sobre todo se concentra más en grano, inflorescencias, brácteas y olote; además de otros compuestos bioactivos como: fenoles, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos (ácido ferúlico y ácido cumárico), fibra dietética (xilanos), fitoesteroles, tocoferoles/tocotrienoles, tiamina, niacina, ácido salicílico, sales de potasio, azufre, sodio y fósforo. Por lo que puede tener aplicaciones en la industria de alimentos, farmacéutica, colorantes, textil, entre otras. Además en otras investigaciones han asociado su consumo a la prevención de enfermedades coronarias, cáncer, diabetes y la obesidad.

Considerando que en otras investigaciones se ha encontrado que el grano, olote y totomoxtle son una fuente de compuestos bioactivos, en este trabajo de investigación se estudiaron todas las partes de la planta del maíz morado (tallos, hoja de tallo, hoja de milpa, grano, olote, totomoxtle, pelo (estigma) e inflorescencia masculina) en tres etapas de crecimiento (Jilote, Elote y Mazorca) con el fin de conocer la etapa en la que se desarrolla la mayor concentración de compuestos bioactivos y escogiendo estas etapas porque son en las que se suele consumir el fruto, nos enfocamos en la obtención de antocianinas, fenoles, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y xilanos.

Las antocianinas se identificaron por CCF que es un método rápido para la identificación del perfil de antocianinas y estos resultados se confirmaron con ayuda del método de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) donde se identificaron antocianinas como cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido, cianidina-3-6-malonil-glucósido, pelargonidina-3-6-malonil-glucósido, peonidina-3-6-malonil-glucósido, cianidina-3(-3',6-dimalonil-glucósido), cianidina-3-6-succinil-glucósido, cianidina-3(-3',6-malonil-succinil-glucósido) y peonidina-3-6-succinil-glucósido. Conociendo el perfil de antocianinas en las muestras, se determinó el contenido de antocianinas encontrando que en la etapa de crecimiento de Elote presentó la mayor concentración con 6.229 mg de cianidina-3-glucósido/g de muestra en base seca y en esta etapa se presentó la muestra con más contenido de antocianinas, tratándose de pelo (estigma) con 17.014 mg de cianidina-3-glucósido/g en base seca.

El perfil de ácidos hidroxicinámicos se determinó por el método de CCF, donde se identificó ácido ferúlico en todas las muestras y en las tres etapas de crecimiento, conociendo este perfil se evaluó el contenido de fenoles totales siendo la etapa de crecimiento de Elote la que presentó la mayor concentración con 54.44 mg de ácido gálico/g de muestra en base seca y en esta etapa pelo (estigma) presenta el mayor contenido de fenoles con 166.37 mg de ácido gálico/g de muestra en base seca. Posteriormente se evaluó el contenido de flavonoides totales, donde Jilote fue la etapa de crecimiento con más contenido de flavonoides presentando 24.28 mg de catequina/g de muestra seca, donde la muestra con más cantidad de flavonoides fue pelo (estigma) con 89.5 mg de catequina/g de muestra seca. Finalmente se analizó el contenido de xilanos totales, empleando un método gravimétrico y se obtuvo que la etapa de Elote desarrollo la mayor concentración con 0.075 g/g de muestra seca, destacando totomoxtle con 0.202 g/g de muestra en base seca.

Durante la investigación se observó que conforme la planta de maíz morado se va desarrollando, estos compuestos se van sintetizando; siendo la etapa de crecimiento de Elote donde más sintetizan con excepción de los flavonoides que se sintetizan en la etapa de Jilote y lo que fue evidente es que en la etapa de Mazorca ya no se sintetizan y esto fue visible, debido a que la concentración de estos compuestos disminuyó.

El objetivo de esta investigación se cumple ya que se encontraron nuevas fuentes de compuestos bioactivos como inflorescencia masculina, tallo, hoja de tallo, hoja de milpa y pelo (estigma) siendo esta última la que presenta las concentraciones más altas. Y las concentraciones que presentan son equivalentes o mayores a los reportados en otras variedades de maíces pigmentados.

2. INTRODUCCIÓN

México es considerado como centro de origen y diversidad del maíz, presentando 59 razas de acuerdo con la clasificación reciente basada en características morfológicas e isoenzimáticas; donde las variedades pigmentadas del maíz están presentes en 41 razas, que se caracterizan ya sea por su color en el grano (blanco, amarillo, rojo, rosa, azul, morado, púrpura, variegado y pinto), o bien por la presencia de antocianinas en tallo, hojas y mazorca; que representan un porcentaje significativo de las 220 a 300 razas de maíz existentes en el continente Americano. Desde el punto de vista alimentario, político, económico y social; el maíz es el cultivo más importante del país. Este cereal cubre poco más de la superficie agrícola sembrada, con aproximadamente 7.5 millones de hectáreas, principalmente en las zonas sub-húmeda tropical, templada húmeda y sub-húmeda (Reyes, 1990; Fernández *et al.*, 2013).

Los maíces morados nativos de tipo cónico, son ricos en antocianinas, que son un grupo de flavonoides y se encuentran presentes en toda la planta y este colorante natural puede ser considerado como un nutraceutico, debido al efecto preventivo de estos pigmentos contra el estrés oxidativo, es decir; tienen la capacidad antioxidante que contrarresta los radicales libres responsables de causar la oxidación de membranas y daño al ADN, lo que evita enfermedades crónico-degenerativas, el cáncer, fibrosis, problemas cardiovasculares, envejecimiento y diabetes (Serna- Saldívar *et al.*, 2013). Además de estos pigmentos, se sabe que el maíz morado nativo cuenta con una gran variedad de compuestos bioactivos como son otros grupos fenólicos (fenoles, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos (ácido ferúlico y cumárico)), fibra dietética (xilanos), fitoesteroles, policosanoles, esteroides, tocoferoles/tocotrienoles, tiamina, niacina, complejo B, ácido ascórbico, ácido fólico, sales de potasio, azufre, sodio y fósforo. Estos compuestos se clasifican de acuerdo con sus propiedades químicas y su actividad biológica. (Serna- Saldívar *et al.*, 2013; Guillén- Sánchez *et al.*, 2014).

El consumo de maíces morados nativos, ya sea entero o procesado traerá beneficios a la salud de quienes lo consuman, ya que se sabe que en México hay un incremento en los problemas de salud como el sobrepeso, la obesidad, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes y el cáncer; debido principalmente a los malos hábitos de alimentación y a otros factores como el estilo de vida en constante estrés y a la falta de ejercicio. El elevado consumo de alimentos con bajo valor nutricional, como es la llamada “comida chatarra” (comida rápida, botanas con alto contenido de grasa, etc.) ha llevado a los consumidores preocupados por su salud a la búsqueda de alternativas de alimentos que aporten beneficios a la misma, como son los alimentos funcionales a partir de fuentes naturales y los maíces morados nativos podrían ser una opción (Jiménez C. 2014).

Por lo tanto el maíz morado nativo como se muestra en la figura 1, es considerado un alimento funcional, por los compuestos bioactivos que contiene los cuales tienen una función antioxidante que aportan beneficios a la salud del consumidor. Y se puede utilizar para la elaboración de antojitos, tortillas, pinole, atole, etc. Además el colorante puede ser empleado por diversas industrias como son: farmacéutica, cosméticos, pinturas, textil y alimentos, evitando el uso de colorantes sintéticos que ya es sabido que pueden llegar a ser tóxicos y traer con ello repercusiones a la salud.



Figura 1. Maíces pigmentados nativos

3. MARCO TEORICO

3.1. Maíz morado: Origen y Descripción

El cultivo del maíz tuvo su origen, con toda probabilidad, en América Central, especialmente en México, de donde se difundió hacia el norte hasta Canadá y hacia el sur hasta Argentina. La evidencia más antigua de la existencia del maíz, es de unos 7 000 años de antigüedad, ha sido encontrado por arqueólogos en el valle de Tehuacán (México) pero es posible que hubiese otros centros secundarios de origen en América (FAO, 1993).

Zea mays L. variedad morado de tipo cónico (figura 2), es una variedad oriunda de América, tuvo su origen en países como México, Bolivia y Perú y ha sido introducido en otros países por los pigmentos que posee. Pertenece a la familia de las gramíneas. Se caracteriza por sus granos semi-harinosos y su pigmentación debida a la presencia de antocianinas, en la aleurona (tejido interno del grano) o en el pericarpio. Se distinguen por presentar antocianinas del tipo cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido (Beltrán *et al.*, 2001; Arroyo *et al.*, 2007; CONABIO, 2010; Quispe *et al.*, 2011).



Figura 2. Maíz Morado de Tehuacán

El maíz es un cereal y tiene múltiples clasificaciones, por ejemplo, es una planta monoica, con flores unisexuales y alógama y su taxonomía se menciona en la tabla1 (Reyes, 1990).

Tabla 1. Clasificación taxonómica del maíz (Reyes, 1990)

Categoría	Ejemplo	Carácter distintivo
Reino	Vegetal	Planta anual
División o phylum	Tracheophyta	Sistema vascular
Sub-división	Pterapsidae	Producción de flores
Clase	Angiosperma	Semilla cubierta
Sub-clase	Monocotiledóneae	Cotiledón único (Escutelum)
Orden	Graminales	Tallos con nudos prominentes
Familia	Graminae o Poaceae	Grano-cereal
Tribu	Maydeae	Flores unisexuales
Género	<i>Zea</i>	Único
Especie	<i>Mays</i>	Maíz común
Raza	Más de 300 razas clasificadas; 59 razas nativas en México	Adaptadas a regiones bien definidas. Ejemplo: Cónico, Cónico norteño
Variedades	Polinización libre	Clima frío; clima caliente

Se cultiva principalmente en la Mesa Central: Estado de México, Michoacán, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo y partes altas y frías de Veracruz y en la Mixteca de Oaxaca (CONABIO, 2010).

Por sus caracteres de color y textura de grano es muy apreciado para elotes ya que son más dulces y blandos que otros maíces de la raza Cónico con los cuales coincide en su distribución, así como para numerosos antojitos, pinoles y atoles de color. Tiene alto potencial por su alta producción de pigmentos. Además se ha

evidenciado que estos maíces tienen propiedades nutraceuticas por la presencia de compuestos fenólicos (antocianinas, fenoles, ácidos fenólicos y flavonoides) es decir además de aportar nutrientes y fibra (xilanos), ayudan a prevenir enfermedades, lo que también lo hacen un alimento funcional (Beltrán *et al.*, 2001; CONABIO, 2010; Quispe *et al.*, 2011).

3.1.1. Morfología de la planta

El maíz es una planta de porte robusto y hábito anual, que se reproduce por polinización cruzada de la flor femenina (elote) y la masculina (espiguilla). La planta alcanza de dos a seis metros de alto dependiendo de la variedad (Jugenheimer, 1988; Castañeda- Sánchez *et al.*, 2011; Fernández. 2014). Se encuentra formado por diferentes órganos y estos se pueden observar en la figura 3.

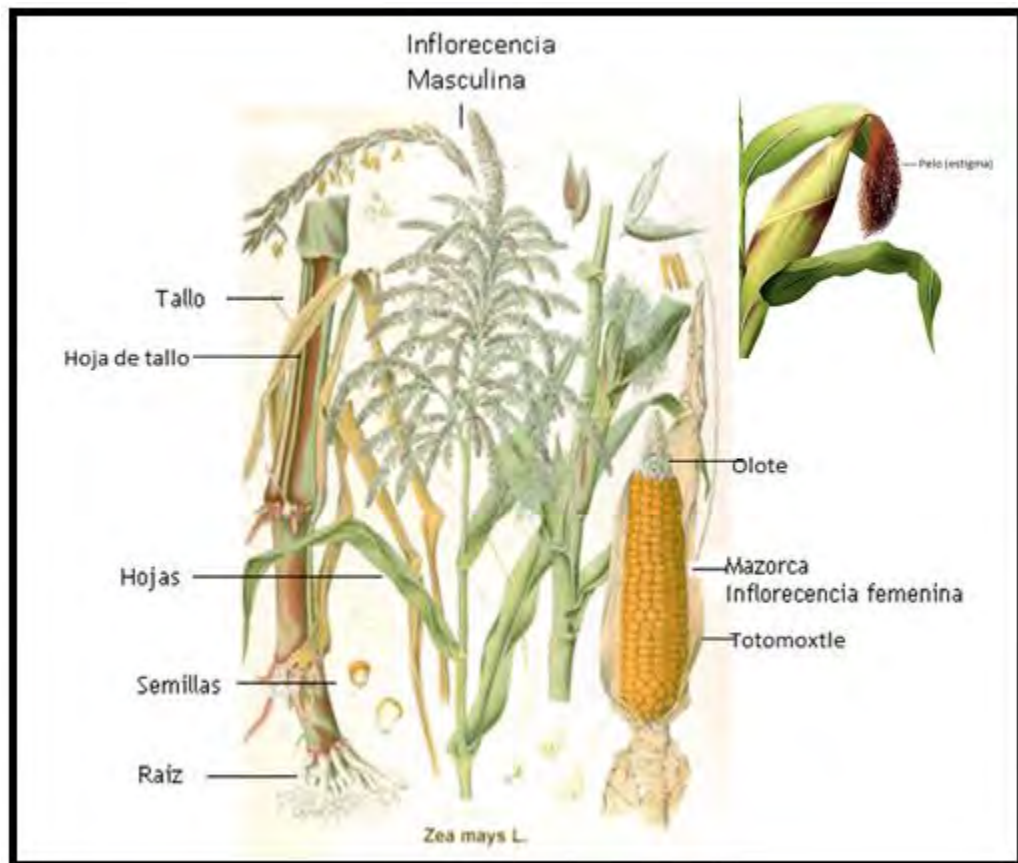


Figura 3. Morfología de la Planta del maíz. Imagen modificada. Fuente: Almeida, 2012.

Raíz: El maíz tiene un sistema radicular bien definido en 3 estadios. Al germinar, emergen las raíces temporales o embrionales que nacen en el primer nudo; las raíces permanentes que nacen en el segundo nudo de la plántula o nudo superior del mesocotilo y las raíces adventicias que emergen de los nudos basales de la planta en crecimiento activo. Todas tienen la función de mantener la planta erecta (Jugenheimer, 1988; Reyes, 1990).

Tallo: Es simple, erecto, de elevada longitud alcanzando alturas de 2 a 6 metros, con pocas ramificaciones, su aspecto recuerda al de una caña por la presencia de nudos y entrenudos y su médula esponjosa (Jugenheimer, 1988).

Hojas: Las hojas nacen en los nudos de manera alterna a lo largo del tallo; se encuentran abrazadas al tallo mediante la vaina que envuelve el entrenudo y cubre la yema floral, de tamaño y ancho variable (Jugenheimer, 1988).

Inflorescencia: La planta del maíz es monoica de flores unisexuales, que presenta flores masculinas (espiga) y femeninas (mazorca o estigma) bien diferenciadas en la planta. Es una planta de polinización abierta (anemófila) propensa al cruzamiento, la gran mayoría de los granos de polen viajan de 100 m a 1000 m.

Inflorescencia masculina: La inflorescencia masculina es terminal, se conoce como panícula (o espiga) consta de un eje central o raquis y ramas laterales; a lo largo del eje central se distribuyen los pares de espiguillas de forma polística y en las ramas con arreglo dístico y cada espiguilla está protegida por dos brácteas o glumas, que a su vez contienen en forma apareada las flores estaminadas, en cada florecilla componente de la panícula hay 3 estambres donde se desarrollan los granos de polen. La coloración de la panícula está en función de la tonalidad de las glumas y anteras, que pueden ser de coloración verde, amarilla, rojiza o morada (Reyes, 1990; Jugenheimer, 1988).

Inflorescencia femenina: Las inflorescencias femeninas (mazorcas) se localizan en las yemas axilares de las hojas, son espigas de forma cilíndrica que consisten de un raquis central u **olote** donde se insertan las espiguillas por pares, cada

espiguilla con dos flores pistiladas una fértil y otra abortiva, estas flores se arreglan en hileras paralelas, las flores pistiladas tienen un ovario único con un pedicelo unido al raquis, un estilo muy largo con propiedades estigmáticas donde germina el polen. La inflorescencia femenina (mazorca o estigma) puede formar alrededor de 400 a 1000 granos arreglados en promedio de 8 a 24 hileras por mazorca; todo esto encerrado en numerosas brácteas o vainas de las hojas (**totomoxtle**), los estilos largos saliendo de la punta del raquis como una masa de hilo sedoso se conocen como **pelo** de elote. (Reyes, 1990; Jugenheimer, 1988).

Mazorca, elote o jilote: Cada grano o semilla es un fruto independiente llamado cariósipide que está insertado en el raquis cilíndrico u olote; la cantidad de grano producido por mazorca está limitada por el número de granos por hilera. Como cualquier otro cereal, las estructuras que constituyen el grano del maíz (pericarpio, endospermo y embrión) le confieren propiedades físicas y químicas (color, textura, tamaño, etc.) que han sido importantes en la selección del grano como alimento. El totomoxtle debe cubrir bien la mazorca para cubrirla de la humedad y del ataque de plagas y enfermedades; el pedúnculo debe ser largo y flexible, que permita que la mazorca sea colgante para protegerla de daños. (Reyes, 1990).

3.1.1.1. **Etapas de crecimiento**

El ciclo biológico del maíz, como el de todos los cereales, se distinguen varios estadios:

1. Semilla;
2. Germinación;
3. Emergencia;
4. Plántula;
5. Amacollamiento (ocasionalmente);
6. Crecimiento activo;
7. Encañe;
8. Prefloración;
9. Floración masculina (espigamiento);
10. Floración femenina (jiloteo);
11. Polinización;
12. Fecundación;
13. Grano lechoso (elote);
14. Grano masoso (elocinte);
15. Madurez fisiológica (barroceo o camagua);
16. Madurez de cosecha (16-25% de humedad);
17. Grano comercial o semilla (12-14% de humedad);
18. Rastrojo (planta seca con 12-14% de humedad, sin mazorca) (Reyes, 1990).

El proceso de crecimiento del maíz cuenta con varias etapas que van desde la etapa de sembrado hasta la maduración del grano. Este proceso de crecimiento

comienza con la nascencia, fase que extiende desde la siembra hasta la aparición del coleóptilo (estructura que nace de la semilla y emerge hacia arriba, llegando a la superficie, recibiendo estímulos lumínicos y continuando su crecimiento). La etapa de nascencia dura entre 6 y 8 días. Después llega el período de crecimiento donde tiene lugar el crecimiento de hojas con una frecuencia esperada de una cada tres días. Al cabo de cuatro o cinco semanas, lo ideal es que la planta tenga formadas todas sus hojas. Luego viene la etapa de floración, la cual comienza con la formación de la panoja en el interior del tallo 25 a 30 días después de la siembra. Después de 4 o 6 semanas ocurridas esta situación, comienza la emisión del polen que dura de cinco a ocho días. Posterior a esto, comienza la fecundación de los óvulos por efecto del polen dando lugar a una de las últimas etapas, la fructificación. En este período la mazorca adopta un color castaño, y además alcanza el tamaño normal transcurridas 3 semanas. También se forman los granos y aparece en ellos el embrión. Con la aparición de los grano, se produce su llenado con una sustancia lechosa y rica en almidón. Finalizado el proceso de crecimiento y maduración del maíz, se produce el secado, la cual se produce la octava semana después de la polinización. Transcurrido este tiempo, el grano alcanza el índice de 35% de humedad, considerándose maduro fisiológicamente (elote). Después es la sucesiva pérdida de humedad la que le da el carácter comercial, para la elaboración de tortillas, influyendo en este fenómeno diferentes factores como la temperatura y la humedad ambiental (Fernández, 2014).

3.1.1.2. Estructura del grano

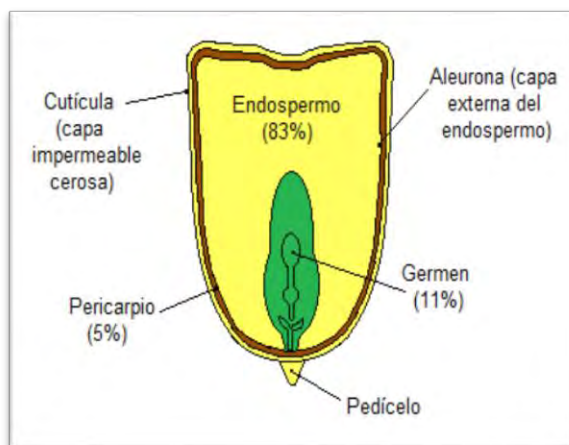


Figura 4. Estructura del grano de maíz

Desde el punto de vista estructural (figura 4), el grano maduro o cariósido del maíz está formado de cuatro partes principales: 1) el pericarpio, que es una capa de células fibrosas que comprende el 5% del peso del grano y que está cubierta por la cutícula. La cutícula, a su vez, es una capa impermeable cerosa que recubre el grano; 2) el endospermo, que comprende aproximadamente el 83% del peso del grano, presenta un alto contenido de almidón y es el segundo tejido de reserva; la capa exterior del endospermo o capa aleurona contiene células con gránulos ricos en proteína y minerales así como pigmentos que hacen que el grano sea morado o púrpura. El endospermo puede presentar una consistencia suave o harinosa; los gránulos de almidón de sus células, que tienen una forma elipsoidal y angular (poligonales, hexagonales), están recubiertos por una matriz proteínica con pequeños cuerpos de la misma naturaleza incrustados en la superficie. El endospermo en la parte inferior del grano, a los lados del germen, también presenta dos zonas ricas en proteínas que contienen además pequeños gránulos de almidón. 3) El germen, que representa el 11% del peso del grano maduro, es considerado el primer tejido de reserva ya que almacena gran cantidad contenido de nutrientes que son utilizados durante la germinación, además de contener la mayoría de los lípidos. Es precisamente en el germen en donde se

origina el tallo o plúmula y las raíces o radícula; 4) el pedicelo o capa terminal es la continuación del pericarpio y permite la unión del grano con el olote, pero ocasionalmente se pierde durante el desgrane (Paredes *et al.*, 2006).

3.1.1.3. Composición química

La composición química del grano del maíz se ve afectada por el genotipo (variedad), por el medio ambiente y las condiciones de siembra (Paredes *et al.*, 2006).

La composición química del grano de maíz morado se destaca el contenido carbohidratos y proteínas. El olote tiene una importante fracción de fibra, carbohidratos y minerales. En relación a los minerales del grano, su contenido de fósforo y calcio es importante (Risco *et al.*, 2007) A continuación se presenta en la tabla 2, la composición del grano y olote de maíz morado:

Tabla 2. Composición físico-química del grano y el olote del maíz morado (Variedad Morado-Perú). Fuente: Risco *et al.*, 2007.

Componente	Porcentaje	
	Grano	Olote
Humedad	11.4	11.20
Proteínas	6.7	3.74
Lípidos	1.5	0.32
Fibra	1.8	24.01
Cenizas	1.7	3.31
Carbohidratos	76.9	57.42
Total	100.00	100.00

A continuación se presentará en la tabla 3 la composición química del grano de maíz blanco para poder ver como varia el contenido nutrimental del maíz morado con el del maíz blanco.

Tabla 3. Composición química del grano de maíz blanco. Fuente: (Paredes *et al.*, 2006)

	Grano completo	Endospermo	Germen	Pericarpio	Pedicelo
Composición química (porcentaje)					
Proteína	10.3	9.4	18.8	3.7	9.1
Lípidos	4.8	0.8	34.5	1.0	3.8
Carbohidratos	2.0	0.6	10.8	0.3	1.6
Cenizas	1.4	0.3	10.1	0.8	1.6
Almidón	71.5	86.4	8.2	7.3	5.3

En la tabla 4 se presenta el contenido nutrimental del maíz morado en 100 gr de parte comestible.

Tabla 4. Composición fisico-químico proximal de grano y olote de maíz morado (100 gr de parte comestible). Fuente: Risco *et al.*, 2007.

Componentes mayores (g)	Maíz morado
Menores (mg)	
Calorías	357.00 g
Agua	11.40 g
Proteínas	6.70 g
Carbohidratos	76.90 g
Fibra	1.80 g
Ceniza	1.70 g
Calcio	12.00 mg
Fósforo	328.00 mg
Hierro	0.02 mg
Cianidina	0.06 mg
Tiamina	0.38 mg
Riboflavina	0.02 mg
Niacina	2.80 mg
Ácido Ascórbico reducido	0.0 g

3.2. Compuestos bioactivos en el maíz morado

El maíz morado tiene una composición rica en compuestos bioactivos, que pueden llegar a tener efectos benéficos en nuestro cuerpo, tales como neutralizar los radicales libres y actuar como antimutagénico. Los componentes químicos en el maíz morado son: ácido salicílico, lípidos (esteroles, tocoferoles, tocotrienoles), resinas, saponinas, sales de potasio y sodio, azufre y fósforo, compuestos fenólicos (flavonoides, antocianinas, ácidos hidroxicinámicos) y fibra dietética (xilanos) y en la figura 5, se presentan las estructuras de estos compuestos (Guillén-Sánchez *et al.*, 2014).

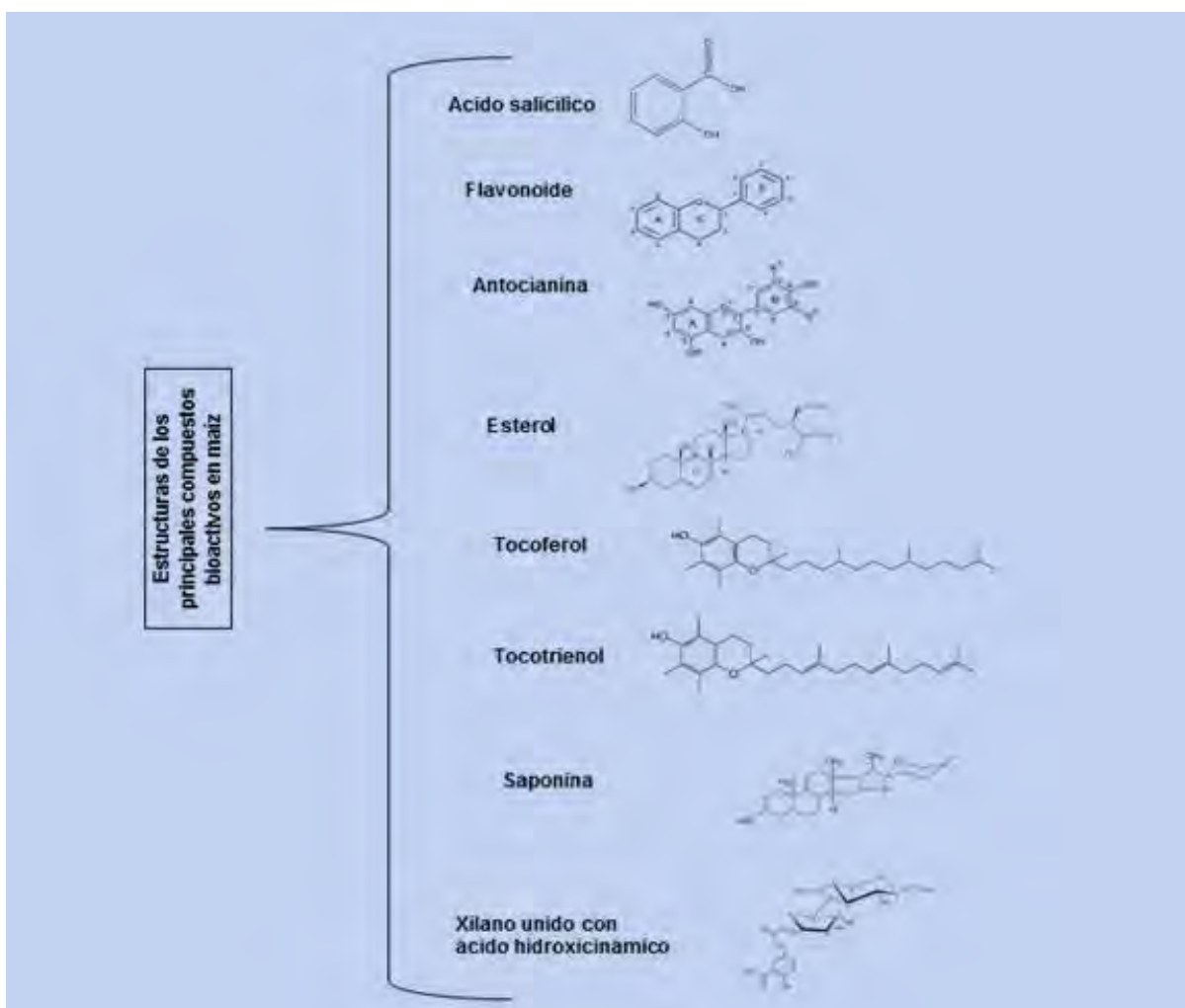


Figura 5. Esquema con las estructuras de los principales compuestos bioactivos encontrados en maíces morados

3.2.1. **Polifenoles**

3.2.1.1. **Estructura**

En la naturaleza existe una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Estos compuestos podemos denominarlos polifenoles.

Los polifenoles se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos (Quiñones *et al.*, 2012).

Los polifenoles constituyen un grupo muy numeroso de sustancias que incluyen familias de compuestos con estructuras diversas, desde algunas relativamente simples, como los derivados de ácidos fenólicos, hasta las moléculas poliméricas de relativamente elevada masa molecular, como los taninos hidrolizables y condensados. Los polifenoles pueden ser divididos en varios subgrupos atendiendo su estructura básica. Los flavonoides, con estructura básica C6-C-3-C6, incluyen a las antocianinas, los flavonoles y las flavonas. Chalconas y dihidrochalconas, las isoflavonas y los flavan-3-oles. Otro subgrupo importante es el de los fenil propanoides que incluye a los derivados de ácidos hidroxicinámicos (cafeico, ferúlico, sinápico, p-cumárico). También tienen importancia los estilbenoides (resveratrol) y los derivados del benzoico (ácido gálico y elágico, etc.) (Tómas-Barberán, 2003).

3.2.1.2. **Biosíntesis de los polifenoles**

La biosíntesis de los polifenoles como producto del metabolismo secundario de las plantas tiene lugar a través de dos importantes rutas primarias: la ruta del ácido siquímico y la ruta de los poliacetatos. La ruta del ácido siquímico proporciona la síntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina o tirosina), y la síntesis de los ácidos cinámicos y sus derivados (fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos y derivados del fenilpropano). La ruta de los poliacetatos proporciona las

quinonas y las xantonas y esto se puede resumir en el esquema que se presenta en la figura 6 (Quiñones *et al.*, 2012).

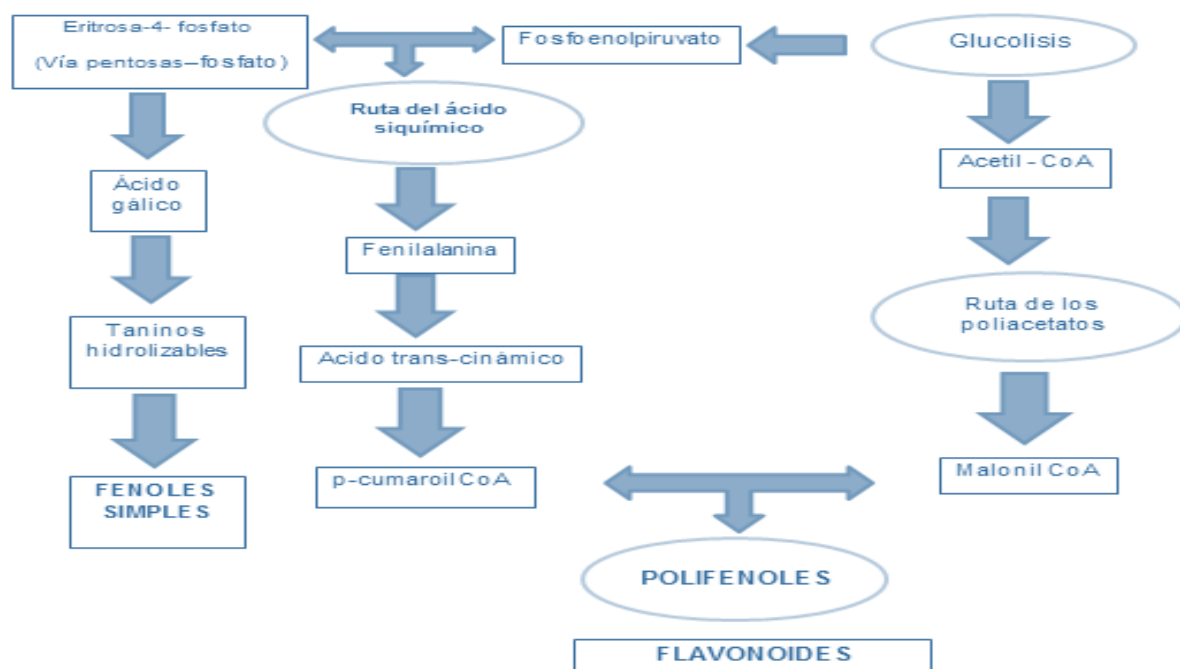


Figura 6. Esquema de la Ruta biosintética de los polifenoles en plantas. CoA = Cofactor A. (Quiñones *et al.*, 2012).

3.2.1.3. Polifenoles en alimentos

Se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario. Algunos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales. Otros participan en funciones de defensa ante situaciones de estrés y estímulos diversos (hídrico, luminoso, etc.) (Quiñones *et al.*, 2012). Los polifenoles, son constituyentes importantes de las plantas y que a su vez les otorga múltiples efectos benéficos. Están presentes generalmente en forma de glucósidos en los extractos de las frutas, hierbas, vegetales, cereales (maíz) y otros materiales de plantas ricos en polifenoles (Muñoz-Ramos, 2007).

Los polifenoles son responsables de las propiedades organolépticas de los alimentos de origen vegetal y por lo tanto tienen importancia en la calidad de los mismos. Así, entre estos hay pigmentos como las antocianinas, responsables de

los tonos rojos, azules y violáceos característicos de muchas frutas (fresas, ciruelas, uvas, etc.), hortalizas (berenjena, lombarda, rábano, etc.), cereales (maíces morados, azules, rojos y negros) y del vino tinto, o los flavonoles, de tonalidad crema-amarillenta, que están presentes principalmente en las partes externas de frutas y hortalizas. Hay polifenoles que tienen sabor amargo, como determinadas flavanonas de los cítricos (naringina de los pomelos, neohesperidina de las naranjas amargas) o la oleuropeína presente en aceitunas. Las proantocianidinas (taninos condensados) y los taninos hidrolizables confieren astringencia a los frutos y algunos fenoles sencillos, tienen importancia en el aroma de determinadas frutas, como el eugenol en los plátanos. Los derivados de ácidos hidroxicinámico, como cafeico, ferúlico, cumarico y sinápico, están presentes en gran número de frutas, cereales (maíz), hortalizas y alimentos derivados, y en algunos casos constituyen los polifenoles mayoritarios; aunque no tienen un impacto directo sobre las características organolépticas de los alimentos que los contienen, indirectamente pueden afectar de modo negativo a la calidad si son oxidados por las enzimas oxidativas que se encuentran naturalmente en los tejidos vegetales, y dan lugar a la formación de polímeros pardos que imparten al producto un aspecto no siempre deseable (Tómas-Barberán, 2003)

En la tabla 5, se presentaran las concentraciones de polifenoles que presentan algunos frutos y hortalizas

Tabla 5. Ingesta de polifenoles cuando se consumen 5 raciones de frutas y hortalizas.

Fuente: (Tómas-Barberán, 2003)

Melocotón (una pieza)	Variedad Snow King sin pelar – 110 mg de polifenoles
Uva (100 g)	Variedad Napoleón sin pelar y con pepitas – 50 mg de polifenoles
Naranja (una pieza)	Variedad Navel pelada dejando parte de albedo – 400 mg de flavanonas
Lechuga (100 g)	Variedad Lollo rosso – 300 mg de polifenoles
Espinaca (100 g)	Cocinada al microondas – 120 mg de flavonoles
5 raciones al día	Total: 960 mg de polifenoles

3.2.1.4. Actividad biológica

Los polifenoles presentan una amplia gama de actividades biológicas, incluyendo la actividad anticancerígena, antiinflamatoria, antihipertensiva, estrogénica, antioxidante y efectos protectores contra enfermedades cardiovasculares. Especialmente estos componentes pueden ejercer efecto antioxidante como el secuestro de radicales libres, donan moléculas de hidrogeno, barren moléculas de superóxido, quelan metales de transición; estas propiedades son atribuidas principalmente al grupo hidroxilo presente en su anillo estructural. Actualmente ha despertado gran interés su presencia en la dieta así como el estudio del metabolismo y biodisponibilidad de estos compuestos por sus propiedades beneficiosas en la salud humana (Muñoz-Ramos, 2007).

3.2.1.5. Usos en alimentos

En la industria alimentaria son utilizados por las características organolépticas que le confieren a los alimentos como frutas y verduras; además de que retardan la oxidación de los lípidos y mejoran la calidad nutricional de los alimentos.

3.2.2. Flavonoides

3.2.2.1. Estructura

Los flavonoides (del latín flavus, amarillo) constituyen la subclase de polifenoles más abundante dentro del reino vegetal. Son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común difenilpirano (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos fenilo (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano heterocíclico. Los átomos de carbono individuales de los anillos A, B y C se numeran mediante un sistema que utiliza números ordinarios para los anillos A y C, y números primos para el anillo B. De los tres anillos, el A se biosintetiza a través de la ruta de los poliacetatos, y el anillo B junto con la unidad C3 proceden de la ruta del ácido siquímico. Todos los flavonoides son estructuras hidroxiladas en sus anillos aromáticos, y son por lo tanto estructuras polifenólicas (Badui, 2006; Quiñones *et al.*, 2012).

Los flavonoides se encuentran mayoritariamente como glucósidos, pero también pueden aparecer en forma libre (también llamados agliconas flavonoides). Además, se pueden presentar como sulfatos, dímeros o polímeros. Los glucósidos se pueden encontrar de dos formas: como O-glucósidos con los carbohidratos ligados a través de átomos de oxígeno (enlace hemiacetal), o como C-glucósidos con los carbohidratos ligados a través de enlaces carbono-carbono. De todas estas formas naturales, los O-glucósidos son los mayoritarios (Quiñones *et al.*, 2012).

Existen varios subgrupos de flavonoides. La clasificación de estos compuestos se hace en función del estado de oxidación del anillo heterocíclico (anillo C) y de la posición del anillo B. Dentro de cada familia existen una gran variedad de compuestos, que se diferencian entre sí por el número y la posición de los grupos hidroxilos, y por los distintos grupos funcionales que pueden presentar (metilos, azúcares, ácidos orgánicos). Los principales subgrupos de compuestos flavonoides son: flavonoles, flavonas, flavanonas (dihidroflavonas), isoflavonas, antocianidinas y flavanoles y en la figura 7 se pueden observar sus estructuras químicas (Quiñones *et al.*, 2012)

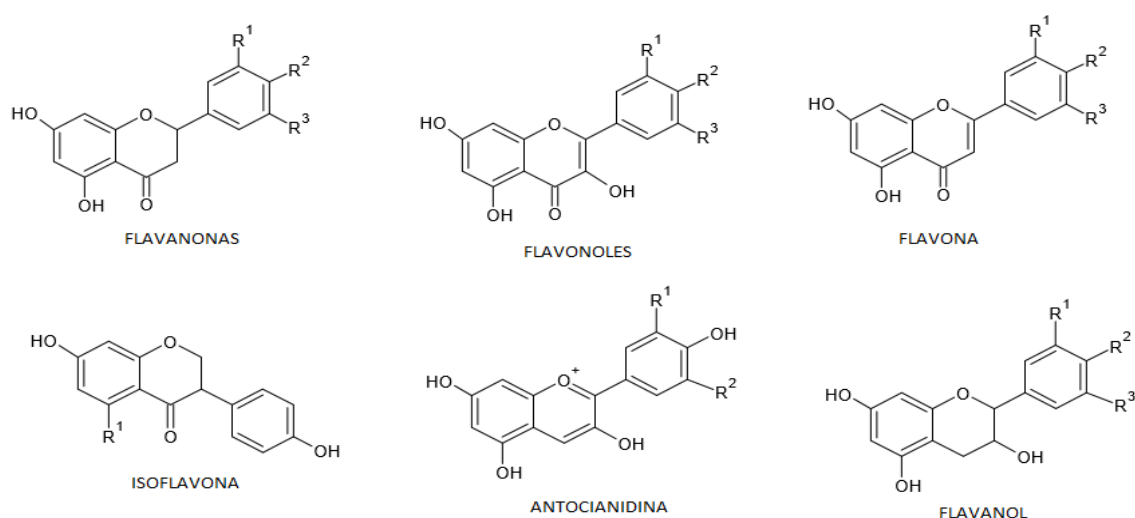


Figura 7. Núcleo estructural de los principales grupos de flavonoides

3.2.2.2. Flavonoides en alimentos

A continuación se presentarán los flavonoides de mayor importancia en los alimentos. El de los flavonoles es el grupo más importante: la quercetina se encuentra en cebolla, miel, manzanas, brócoli, cerezas, uvas, col, col de Bruselas, espinacas y habas; el kampferol en fresas, brócoli, rábano y remolacha; y la miricetina en uvas. Los flavandioles, que aunque son incoloros, aquí se consideran por similitud estructural con las antocianinas y en algunas condiciones dan productos con color. Contribuyen al sabor de aceitunas, plátanos, chocolate, té y vino, y a reacciones de oscurecimiento por sus grupos ortohidroxilo. Las isoflavonas tienen actividad estrogénica, sobre todo la gensteína, la daidzeína y la

gliciteína, que se encuentran como glucósidos en la soya, la alfalfa y en otras plantas. Entre las flavonas, chalconas y dihidrochalconas destacan la hesperidina, encontrada en limones, mandarinas y naranjas, y la naringina en toronjas y naranjas amargas. Otros flavonoides como la catequina y la epicatequina se encuentran presentes en té verde, peras, nueces y cacao, proporcionando astringencia. Las antocianinas, pertenecientes también a los flavonoides, se encuentran en frutos rojos como las frambuesas, fresas, zarzamoras, arándanos, moras, etc.; además de encontrarse en col morada, cebolla morada y en cereales como los maíces pigmentados, donde estos pigmentos se pueden encontrar en el pericarpio, la aleurona o en ambas dependiendo de la variedad criolla que se trate (Badui, 2006).

En la tabla 6 se presentara el contenido de flavonoides encontrados en algunas frutas y nueces, ya que en cereales como son los maíces pigmentados los flavonoides más estudiados por sus concentraciones predominantes, son las antocianinas de las cuales hablaremos en el siguiente capítulo.

Tabla 6. Comparación de los monómeros totales flavan-3-ol en las frutas y nueces (Miligramos por cada 100 g de peso fresco). Fuente: (Harnly *et al.*, 2006)

Material alimenticio	Monómeros totales	Suma de catequina y epicatequina
Frutas		
Manzana, Fuji	6.5 ± 1.7	5.8 ± 5.5
Manzana, Gala	5.9 ± 0.4	3.2 ± 1.5
Manzana, Golden Delicious, con cáscara	4.7 ± 0.2	3.6 ± 2.2
Manzana, Granny Smith	7.5 ± 1.0	4.9 ± 1.7
Manzana, Red Delicious, con cáscara	9.6 ± 0.9	7.6 ± 6.4
Manzana, Red Delicious, sin cáscara	6.8 ± 0.9	5.1 ± 0.2
Moras	3.7 ± 2.2	1.0 ± 1.4
Arándanos	3.4 ± 0.5	2.8 ± 1.3
Arándanos agrios	7.3 ± 1.5	5.3 ± 1.3
Kiwis	0.6 ± 0.5	0.1 ± 0.2
Nectarinas	1.9 ± 1.2	0.6 ± 0.8
Ciruelas	11.3 ± 3.4	6.2 ± 4.5
Frambuesas	4.4 ± 3.4	5.6 ± 4.5
Fresas	4.2 ± 0.7	3.2 ± 1.8
Nueces		
Almendras	7.8 ± 0.9	0.4 ± 0.2
Avellanas	9.8 ± 1.6	1.4 ± 1.1
Pistaches	10.9 ± 4.3	4.4 ± 3.0

3.2.2.3. Actividad biológica

Los flavonoides se caracterizan por poseer una elevada reactividad que se expresa en su afinidad por unirse a proteínas, a otras macromoléculas biológicas (hormonas, ácidos nucleicos) y a iones divalentes de metales, así como por su capacidad para catalizar el transporte de electrones y captar radicales libres. Estas propiedades pueden dar lugar a efectos fisiológicos muy diversos, muchos de los cuales sólo han podido ser puestos de manifiesto en ensayos *in vitro*: inhibición de enzimas, actividad antioxidante, efectos antiinflamatorios, acción antibacteriana y antiviral, secuestro de metales, actividad vascular, etc. Todos estos efectos hacen de los flavonoides un grupo de sustancias con un importante potencial terapéutico (Rivas G *et al.*, 2002).

3.2.2.4. Usos en alimentos

Los flavonoides se utilizan en formulaciones farmacéuticas comercializadas. Por su actividad biológica, ha aumentado su interés como componentes de alimentos y justifica su inclusión dentro del término genérico de fitoquímicos y su papel dentro de alimentos funcionales (Rivas G *et al.*, 2002).

3.2.3. Antocianinas (Colorantes naturales)

3.2.3.1. Estructura

Las antocianinas (del griego *anthos*, flor y *kyanos*, azul) representan los principales pigmentos solubles en agua visibles al ojo humano. Pertenecen al grupo de los flavonoides; también se conocen como flavonoides azules. Su estructura básica es un núcleo de flavón, el cual consta de dos anillos aromáticos unidos por una unidad de tres carbonos. El nivel de hidroxilación y metilación en el anillo "B" de la molécula determina el tipo de antocianidina, que es la aglicona de la antocianina, como se observa en la figura 8. Se conocen aproximadamente 20 antocianidinas, las más importantes son pelargonidina, delfinidina, cianidina,

petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de éstas con los diferentes azúcares generan aproximadamente las 300 antocianinas que son responsables de una gama muy amplia de colores, desde el incoloro hasta el púrpura (Badui, 2006).

Aglicona	Sustitución		λ max (nm)
	R1	R2	espectro visible
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH ₃	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH ₃	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	510 (azul-rojo)

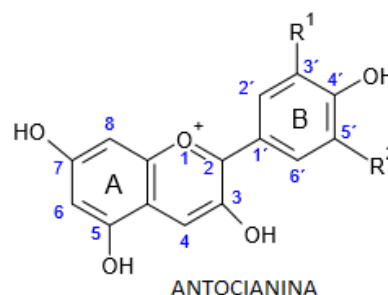


Figura 8. Estructura y sustituyentes de antocininas (Garzón, 2008)

En las plantas las antocianidinas no se acumulan como tal, sino en su forma glucosilada; esto es, unidas a algún azúcar y en cuyo caso se denominan **antocianinas**. El azúcar presente en la molécula les confiere una gran solubilidad y estabilidad, generalmente se une a la antocianidina en la posición 3 del grupo fenólico, pero puede también hacerlo en las posiciones 5 y 7. Con base en el número de azúcares presentes en su estructura, las antocianinas se clasifican en: monoglucósidos (un azúcar), diglucósidos (dos azúcares) y triglucósidos (tres azúcares). Los tipos de azúcares presentes pueden ser: monosacáridos, disacáridos o trisacáridos. Los monosacáridos más comunes son: pentosas como arabinosa y xilosa, o bien hexosas, de las cuales la D-glucosa es la más frecuente, aunque también pueden estar presentes galactosa o ramnosa. Los disacáridos más frecuentes son gentobiosa, soforosa, sambubiosa y rutinosa. Los trisacáridos reportados pueden ser lineales como la gentotriosa, o bien ramificados como xilosilrutinosa o glucosilrutinosa. En algunos casos, los azúcares están acilados con grupos derivados del ácido acético o alguno de los cuatro ácidos cinámicos (p-cumárico, cafeico, ferúlico o sinápico). Se ha observado que la presencia de estos grupos acilo en la molécula de antocianidina le confiere estabilidad ante condiciones extremas de pH y temperatura. Cuando en la molécula de antocianina

se encuentran únicamente azúcares, se denominan no aciladas; si además de los azúcares están presentes uno o varios radicales acilo, se catalogan como aciladas (Aguilera *et al.*, 2011).

3.2.3.2. Antocianinas en alimentos

Existen diferentes antocianidinas en la naturaleza pero las más comunes en plantas son: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina. Las tres primeras son más frecuentes en frutos, en tanto que el resto lo son en flores. Producen los colores brillantes rojos, anaranjados, azules y púrpuras de las uvas, manzanas, rosas, fresas y otros productos de origen vegetal, principalmente frutas y flores. Generalmente se encuentran en la cáscara o piel, como en el caso de las peras y las manzanas, pero también se pueden localizar en la parte carnosa, como en las fresas y las ciruelas (Badui, 2006; Aguilera *et al.*, 2011; Salinas *et al.*, 2013). Varias bayas y grosellas negras son las fuentes más ricas en antocianinas, aunque la berenjena y los granos de maíces pigmentados morados y azules también contienen altas cantidades de antocianinas (Aguilera *et al.*, 2011).

Las antocianinas están presentes en diferentes estructuras de la planta de maíz pigmentado, como tallo, vaina, hojas e inflorescencias. En la mazorca se pueden encontrar en cáscara y grano. En el grano se ha reportado la presencia de antocianinas en pericarpio, aleurona o ambas (Salinas *et al.*, 2012)^a. Si el pigmento se concentra en la aleurona, el grano puede canalizarse al proceso de nixtamalización para la elaboración de productos con tonalidades azules, mientras que si se acumula en el pericarpio y en cantidad suficiente el grano pigmentado podría considerarse para la extracción de pigmentos (Salinas *et al.*, 2013).

Salinas *et al.*, (2013) reporta que la cáscara del maíz morado contiene aproximadamente 10 veces más antocianinas que otras plantas. Podemos anticipar la producción industrial de antocianina, porque la cáscara de maíz morado contiene 10% de antocianinas.

En los granos de maíz con coloración azul, morado, negro y magenta, las antocianidinas más comunes son pelargonidina, cianidina y peonidina, aunque la antocianidina (aglicona) predominante es cianidina, ya que poco más de 73% de las antocianidinas se derivan de ella, en granos azul/ morado de razas como Chalqueño la antocianidina llega a constituir hasta 83.3% (Salinas *et al.*, 2013).

Recientes investigaciones informan sobre la existencia de cianidina 3-glucósido en el grano del maíz morado, como la principal antocianina (flavonoide) contenida en este fruto. Otras antocianinas identificadas fueron cianidina 3-(6"-malonil glucósido) y peonidina 3-glucósido y en la figura 9 se muestran las estructuras químicas (Salinas *et al.*, 2013).

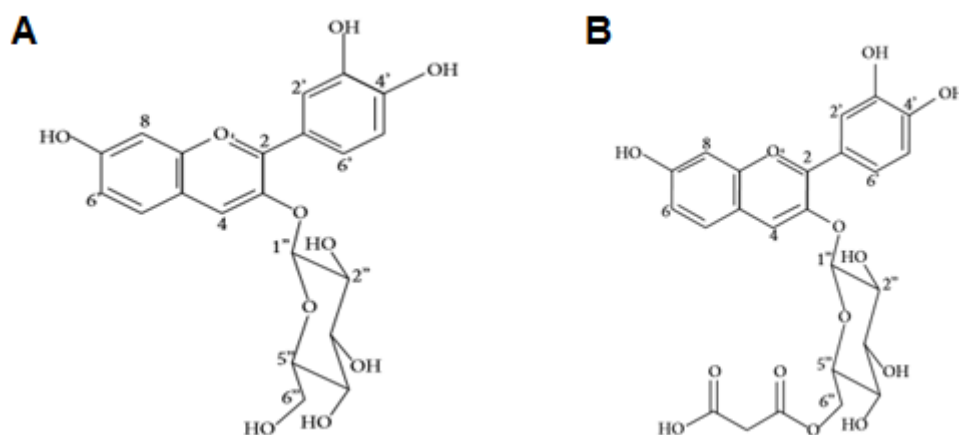


Figura 9. Estructuras más abundantes en el maíz morado. A) cianidina-3-glucósido, B) cianidina-3-6-malonilglucósido

A continuación se presentará en la tabla 7, donde el contenido de antocianinas totales en el grano en diferentes razas mexicanas de maíces Azul, morado y negro.

Tabla 7. Contenido de antocianinas en el grano de 17 razas mexicanas de maíz. Fuente: (Salinas *et al.*, 2013)

Raza de maíz	Color de grano	Estructura del grano analizada	Contenido de antocianinas
Chalqueño	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	417.4***
Cónico	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	441.0***
Bolita	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	296.9***
No indicado	Azul	Grano entero (Aleurona)	371.7**
No indicado	Morado	Grano entero (Aleurona)	154.0**
No indicado	Azul y negro	Grano entero (Aleurona)	790-1690*
Olotillo	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	276.8-904.0**
Olotón	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	294.1**
Tehua	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	213.6-401.9**
Zapalote Grande	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	519.9-591.1**
Tuxpeño	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	216.8-367.9**
Tepecintle	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	512.0**
Vandeño	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	485.2-657.3**
Chalqueño	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	579.4-1046**
Elotes Cónicos	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	997.8- 1332.2**
Bolita	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	304.1- 528.0**
Tabloncillo	Azul/morado	Grano sin germen (Aleurona)	199.2- 344.6**

***Los valores están expresados en mg equivalentes de pelargonidina clorada/ kg de muestra seca; **Los valores están expresados en mg equivalentes de cianidina-3-glucósido/ kg de materia seca; * No se indican las unidades, ni el compuesto en función del cual está expresado el contenido.

3.2.3.3. Actividad biológica

El interés en los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas. Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas y ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios, antimutagénica y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante (Aguilera *et al.*, 2011).

De acuerdo con Fukamachi *et al.*, 2008, la cianidina-3-glucósido es una importante antocianina presente en el maíz morado, suprime el 7,12-dimethylbenzo antraceno, el cual induce a la carcinogénesis mamaria, lo que indica que el color de maíz morado puede ser un agente quimioterapéutico prometedor.

El maíz morado es un antioxidante natural que retarda el envejecimiento celular, principalmente por los mecanismos de acción de la cianidina-3- β -glucósido, pelargonidina-3- β -glucósido, peonidina-3- β -glucósido y ácidos fenólicos (Salinas *et al.*, 2013).

3.2.3.4. Usos en alimentos

Las aplicaciones de las antocianinas en los sistemas alimenticios son preferentemente usadas en alimentos de acidez intermedia para asegurar una predominancia del catión flavilio. Por ejemplo, las antocianinas del trigo azul, del grano entero o en forma aislada son térmicamente más estables a pH 1 y su degradación no es significativa más baja a pH 2 que comparada a pH 5. Esto podría explicar el uso de extractos de antocianinas, tales como pigmentos de uva en bebidas y bebidas no alcohólicas, donde aproximadamente 3 kg de extracto de antocianina al 1% añadido a 1000 L de bebida puede impartir un color rojo profundo. Actualmente, la mayoría del maíz pigmentado es usado para ornato debido a su apariencia colorida donde solamente una pequeña cantidad está siendo utilizada en la producción de tortillas coloreadas azul y rosa. El trigo

morado es resquebrajado en grandes piezas, las cuales son distribuidas sobre el exterior del pan multigrano. Adicionalmente, reportaron que los granos de maíz pigmentado tales como azul, rosa y morado tienen cantidades relativamente altas de antocianinas, especialmente el maíz morado (1277 $\mu\text{g/g}$) proyectando una promesa para el desarrollo de alimentos funcionales y/o colorantes naturales. Extractos alimenticios ricos en antocianinas han sido incorporados y desarrollados dentro de suplementos alimenticios y dietéticos. Por ejemplo, extractos de antocianinas de maíz morado han sido incorporados como un suplemento dietético antioxidante con recomendaciones para promover la salud, apariencia más joven y una piel más radiante. Las antocianinas gradualmente están siendo incorporadas dentro de productos alimenticios y bebidas como colorantes, alimentos funcionales o suplementos alimenticios. El aumento en el contenido de antocianinas con mayor estabilidad y vida de anaquel prolongada incrementará las aplicaciones alimenticias, el consumo total y con ello incrementará su efecto benéfico en la salud (Aguilera *et al.*, 2011).

3.2.4. Ácidos hidroxicinámicos

3.2.4.1. Estructura

Este grupo de compuestos se caracteriza por poseer en su estructura química el anillo aromático, el grupo hidroxilo y una función carboxílica. Los ácidos fenólicos que tienen interés terapéutico y antioxidante son derivados del ácido benzoico o del ácido cinámico (cafeico, ferúlico, p-cumárico) y en la figura 10, se pueden observar las estructuras químicas. Los primeros son muy abundantes en la naturaleza tanto libres, como ácidos o aldehídos, (vainilla, anisaldehído), como combinados en formas heterosídicas, correspondiendo a este grupo la unidad básica estructural (ácido gálico) de los taninos gálicos o hidrozilables. Los segundos también son abundantes en la naturaleza, pero en este caso se encuentran siempre esterificados con azúcares, alcoholes alifáticos, ácido

clorogénico, otros metabolitos secundarios o bien amidificados (Castañeda-Sánchez *et al.*, 2011). Los ácidos hidroxicinámicos que son conocidos principalmente por su función antioxidante y los más importantes son: ácido ferúlico, ácido cumárico, ácido cafeico y ácido sinápico. El ácido-p-cumarico es precursor del ácido ferúlico.

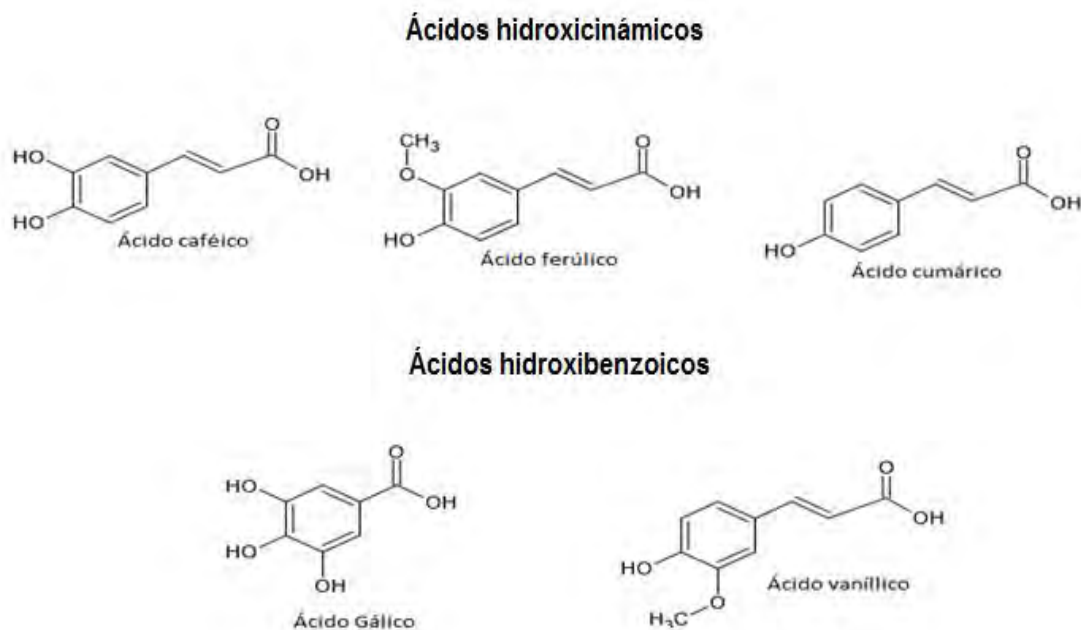


Figura 10. Estructuras de algunos ácidos hidroxicinámicos y ácidos hidroxibenzoicos

3.2.4.2. Ácidos hidroxicinámicos en alimentos

Los ácidos hidroxicinámicos constituyen un amplio grupo de sustancias químicas. Sus principales funciones en las células vegetales son las de actuar como metabolito para el crecimiento y reproducción de las plantas, y además participan como agentes protectores frente a la acción de patógenos como parte de su mecanismo de defensa. La distribución de estos compuestos en los tejidos y células vegetales varían considerablemente situándose en el interior de las células principalmente contenidos en la pared celular, los cuales están ligados a ella por unión tipo éster, tal es el caso del ácido ferúlico y ácido p-cumárico que han sido encontrados en la pared celular de muchas especies de plantas. Estos

compuestos pueden ser liberados por la acción de enzimas hidrolíticas como las pectinasas, celulasas y las metil ferulato esterasa. Sin embargo, existen reportes que demuestran que estos compuestos fenólicos se encuentran de manera libre en numerosas plantas y subproductos agroindustriales en cantidades significativas, principalmente el ácido cafeico y el p-cumárico. La pared celular vegetal está constituida por polisacáridos que son los compuestos orgánicos más abundantes encontrados en la naturaleza y constituyen el 90% de la pared celular. Estos se dividen en tres grupos: celulosa, hemicelulosa y lignina. Los polímeros de la celulosa se presentan como estructuras ordenadas (fibras) y su función principal es asegurar la rigidez de la pared celular de la planta. Los ácidos hidroxicinámicos se encuentran ligados covalentemente a los polisacáridos de la pared celular vegetal y en forma soluble están en el citoplasma, siendo el más abundante el ácido ferúlico. Los ácidos hidroxicinámicos como el ácido cafeico, clorogénico y ferúlico se encuentran en granos de café, blueberry, cerezas dulces, naranja, patata blanca y uva. (Gómez *et al.*, 2012).

Además el ácido ferúlico, también llamado ácido (4-hidroxí-3-metoxi ácido cinámico), se encuentra presente en cereales como el maíz y es uno de los principales ácidos hidroxicinámicos que encontramos en este cereal, ya que representa alrededor del 85% de sus fenoles totales (Cabrera-Soto *et al.*, 2009).

El ácido ferúlico es extremadamente abundante en el pericarpio del maíz (1g/kg), y como ya se había mencionado anteriormente, se encuentra en forma libre o enlazado por medio de enlaces éster a algunos residuos de a-L-arabinosa, sacárido que se encuentra en la hemicelulosa de la pared celular vegetal (Cabrera-Soto *et al.*, 2009). Para poder liberarlo es necesario hidrolizarlo química o enzimáticamente, el mecanismo de hidrólisis no ha sido del todo estudiado, pero se cree que sucede del mismo modo que una hidrólisis de ésteres. Es un compuesto precursor en la producción de vainillina.

En cereales los fenoles se agrupan en solubles e insolubles o ligados. En el primer grupo están los fenoles libres, glucosilados y esterificados que se ubican en mayor cantidad en las capas periféricas de los granos (pericarpio, testa y células de

aleurona), mientras que su concentración es menor en el endospermo. Y como se ha venido mencionado el maíz (*Zea mays*) contiene más fenoles totales y mayor poder antioxidante que cereales como trigo, arroz y avena. El ácido ferúlico se encuentra ligado al pericarpio del maíz por enlaces éster en forma libre o esterificado a las heteroxilanas que constituyen la hemicelulosa de la pared celular (Cabrera-Soto *et al.*, 2009).

En el caso de la pared celular de las semillas monocotiledóneas del maíz, se encuentra en mayor proporción la hemicelulosa, la cual consiste principalmente de arabinoxilano o xilano. El esqueleto de xilosa se encuentra a su vez sustituido con residuos de α -L-arabinosil en las posiciones o-2 y o-3 de las unidades de xilosa. Además, algunos de los residuos de α -L-arabinosa se encuentran sustituidos en las posiciones C-5 con moléculas de ácido ferúlico, mediante enlace éster.

A continuación se presentarán dos tablas, en la tabla 8 se mostrará el contenido de fenoles totales en diferentes frutos y en la tabla 9 el contenido de fenoles totales en diferentes variedades de maíces.

Tabla 8. Contenido de fenoles totales. Fuente: (Zapata *et al.*, 2014)

Nivel de Fenoles totales	Nombre común	Fenoles totales mg de ácido gálico/ 100 g muestra liofilizada
Alto	Mora	1864.4 ± 44.0
	Fresa	1638.4 ± 9.2
	Guayaba	1192.2 ± 27.8
Intermedio	Manzana roja	426.7 ± 4.1
	Ciruela morada	376.5 ± 5.6
	Uva	290.6 ± 12.0
	Piña	268.6 ± 5.4
	Mandarina	242.6 ± 3.1
	Kiwi	199.3 ± 4.9
	Papaya	139.1 ± 4.7
	Pera	124.7 ± 3.2
Bajo	Banana	84.8 ± 1.9
	Maracuyá	39.1 ± 1.9
	Durazno	30.5 ± 1.4

Tabla 9. Contenido de compuestos fenólicos totales en variedades de maíz. Fuente: (López *et al.*, 2010).

Variedad	Compuestos fenólicos totales
Blanco	170.4 ± 4.3
Amarillo	551.4 ± 3.3
Naranja	215.3 ± 2.6
Morado	465.2 ± 6.7
Rojo	465.4 ± 5.9
Negro	457.8 ± 7.2
Azul	343.5 ± 4.76
Pinto	617.2 ± 10.23

3.2.4.3. Actividad biológica

Los ácidos hidroxicinámicos presentan propiedades benéficas para el humano como anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes. Los beneficios farmacológicos y nutracéuticos derivados de estos compuestos fenólicos se deben a su capacidad de atrapar radicales libres. Estos compuestos son capaces de detener la reacción en cadena de los radicales libres gracias a su capacidad de donar hidrógeno a partir de grupos hidroxilo fenólicos, formando así el producto final estable (Gómez *et al.*, 2012).

3.2.4.4. Usos en alimentos y farmacia

El ácido ferúlico, en la industria de alimentos se emplea como antioxidante y en la farmacéutica como nutracéutico por su gran capacidad de atrapar radicales libres y ayuda a la prevención de enfermedades crónico degenerativas; pero además se utiliza mucho para la elaboración de protección solar por su capacidad de generar radicales fenoxilo estables cuando este es irradiado por luz UV, y estos tienen la capacidad de interrumpir la cadena de reacciones de radicales libres, es por eso que se ha considerado como un agente importante para la protección de la piel (Vargas, 2013).

3.2.5. Xilanos

3.2.5.1. Estructura

El xilano es el polisacárido hemicelulósico más abundante en paredes celulares de plantas representando hasta 30%-35% del total de peso seco. El xilano está constituido por una cadena principal de β -(1-4)-xilopiranososa (xilosa); el arabinoxilano (figura 11), tiene residuos de α -l-arabinofuranosa (L-arabinosa) y de ácido glucurónico en posición C(O)-2 y/o C(O)-3 sobre la estructura del xilano, aunque también puede estar sustituido con glucosa o galactosa y estar esterificados con ácidos ferúlicos, diferúlicos y p-cumáricos en posición C(O)-5 de la arabinosa (Cooper, 2013).

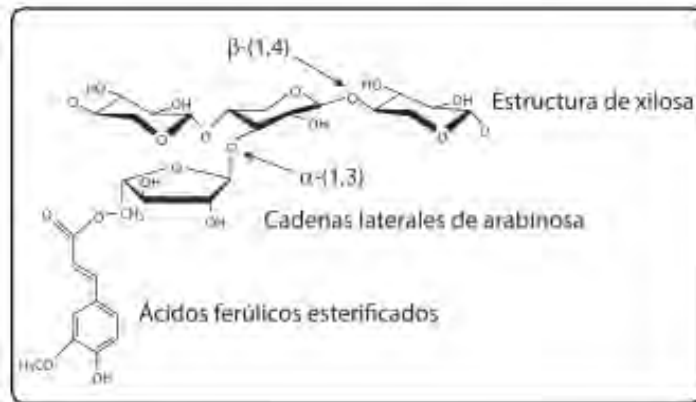


Figura 11. Estructura química general de los arabinoxilanos. Fuente: (Cooper, 2013).

3.2.5.2. Xilanos en alimentos

Los xilanos se encuentran en la pared celular de las plantas. En la familia de las gramíneas que comprende a los cereales, entre ellos el maíz, la pared celular (PC) primaria está compuesta por microfibrillas de celulosa encajadas en una matriz de hemicelulosa (principalmente glucuronoarabinoxilanos (GAX), y β -glucanos con enlaces mixtos), compuestos fenólicos como los ácidos hidroxicinámicos (ácidos ferúlico y p-cumárico), pectinas (homogalacturonanos y ramnogalacturonanos) y proteínas estructurales, enzimas y proteínas involucradas en señalización. Por su parte, la PC secundaria está formada mayormente por celulosa, GAX, ácidos hidroxicinámicos y lignina (Barros-Ríos *et al.*, 2011).

Hemicelulosas

A diferencia de la celulosa, los polisacáridos de hemicelulosa son sintetizados en el aparato de Golgi y secretados en vesículas a la pared. La mayoría de las dicotiledóneas y monocotiledóneas no comelínidas tienen polímeros basados en glucanos o mananos como principal polisacárido y contienen concentraciones considerables de pectina lo que se define como pared de tipo I. La composición de la hemicelulosa en el maíz y otras especies del orden Poales contiene

glucuronoarabinoxilanos (GAX) como principal polisacárido hemicelulósico lo que se define como pared de tipo II. Los β -glucanos con enlaces mixtos son también polisacáridos hemicelulósicos únicos del orden Poales y más abundantes en la pared celular primaria del maíz (Barros-Ríos *et al.*, 2011).

Glucuronoarabinoxilanos (GAX)

La estructura base de los GAX es una cadena lineal de residuos de xilosa con enlaces β (1g4) y sustituciones de α -L-arabinosa y α -D-ácido glucurónico. Los residuos de α -L-arabinosa están unidos al residuo de xilosa en la posición O-3, y los de α -D-ácido glucurónico en la posición O-2. Como se muestra con más detalle en la Figura 12, la unidad de arabinosa puede ser sustituida con ácido ferúlico. La biosíntesis de GAX y las enzimas responsables de la inclusión de residuos de arabinosa en las cadenas de xilanos en maíz está siendo actualmente estudiada. Es probable que las enzimas responsables de la síntesis de las cadenas de xilanos (glicotransferasas) sean codificados por diferentes genes Csl que se expresan de forma distinta en los diferentes tejidos y en función del estado de madurez de la planta (Barros-Ríos *et al.*, 2011).

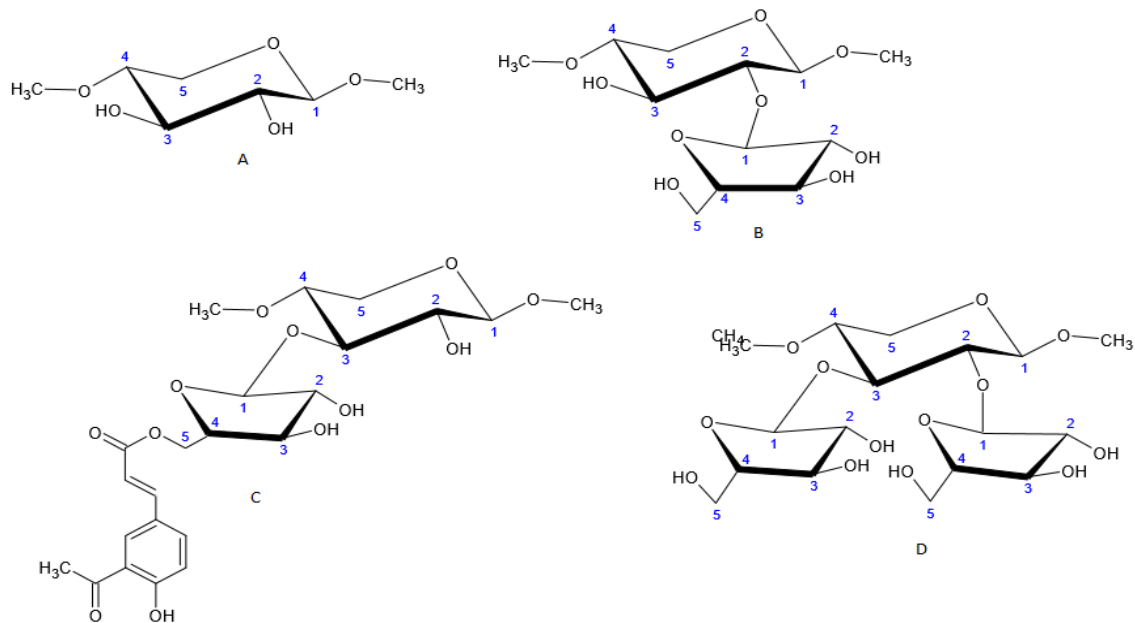


Figura 12. En la estructura C se observa la unión del ácido ferúlico al residuo de L-arabinofuranosil.

En cuanto a concentraciones no se encontró información sobre el contenido de xilanos totales en alimentos, pero si del contenido de xilosa en cáscara de piña que es una buena fuente de xilosa ya que Ramírez *et al.*, 2012 reportaron concentraciones de 24.27, 25.60 y 24.97 g/L. Además en el pericarpio del maíz intacto reportó Rostro en el 2014, un contenido de xilosa de 34 %p/p y en pericarpio de maíz nixtamalizado un contenido de xilosa de 29 %p/p.

3.2.5.3. Actividad biológica

Los xilanos, tienen una actividad prebiótica sobre el organismo, ya que promueven algunas funciones fisiológicas dentro de las cuales se encuentran: disminución de infecciones intestinales, biodisponibilidad de minerales como calcio y magnesio, disminución de problemas de constipación, disminución de los niveles de colesterol, reducción del riesgo de cáncer de colon, disminución de problemas de hipertensión, estimulación del sistema inmunológico y reducción del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (Rostro, 2014).

3.2.5.4. Usos en alimentos

Los xilanos se emplean en la industria de alimentos como prebióticos y de acuerdo con Loera en el 2002, se hace más empleo de las xilanasas que son enzimas que permiten la obtención de oligosacáridos de xilanos (provenientes de desechos agrícolas) para su utilización como aditivos alimenticios y edulcorantes. Además las xilanasas en conjunto con celulasas se emplean para la modificación de masas para la panadería y también para el mejoramiento de las dietas de aves de corral, puesto que la hidrólisis enzimática de arabinoxilanos (de forrajes y cereales) incrementa la eficiencia alimenticia de las materias primas de la dieta. A continuación se enlistan otras aplicaciones probadas de las xilanasas.

- Extracción de jugos, sabores, esencias y pigmentos
- Clarificación de jugos y vinos
- Modificación de xilanos para la industria alimenticia

- Modificación de las harinas de cereales para mejorar la panificación
- Sacarificación de desechos agrícolas para su fermentación en la obtención de combustibles y alimento animal

3.2.6. Propiedades biológicas de los compuestos bioactivos del maíz morado

Las propiedades prebióticas, nutracéuticas y funcionales del maíz morado están íntimamente ligadas con la composición fitoquímica, y representan actualmente una línea de investigación de interés científico, donde los maíces morados constituyen una fuente de diversidad fenotípica y genotípica por explorar, porque contienen compuestos con relevantes propiedades funcionales y nutracéuticas. A continuación se explicaran los conceptos de alimento funcional, nutracéutico y prebiótico.

Alimentos funcionales: Cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona. El calificativo de funcional se relaciona con el concepto bromatológico de “propiedad funcional”, o sea la característica de un alimento, en virtud de sus componentes químicos y de los sistemas fisicoquímicos de su entorno, sin referencia a su valor nutritivo. En Europa se define alimento funcional a “aquel que satisfactoriamente ha demostrado afectar benéficamente una o más funciones específicas en el cuerpo, más allá de los efectos nutricionales en una forma que resulta relevante para el estado de bienestar y salud o la reducción de riesgo de una enfermedad (Alvídrez *et al.*, 2002).

Nutracéutico: Cualquier producto que pueda tener la consideración de alimento, parte de un alimento, capaz de proporcionar beneficios saludables, incluidos la prevención y el tratamiento de enfermedades. El concepto de alimento nutracéutico ha sido recientemente reconocido como “aquel suplemento dietético que proporciona una forma concentrada de un agente presumiblemente bioactivo

de un alimento, presentado en una matriz no alimenticia y utilizado para incrementar la salud en dosis que exceden de aquellas que pudieran ser obtenidas del alimento normal (Alvídrez *et al.*, 2002).

Prebiótico: El término se refiere a los ingredientes de los alimentos no digeribles que producen efectos beneficiosos sobre el huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de un tipo o de un número limitado de bacterias en el colon. Esta definición se solapa en parte con la definición de fibra dietética, aunque añade la selectividad de los prebióticos sobre ciertos microorganismos en concreto (por ejemplo, la ingestión de fructooligosacáridos y la inulina favorecen a las bifidobacterias de forma selectiva) (Olveira *et al.*, 2007).

En la tabla 10, se presentan compuestos bioactivos presentes en el maíz morado.

Tabla 10. Principales nutraceuticos asociados a maices morados. Fuente: Serna-Saldívar et al., 2013.

Compuesto nutraceutico		Estructura anatomica	Efecto preventivo o terapeutico
Familia	Clase		
Fenolicos	Simples como el ferulico	Principalmente asociados al pericarpio.	Previenen el estrés oxidativo, cáncer, alto colesterol, arteriosclerosis y envejecimiento.
Antocianinas y Flavonoides	Antocianinas, flavonoles, flavan-3-ols	En el grano están asociados principalmente al pericarpio y a la aleurona; en el resto de la planta se encuentran en brácteas, inflorescencias tallos y olote.	Previenen el estrés oxidativo, cáncer, alto colesterol, arteriosclerosis y envejecimiento.
Fitoesteroles	Sitoesterol, Estigmasterol, Campesterol	Principalmente asociados al germen, pericarpio y aleurona.	Compiten con los sitios de absorción del colesterol y por consiguiente son considerados como hipocolesterolemicos y previsores de enfermedades cardiovasculares.
Fibra	Soluble como arabinosilanos y hemicelulas solubles	Principalmente asociada al pericarpio.	Mejora función gastrointestinal, incrementa la viscosidad del bolo alimenticio y reduce el índice glicémico. Reduce el riesgo de diabetes e hipercolesterolemia. Efecto prebiótico generando ácidos grasos volátiles.
Ácido fitico inositol	Inositol	Principalmente asociado a pericarpio y aleurona.	Considerado como antioxidante y con propiedades anticancerígenas de mama, colon, hígado, leucemia, próstata y sarcomas.
Ácidos grasos poliinsaturados	Ácidos linoleico (18:2 ω6) y linolénico (18:3 ω3)	Principalmente asociada al germen.	Ayudan a reducir triglicéridos y colesterol sanguíneo. Estos ácidos grasos son convertidos en prostaglandinas y otros ácidos grasos como EPA y DHA.
Fosfolipidos	Fosfatidil colina, fosfatidil etanolamina, fosfatidil inositol, fosfatidil serina	Principalmente asociados al germen.	Esenciales para el funcionamiento apropiado de las membranas celulares y de las neuronas cerebrales. Previenen el envejecimiento celular y el alto colesterol. La colina es esencial para producir acetil colina considerada como el principal neurotransmisor.

Continuación Tabla 10

Compuesto nutracéutico		Estructura anatómica	Efecto preventivo o terapéutico
Familia	Clase		
Vitaminas	Tocoferoles	Principalmente asociados al germen.	Los tocoferoles son antioxidantes. El α -tocoferol o vitamina E es considerado como la segunda línea de defensa contra el estrés oxidativo que previene enfermedades cardiovasculares, alto colesterol y todo tipo de cáncer. Además ayudan a mejorar la capacidad mental y función cerebral.
	Ácido fólico	Principalmente asociados a la capa aleurona.	Previene abortos y los defectos de tubo neural y malformaciones en bebés. Ayuda a reducir los niveles de homocisteína y por ello previene enfermedades cardiovasculares.
Policosanoles o ceras	Octacosanol, tricontanol, hexacosanol, dotriacontanol	Principalmente asociados al germen y pericarpio.	Reducen lípidos séricos, colesterol y la agregación de plaquetas.

3.3. Usos del maíz

El maíz morado no sólo se puede emplear como fuente de compuestos bioactivos, sino que también puede tener diversas aplicaciones, como las tienen el maíz blanco y amarillo y de acuerdo con Reyes en 1990, el maíz tiene múltiples usos que se pueden agrupar en los siguientes rubros:

1. Grano
 - Alimentación humana
 - Alimentación del ganado
 - Materia prima en la industria
 - Semilla
2. Planta
 - Forraje verde
 - Ensilado
 - Rastrojo, forraje tosco
 - Materia orgánica al suelo

3. Mazorca

Elote- alimento humano

Forraje tosco

Olote (combustible)

El maíz es el único entre los cereales que se puede consumir como verdura (elote y jilote) y grano seco (mazorca), y es también el único que una enfermedad como es el hongo, conocido como cuitlacoche es consumido como un manjar. Una vez nixtamalizado, las formas en que se puede preparar son legendarias ya que existen diferentes tipos de tortillas, tamales, gorditas, tostadas, atoles, pozol y pozole (Perales, 2009).

El maíz morado, también se puede emplear para diversos antojitos como los ya mencionados; además de que se pueden utilizar los estigmas (pelo) de las mazorcas para uso diurético.

En México este tipo de maíz es muy común que se consuma de forma indirecta, es decir, como forraje para la alimentación de vacunos, porcinos, aves y otros animales.

En Perú, donde el consumo del maíz morado tiene milenios, se hace principalmente como elote hervido o maíz tostado, tamales de elote sin nixtamalizar (Perales, 2009); pero sobre todo su consumo más popular es como colorante natural para la “mazamorra morada” y la “chicha” (Mendoza *et al.*, 2007).

A nivel industrial se usa para obtener colorante del olote y brácteas, debido a su contenido de antocianinas. Dicho pigmento es usado a nivel industrial como insumo para la coloración de bebidas, productos lácteos, productos de panadería, productos vegetales, conservas de pescado, grasas, aceites, mermeladas, jaleas, frutas confitadas, frutas en almíbar, jarabes de frutas, sopas, almíbar; también se usa para teñir tejidos y en la industria de cosméticos (Risco *et al.*, 2007).

El grano se puede aprovechar para la extracción de almidones y/o derivados o en la elaboración de alimentos balanceados para animales.

3.3.1. Subproductos

Polvo colorante

El polvo de maíz morado es el producto de la molienda del maíz morado; tiene un fino tamaño de partícula que es en gramos para el tema comercial y alto contenido de antocianina. Generalmente se envasa en bolsas de polietileno de baja densidad y en la figura 13 se puede observar como es polvo de este colorante (Risco *et al.*, 2007).

Antocianinas

La antocianina proveniente del maíz morado es un tipo de flavonoide complejo. Es un pigmento procesado y purificado que se obtiene de los granos, del polvillo y principalmente del olote y brácteas (Risco *et al.*, 2007).

Nutracéutico

Como se ha mencionado anteriormente el maíz morado contiene una gran variedad de compuestos fenólicos (antioxidantes), fibra (prebiótico), vitaminas, ácidos grasos, carbohidratos, entre otros compuestos que pueden ser empleados para la prevención de enfermedades crónico degenerativas, en la composición de alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos.



Figura 13. Productos maíz morado

3.3.2. Usos industriales del maíz

El maíz morado, además de ser una fuente importante de colorante natural también puede tener otros usos en la industria, ya que es una fuente de almidón y de este se pueden obtener varios subproductos, esto se describe en la figura 14.

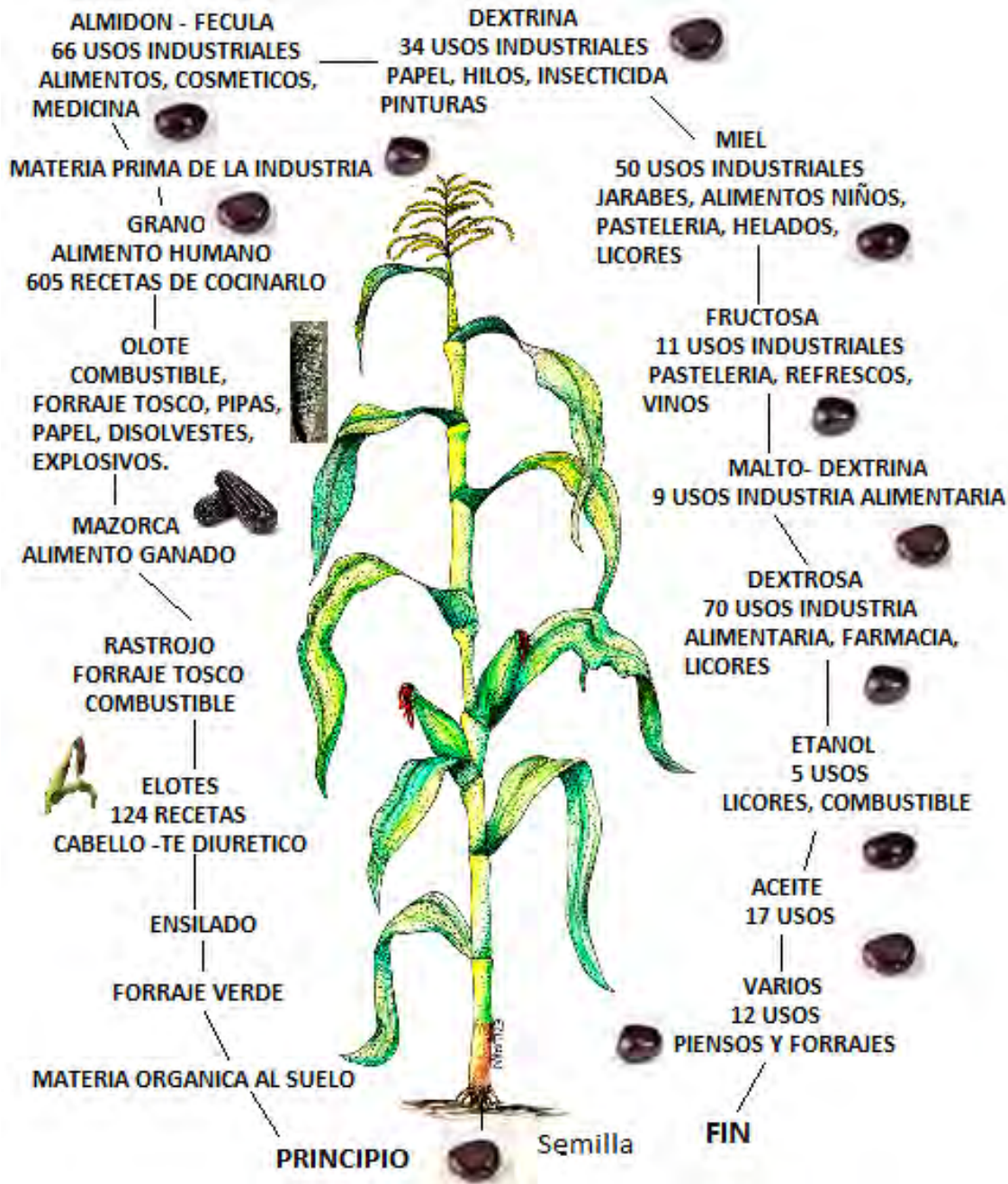


Figura 14. Otros usos del maíz (Reyes, 1990)

Como se puede observar el maíz morado puede tener múltiples usos en la industria, ya que es un maíz harinoso con un porcentaje considerable de almidón y de este se puede obtener: germen, gluten, fécula, dextrina, miel, fructuosa, malto-dextrina, dextrosa, etanol, aceite, combustible, entre otros y cada uno de estos productos tienen usos muy importantes en diferentes industrias y sobre todo en las de alimentos.

3.4. Rendimientos y Producción de maíz en Tehuacán

El municipio de Tehuacán se localiza en la parte sureste del Estado de Puebla



(figura 15). Sus coordenadas geográficas son los paralelos 18°22'06" y 18°36'12" de longitud norte, y los meridianos 97°15'24" y 97°37'24" de longitud occidental. Sus colindancias son al Norte con Tepanco de López, Santiago Miahuatlán, Nicolás Bravo y Vicente Guerrero, al Este con Vicente Guerrero, San Antonio Cañada y Ajalpan, al Sur con San Gabriel Chilac, Zapotitlán y Altepexi y al Oeste con Zapotitlán, San Martín Atexcal, Juan N. Méndez y Tepango de López.

Figura 15. Mapa del Estado de Puebla

De acuerdo a Ortiz-Torres *et al.*, 2010 el estado de Puebla tiene una amplia diversidad de maíces nativos y aunque no hay un dato preciso registrado actualmente de rendimientos y producción de maíz nativo, en el 2010 se sembraron 14,178 ha con maíz para elote, donde la zona con mayor producción es el Valle de Tehuacán, específicamente en los municipios de Altepexi, Tehuacán, San Sebastián Zinacatepec, San Gabriel Chilac y Ajalpan. En

conjunto, estos municipios concentraron 9,027 ha, el 63.7 % de la superficie estatal cultivada para elote. El volumen de la producción de tales municipios fue de 77,325 t, con un rendimiento de 8.6 t·ha⁻¹. La disponibilidad de riego y las temperaturas favorables aún en invierno permiten que en el Valle de Tehuacán se observe maíz para diferentes etapas de desarrollo de la planta, en las diferentes estaciones del año. El cultivo de maíz es redituable para los productores porque, además de vender el elote, se comercializa la planta como forraje y en algunos casos, cuando se retarda la cosecha y se deja que madure la planta para la producción de grano, se aprovechan también las brácteas de la mazorca (llamadas localmente 'totomoxtle'), con lo que se incrementan los ingresos económicos del productor.

4. *Hipótesis*

Se espera que los maíces morados de la región de Tehuacán, tengan concentraciones equivalentes de compuestos bioactivos (antocianinas, fenoles, flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y xilanos) a los reportados en diferentes maíces pigmentados de otras regiones.

5. *Objetivos*

5.1. **Objetivo General**

Identificar y cuantificar el perfil de los siguientes grupos de compuestos bioactivos como son: antocianinas, fenoles, ácidos hidroxicinámicos, flavonoides y xilanos en maíz pigmentado nativo, tipo cónico morado de la región de Tehuacán, realizando la identificación de estos compuestos bioactivos en diferentes órganos del maíz como son: tallo, hoja de tallo, hoja de milpa, inflorescencia, totomoxtle, grano, olote y pelo (estigma), en tres etapas de crecimiento: jilote, elote y mazorca.

5.2. **Objetivo Particular**

- Cuantificar mediante método espectrofotométrico antocianinas, fenoles y flavonoides totales del grano, olote, totomoxtle, pelo, inflorescencia, tallo, hoja de tallo y hoja de la milpa en sus tres estados de crecimiento.
- Identificar el perfil de antocianinas por CCF.
- Identificar el perfil de ácidos hidroxicinámicos por CCF.
- Medición de antocianinas por HPLC.
- Obtención de Xilanos totales en peso seco.

6. MATERIALES Y EQUIPOS

Materiales

- Matraces Erlenmeyer de 25, 50, 150, 225, 250 y 500 ml
- Matraces kitazato de 25, 50, 250 y 500 ml
- Matraces bola de 50, 100, 250 y 500 ml
- Probetas de 10, 25, 50 y 100 ml
- Embudo büchner
- Espátula
- Agitador
- Agitador magnético
- Parrilla eléctrica (Thomas Scientific (Hotplate/Stirrer))
- Embudo de separación de 25 y 250 ml
- Vasos de precipitados
- Placas para cromatografía en capa fina (DC-Fertig folien ALUGRAM® Xtra SIL G/ UV₂₅₄)
- Papel filtro (4 Qualitative Circles 110 mm, cat N° 1004 110, Whatman™)
- Filtros de papel nylon
- Lámpara UV como revelador (254nm – 366nm, CAMAG)

Reactivos

- Ácido acético (Sigma-Aldrich, 35%)
- Ácido clorhídrico (Fluka, 34-35%)
- Ácido fórmico (Sigma-Aldrich, ≥95%)
- Acetato de etilo (Meyer, ≥99.5%)
- Acetona (Meyer, ≥99.5%)
- Etanol (Ferandelh, S.A DE C.V., 96%)
- Hexano (Meyer, ≥98.5%)

- Hidróxido de sodio (Meyer, $\geq 97\%$)
- Metanol (Meyer, $\geq 99.8\%$)
- Nitrito de sodio (Sigma-Aldrich, 99.99%)
- Tricloruro de aluminio (J.T. Baker, 99.9%)
- Reactivo de Folin-Ciocalteu (Hycel de México, S.A. DE C.V.)
- Buffer de Cloruro de Potasio (0.025 M, pH 1)
- Buffer de Acetato de Sodio (0.4 M, pH 4.5)
- Catequina (Sigma-Aldrich, 98%)
- Ácido Gálico (Técnica Química S.A., 99.5%)

Equipos

- Molino Krups GX410011V
- Licuadora Osterizer
- Sonicador Branson 3510 potencia: 100W, 42Hz
- Rotavapor R-215, con baño de calentamiento B-491, controlador de vacío V-850, Bomba de vacío V-700. Marca Büchi.
- Balanza analítica OHAUS AP1105
- Cromatógrafo de líquidos alta resolución HPLC: Autoinyector Waters 2707, bomba binaria Waters 1525 marca Waters, detector UV Waters 2478 y Desgasificador (Waters In-Cine Degasser AF) (Software Empower)
- Espectrofotómetro GBC-CINTRAL

7. METODOLOGÍA

7.1. Preparación de muestras

Se analizaron tres etapas de crecimiento de la planta del maíz morado nativo, proveniente de Tehuacán, que son los estados de maduración del fruto en los que se consume. Estos estados de crecimiento son: Jilote (maíz tierno, cuyo nombre hace referencia al pelo (estigma)), Elote (maíz con grano lechoso) y Mazorca (maíz con grano maduro). Se evaluaron todos los órganos de la planta del maíz morado, ya que se trabajó con tallo, hoja de tallo, inflorescencia masculina, pelo (estigma), olote, totomoxtle, grano y hoja de milpa, como se pueden observar en la figura 16. Estas muestras fueron secadas en estufa convencional a 45°C por 72 horas, a excepción del grano que fue liofilizado, posteriormente todas las muestras fueron pulverizadas en un molino Krups, Modelo GX410011V, finalmente se tamizaron en una tamiz N° 60.



Figura 16. Muestras de la planta de maíz morado analizadas

7.2. Identificación de antocianinas por CCF

Se utilizó el método de CCF, de acuerdo al reportado por Fernández (2014). Se realizó una cromatoplaqueta para cada etapa de crecimiento (Jilote, Elote y Mazorca); se utilizó una placa de sílice gel, un sistema de elución butanol, ácido acético y agua destilada en una relación (6:1:3 v/v). Como estándar se utilizó un extracto metanólico de fresa con una pureza de 80%, el cual contiene mayoritariamente

pelargonidina-3-glucósido. Los extractos para los puntos de aplicación se prepararon adicionando 10 mL de metanol, ácido acético y agua destilada en una relación (80:5:20 v/v) en un matraz Erlenmeyer de 25 mL, al cual se le adicionó un gramo de la muestra, se colocó en el sonicador por 20 minutos, después se filtró con papel filtro. La identificación cualitativa de las antocianinas se evaluó de acuerdo a los valores de Rf y coloración, presentada en cada muestra.

7.3. Medición de antocianinas por HPLC

Para la identificación de antocianinas por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), se siguió la metodología empleada por Fernández (2014). El extracto que se inyectó fue en una relación 1:10 con metanol, agua destilada y ácido acético en una relación (80:20:5 v/v). La separación de las antocianinas se llevó a cabo en una columna ODS Hypersil Gold (250x4.5 mm, 5 µm) usando un sistema HPLC con detector dual de absorbancia. El flujo fue de 1.0 mL/min, se usó un sistema de gradiente utilizando como fase móvil dos disolventes los cuales fueron A: H₂O/ACN/Ác Fórmico (87:3:10) y B: ACN. El gradiente utilizado fue de 0-45 min 97% A y 3%B; 45-46 min 75% A y 25% B; 46-47 min 70% A y 30% B; 47-56 min 97% A y 3% B.

7.4. Antocianinas totales

Wrolstad *et al.*, 2005, se determinó el contenido de antocianinas totales, por un método de diferencia de pH. En matraces Erlenmeyer de 25 mL, se pesaron de 0.5 a 1.0 gramos de cada una de las muestras (grano, olote, totomoxtle, pelo (estigma), inflorescencia masculina, hoja de tallo, tallo, hoja de milpa), se adicionaron 10 mL de mezcla de disolventes de metanol, H₂O y ácido acético en una relación (80:20:5 v/v). Para tener una relación soluto-disolvente 1:10. Cada una de las muestras se sónico durante 20 minutos, posteriormente se filtraron los extractos en papel filtro (110 mm) para eliminar cualquier partícula sólida, con la ayuda de una bomba de vacío. Los extractos obtenidos se colectaron en tubos de ensayo de 10 mL. Se prepararon por triplicado 200 µL del extracto de cada

muestra analizada y 1800 μL de buffer de acetato de sodio (pH 4.5). A otro triplicado de extractos con 200 μL cada uno se le adicionaron 1800 μL de buffer de cloruro de potasio (pH 1). Con las soluciones preparadas se determinó el contenido de antocianinas, utilizando un espectrofotómetro leyendo la absorbancia a dos longitudes de onda (510 nm y 700 nm). Se calculó la absorbancia final de acuerdo con la siguiente expresión:

- $A = (A_{510} - A_{700})$ a pH 1.0 - $(A_{510} - A_{700})$ a pH 4.5

La concentración de pigmentos monoméricos en el extracto se expresa en cianidina-3-glucósido.

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/g)} = \frac{A \times PM \times FD \times 1000}{(\epsilon \times l)}$$

- A = Absorbancia
- PM = peso molecular
- FD = Factor de dilución
- ϵ = absortividad molar

La concentración final de antocianinas (mg/g) se calcula en base al volumen de extracto y peso de muestra. Se expresa en cianidina-3-glucósido (PM: 449.2 y ϵ : 26900(L cm^{-1} mol^{-1}) (Kuskoski *et al.*, 2005).

7.5. Identificación de ácidos hidroxicinámicos por CCF

De acuerdo con Smith (1965), se elaboró una cromatoplaaca para cada una de las etapas de crecimiento evaluadas (Jilote, Elote y Mazorca), se utilizó una placa de gel de sílice, un sistema de elución de hexano, acetato de etilo y ácido acético en una relación (5:5:2 v/v). En el revelado de las placas se emplearon como reveladores DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y sulfato cérico, además de la lámpara de luz ultravioleta. Los estándares empleados fueron, vainillina (Sigma-

Aldrich, 99%), ácido ferúlico (Sigma-Aldrich, $\geq 99\%$), ácido cumárico (Sigma-Aldrich, 99%), ácido cafeico (Sigma-Aldrich, 99%) y ácido sinápico (Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$). Los extractos que se emplearon para los puntos de aplicación en la cromatoplaca, fueron de las muestras de grano, olote, totomoxtle, pelo (estigma), inflorescencia masculina, tallo, hoja de tallo y hoja de milpa de cada una de las etapas de crecimiento analizadas. Estos extractos provienen de la extracción líquido-líquido con acetato de etilo que se describirá más adelante. Para el desarrollo de la cromatoplaca, los extractos se aplican puntualmente con un capilar en un extremo de la placa. La identificación de tales compuestos se suele realizar comparando sus R_f con los compuestos de referencia (patrones) de naturaleza química conocida.

7.6. Fenoles totales

Estudios realizados por Kuskoski *et al.*, 2005, donde la cantidad de fenoles totales se determinó con el método de Folin-Ciocalteu, usando ácido gálico como estándar, con lo que se construyó una curva patrón a una concentración de 0.1 (mg/ml), dando un $r^2 = 0.9885$. El procedimiento para la evaluación de fenoles totales fue el siguiente, en un matraz Erlenmeyer de 25 mL se pesaron de 0.5 a 1.0 gramos de las muestras a evaluar (grano, olote, totomoxtle, pelo (estigma), inflorescencia masculina, tallo, hoja de tallo y hoja de milpa), se adicionaron 10 mL de la mezcla de disolventes de metanol, H_2O y ácido acético en una relación (80:20:5 v/v). Cada una de las muestras se sónico por 20 minutos, posteriormente se filtraron en papel filtro (110 mm), con ayuda de una bomba de vacío. Con el extracto obtenido, se adicionó por triplicado a tubos de ensayo de 10 mL, una alícuota de 100 μL de muestra, 2 mL de carbonato de sodio al 2% (se agitó durante 2 minutos), se realizó una dilución (1:1) con el reactivo de Folin-Ciocalteu y agua destilada, adicionando 50 μL de cada uno. Se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad, la absorbancia se leyó a una longitud de onda de 750 nm. Los fenoles totales fueron expresados como en miligramos de ácido gálico (GAE) por gramo de muestra.

7.7. Flavonoides totales

Se evaluaron siguiendo el procedimiento de Silva *et al.*, 2013, el cual determinó el contenido de flavonoides totales; usando catequina (Sigma-Aldrich, 98%) como estándar, con lo que se construyó una curva patrón con una concentración de 1 (mg/mL), dando un $r^2= 0.9898$. El procedimiento fue el siguiente, en matraces Erlenmeyer de 25 mL se pesaron de 0.5 a 1.0 gramos de cada una de las muestras por evaluar (grano, olote, totomoxtle, pelo (estigma), inflorescencia masculina, tallo, hoja de tallo y hoja de milpa), se adicionaron 10 mL de mezcla de disolventes de metanol, H₂O y ácido acético en una relación (80:20:5 v/v). Cada una de las muestras se sónico por 20 minutos, posteriormente se filtraron con papel filtro (110 mm), con ayuda de una bomba de vacío. Con los extractos obtenidos se adicionaron a tubos de ensayo de 20 mL, alícuotas de 1 mL de cada una de las muestras, 1400 µL de agua destilada, 300 µL de nitrito de sodio al 5 % (se dejó reposar 5 minutos), 300 µL de cloruro de aluminio al 10%, 2 mL de hidróxido de sodio 1M y 5 mL de agua destilada. Se realizó un blanco de reactivos con 2400 µL de agua destilada, 300 µL de nitrito de sodio al 5 % (se dejó reposar 5 minutos), 300 µL de cloruro de aluminio al 10%, 2 mL de hidróxido de sodio 1M y 5 mL de agua destilada. La absorbancia se leyó a una longitud de onda de 415 nm. El contenido de flavonoides totales se expresó en equivalentes de catequina por gramos de muestra.

7.8. Ácidos hidroxicinámicos y Xilanos totales

Siguiendo la metodología modificada de Rostro (2014), en matraces Erlenmeyer de 25 mL, se pesaron de 0.5 a 1.0 gramos de cada una de las muestras (grano, olote, totomoxtle, tallo, hoja de tallo, pelo, (estigma), inflorescencia masculina, hoja de milpa) y se adicionaron 10 mL de hidróxido de sodio al 2.5 M. Se realiza la extracción en sonicador durante 30 minutos. Posteriormente se filtran con ayuda de una gasa. Al extracto obtenido se le ajusta el pH a 3.5 con HCl, con ayuda de un potenciómetro. Seguidamente se realiza una extracción líquido-líquido con

acetato de etilo, en una relación (2:1 v/v). Se agitan por un minuto y se dejan que se separen las fases. La fase orgánica se separa por decantación y se coloca en un matraz de bola de 100 mL, el disolvente (acetato de etilo) se elimina en un rotavapor a vacío a 45°C, dejando un volumen de 5 mL, para la identificación del perfil de los ácidos hidroxicinámicos. La fase acuosa se separa por decantación, colectándola en un matraz Erlenmeyer de 150 mL. Posteriormente se le adiciona acetona en relación (1:1 v/v) y 20% de etanol. Se deja en refrigeración a 4°C por 12 horas. Los precipitados obtenidos (xilanos), se separan por filtración en papel nylon (a peso constante). Los residuos de xilanos se secan en estufa convencional a 45°C, durante 20 minutos y para obtener su peso seco de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$(peso\ papel\ (g) + xilanos(g)) - (peso\ papel(g)) = \mathbf{g\ xilanos\ totales\ (b.s.)}$$

7.9. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante el programa TI-Nspire™ CX Student Software. Se calculó la desviación estándar y se realizó el análisis de varianza (ANOVA), para conocer si hay diferencia significativa entre las muestras evaluadas en los métodos de antocianinas totales, fenoles totales, flavonoides totales y xilanos totales, considerando un nivel de significación del 5%. (ANEXO III).

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Preparación de la muestra

Esta sección consistió en la preparación de las muestras del maíz morado en sus tres etapas de crecimiento seleccionadas: Jilote, Elote y Mazorca, que son etapas donde el fruto de la planta del maíz suele consumirse. Evaluando toda la planta del maíz morado nativo, con el motivo de encontrar nuevas fuentes de colorantes naturales (antocianinas) y compuestos bioactivos, es de suma importancia la conservación de las muestras para no tener pérdidas de compuestos bioactivos por un mal manejo y es por eso que las muestras se prepararon con tratamientos adecuados. Se utilizó el método de liofilización para reducir la humedad en el grano y con la finalidad de que no tuviera pérdidas en su valor nutricional y por consiguiente en los compuestos bioactivos, ya que el método de liofilización de acuerdo con Ramírez (2006), es un método que no altera la estructura físico-química del grano de maíz, permite su conservación indefinida sin cadena de frío, con menos del 15% de humedad y alta estabilidad microbiológica. A diferencia de lo que ocurre en el secado por calor, con la liofilización del alimento el encogimiento es mínimo, el aspecto, la textura, el sabor y el aroma no se pierden, se intensifican y se mantienen las características nutricionales. También Cervera *et al.*, 2013 menciona que los métodos de secado convencionales llevan a la exposición del alimento a altas temperaturas y/o largos tiempos de proceso, que pueden afectar de forma negativa el alimento, que en este caso sería el grano del maíz morado. En cuanto al olote, totomoxtle, inflorescencia masculina, pelo (estigma), tallo, hoja de tallo y hoja de milpa se secaron en estufa convencional para aumentar la vida útil y disminuir el potencial de desarrollo de microorganismos y reacciones químicas indeseables como lo ha reportado Valencia *et al.*, 2011 en su estudio probando diferentes métodos de secado. Las condiciones de tiempo y temperatura son importantes cuando se trabaja con alimentos, por lo tanto la temperatura de secado a 45°C por 72 horas, se

estableció de acuerdo al estudio realizado por Fernández (2014), para la conservación de las antocianinas y compuestos bioactivos, evitando la degradación de estos compuestos y en especial de las antocianinas que son muy susceptibles al calor y temperaturas altas. Se redujo el tamaño de partícula de todas las muestras con un molino Krups, Modelo GX410011V y se tamizaron en un tamiz N° 60, debido a que un tamaño de partícula pequeño facilita la extracción de compuestos bioactivos, en estudios previos realizados por López *et al.*, 2009 se describen como tamaños de partícula pequeños facilitan los tratamientos y aseguran mayores rendimientos en los compuestos bioactivos, en cambio tamaños de partícula grande (tamiz<60) pueden dar lugar a limitaciones difusionales, por lo que lo ideal es tener un tamaño de partícula en un intervalo de 0.5 a 10 mm.

8.2. Identificación de antocianinas por CCF

La técnica de cromatografía en capa fina (CCF), se utilizó con el fin de tener un método sencillo, rápido y de bajo costo para la identificación cualitativa de antocianinas y poder analizar coloración y factor de retención. En la figura 17, se presentan los matraces con los extractos metanólicos de las muestras sin purificar (grano, olote, totomoxtle, pelo (estigma), inflorescencia masculina, tallo, hoja de tallo y hoja de milpa) para la cromatografía en capa fina.



Figura 17. Extractos de las diferentes muestras. A= tallo, B= grano, C= totomoxtle, D= inflorescencia masculina, E= hoja milpa, F=olote, G= pelo (estigma) y H=hoja de tallo

Jilote

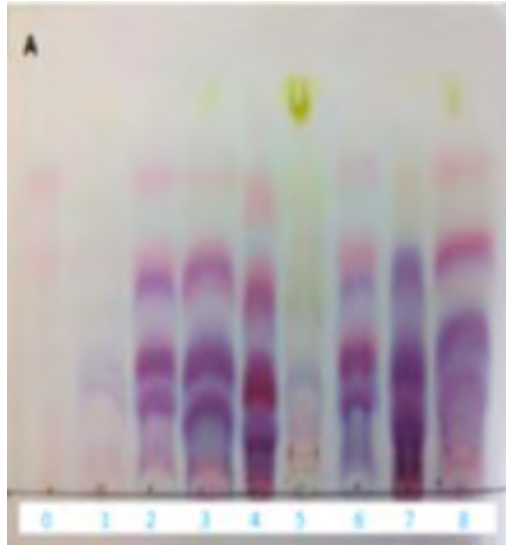


Figura 18. 0= Estándar extracto de fresa, 1= tallo, 2= grano, 3= totomoxtle, 4= inflorescencia masculina, 5= hoja de milpa, 6= olote, 7= pelo (estigma) y 8= hoja de tallo

En esta etapa de crecimiento del maíz morado, se obtuvieron los siguientes Rf's: tallo (0.37), grano (0.71), totomoxtle (0.71), inflorescencia masculina (0.70), olote (0.71), pelo (estigma) (0.70), hoja de tallo (0.71) y hoja de milpa (0.86), donde también se pueden observar las antocianinas aciladas en la parte inferior y las no aciladas en la parte superior de la CCF que se presenta en la figura 18. Por otra parte, tallo tiene el Rf más pequeño con una coloración morada lo que podría indicar presencia de una antocianina diglicosilada o acilada muy polar, en cuanto a la inflorescencia masculina, pelo (estigma), grano, totomoxtle, hoja de tallo y olote, presentaron pelargonidina-3-glucósido con un Rf entre 0.70 y 0.71 el cual coincide con el Rf del estándar del extracto de fresa y presentan una coloración entre naranja y roja pudiéndose confirmar la presencia de pelargonidina por ser el estándar o tratarse también de cianidina o peonidina. Además se puede observar que no son las únicas antocianinas presentes en estas muestras pues en la placa se observan otras antocianinas aciladas y no aciladas lo que hace que estos resultados coincidan con lo reportado en otros estudios de maíces morados, donde Espinosa (2008), reportó la presencia de cianidina-3-glucósido,

pelargonidina-3-glucósido y peonidia-3-glucósido con diferentes acilaciones en maíz morado mexicano y peruano. Garzón (2008), reporta que una coloración naranja pertenece a pelargonidina y una coloración entre naranja y roja a cianidina o peonidina. Por otro lado Yang *et al.*, 2009 encontró en granos de maíces morados provenientes de Bolivia y Perú tres tipos de antocianinas no aciladas: cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido. Escalante *et al.*, 2013, indicó la presencia de cianidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido en flores, hojas y olote del maíz morado. Por otra parte, Fernández (2014), encontró presencia de antocianinas aciladas y no aciladas en maíz morado de Ixtenco reportando cianidina-3-glucósido y cianidina-3-6-malonil-glucósido y para hoja de milpa se obtuvo un Rf de 0.86, que por la coloración verde que se presenta en la placa se cree que se trata de una clorofila, ya que en esta etapa de crecimiento las hojas de la planta del maíz necesitan de la clorofila para su desarrollo y también en la placa se observa que esta muestra presenta antocianinas aciladas polares.

Elote

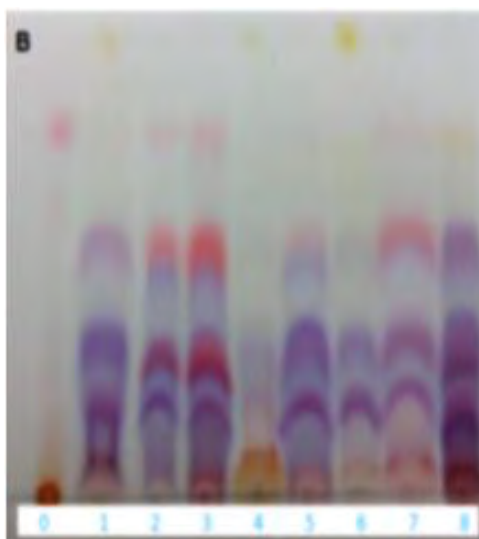


Figura 19. 0= Estándar extracto fresa, 1= hoja de tallo, 2= grano, 3= olote, 4= tallo, 5= inflorescencia masculina, 6= hoja de milpa, 7= totomoxtle y 8= pelo (estigma)

En esta etapa de crecimiento del maíz morado existe una mayor separación en las fracciones de antocianinas presentes, mostrándose antocianinas aciladas y no aciladas, se obtuvieron los siguientes valores de Rf's: tallo (0.40), hoja de tallo (0.73), grano (0.75), olote (0.75), inflorescencia masculina (0.61), hoja milpa (0.60), totomoxtle (0.75) y pelo (estigma) (0.75), estos Rf's se pueden observar en la CCF presentada en la figura 19. En el que tallo vuelve a presentar el Rf más pequeño con un valor de 0.40 y una coloración morada, presentándose de nuevo antocianinas de tipo aciladas, diglicosiladas y polares, en cuanto a hoja de milpa comenzó a presentar más desarrollo de antocianinas y esto se reflejó en el valor de Rf con un valor de 0.60 con una coloración morada, este resultado puede ser de antocianinas diglicosiladas, no aciladas y poco polares. La inflorescencia masculina también presentó antocianinas no aciladas con baja polaridad con una coloración morada en sus diferentes fracciones de la separación, siendo la última la que presenta una coloración roja pudiéndose tratar de alguna acilación de cianidina o peonidina con un valor de Rf de 0.61. En cuanto a grano, olote, totomoxtle, hoja de tallo y pelo (estigma) con un valor de Rf de 0.73- 0.75 y una coloración entre naranja y roja pudiera ser que sigue presentando pelargonidina-3-glucósido porque vuelven a coincidir con el estándar del extracto de fresa, pero también podría tratarse de cianidina-3-glucósido o peonidina-3-glucósido porque de acuerdo con lo reportado por Fernández (2014), un valor de Rf de 0.75 es característico de antocianinas como cianidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido. Además Escalante *et al.*, 2013 menciona que las antocianinas no aciladas de mayor abundancia en los maíces pigmentados son cianidina-3-glucósido (70%), pelargónidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido, especificando que el maíz morado es uno de los maíces pigmentados con más antocianinas y en cuanto al olote y grano presentan la misma coloración en la separación de sus fracciones de antocianinas, lo que coincide con Yang y Zhai (2010), donde mencionan que en cultivos de maíz morado chino muestras como grano y olote presentan el mismo perfil de antocianinas y sus diferentes homólogos de malonil.

Mazorca

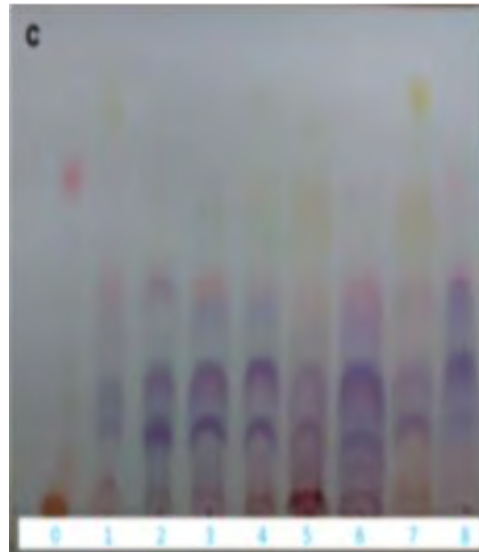


Figura 20. 0= Estándar extracto de fresa, 1= tallo, 2= hoja de tallo, 3= totomoxtle, 4= inflorescencia masculina, 5= pelo (estigma), 6= olote, 7= hoja de milpa y 8= grano

En esta última etapa de crecimiento del maíz morado, sigue habiendo presencia de antocianinas aciladas y no aciladas y la separación de las fracciones de antocianinas está más marcada y poco colorida, esto podría indicar que en esta etapa de crecimiento hay una disminución en la síntesis de antocianinas. Los valores de Rf's fueron los siguientes: tallo (0.60), hoja de tallo (0.59), totomoxtle (0.60), inflorescencia masculina (0.60), pelo (estigma) (0.71), olote (0.60), hoja de milpa (0.91) y grano (0.75), donde estos Rf's se presentan en la CCF presentada en la figura 20. En cuanto al grano parece que presenta cianidina-3-glucósido o peonidina-3-glucósido porque coincide con el valor de Rf reportado por Fernández (2014), donde indica la presencia de esas antocianinas no aciladas. Pelo (estigma) presenta antocianinas de tipo monoglicosiladas, no aciladas, con baja polaridad y una coloración entre naranja y roja con un valor de Rf de 0.71, pudiendo tratarse de cianidina, peonidina o pelargonidina. Para el caso de hoja de tallo, tallo, totomoxtle, inflorescencia masculina y olote con valores de Rf de 0.59 a 0.60 y una coloración morada indican la posibilidad de tener antocianinas no aciladas con baja polaridad. Hoja de milpa presentó un Rf de 0.91 con una coloración verde lo que indica la presencia de alguna clorofila, aunque en la separación de los

compuestos se sigue observando la presencia de antocianinas aciladas polares. Finalmente en esta etapa se sigue coincidiendo con lo reportado por Espinosa (2008), Yang *et al.*, 2009, Yang y Zhai (2010), Escalante *et al.*, 2013 y Fernández (2014), ya que todos mencionan que el maíz morado es característico de poseer antocianinas no aciladas como cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido con sus respectivos homólogos de malonil.

8.3. Medición de Antocianinas mediante HPLC

Dando seguimiento a los resultados obtenidos en cromatografía en capa fina y al estudio de las antocianinas en el maíz morado de Tehuacán, conociendo que los maíces morados son los más estudiados por su concentración de antocianinas y por presentar diferentes derivados de cianidina, pelargonidina y peonidina, se quiso conocer que derivados de estas antocianinas presenta esta variedad, por tanto en esta segunda etapa se identificaron las antocianinas con un análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), realizando solo una inyección utilizando un sistema empleado por Fernández (2014), se partió del extracto con metanol, ácido acético, agua en relación (80:5:20 v/v) en una dilución (1:10), sin purificar, donde el límite de detección fue de 0.0001 y el límite de cuantificación de 0.001. Los resultados obtenidos en los cromatogramas se compararon con los de maíz morado reportados por Harakotr *et al.*, 2014.

JILOTE

Evaluando toda la planta en esta etapa se presentaron 10 tipos de antocianina siendo la mayoría derivados de cianidina, lo que coincide con lo reportado por Salinas *et al.*, 2013, donde reportan que el maíz peruano ha presentado entre 8 y 11 antocianinas, siendo cianidina-3-glucósido, cianidina-3-6-malonil-glucósido y peonidina-3-glucósido los que se encuentran en mayor proporción. En la tabla 11 se podrán observar los resultados obtenidos de las antocianinas identificadas en

los cromatogramas de las muestras evaluadas en la etapa de crecimiento de Jilote.

Tabla 11. Antocianinas identificadas en maíz morado en la etapa de Jilote en HPLC

Muestras	Antocianinas
Grano	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3',6-di malglu), cyd-3-6-sucglu, cyd-3-(3',6-malsucglu) y pn-3-6-sucglu
Olote	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3',6-di malglu), cyd-3-6-sucglu, cyd-3-(3',6-malsucglu) y pn-3-6-sucglu
Pelo (estigma)	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu y cyd-3-(3'',6-di malglu)
Inflorescencia masculina	Cyd-3-6-malglu, pd-3-glu, cyd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3',6-di malglu), cyd-3-6-sucglu, cyd-3-(3',6-malsucglu) y pn-3-6-sucglu
Totomoxtle	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3',6-di malglu) y cyd-3-6-sucglu
Hoja de tallo	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3',6-di malglu), cyd-3-6-sucglu, cyd-3-(3',6-malsucglu) y pn-3-6-sucglu
Tallo	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu y cyd-3-(3',6-di malglu)
Hoja de milpa	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3',6-di malglu), cyd-3-6-sucglu, cyd-3-(3',6-malsucglu) y pn-3-6-sucglu

Haciendo un análisis en cada una de las muestras, se puede decir que se presentan antocianinas aciladas y no aciladas. Con lo que podemos reportar que grano, olote inflorescencia masculina, hoja de tallo y hoja de milpa, presentan el

mismo perfil de antocianinas ya que sintetizaron, cianidina-3-glucósido (cyd-3-glu), pelargonidina-3-glucósido (pg-3-glu), peonidina-3-glucósido (pn-3-glu), cianidina-3-6-malonil-glucósido (cyd-3-6-malglu), pelargonidina-3-6-malonil-glucósido (pg-3-6-malglu), peonidina-3-6-malonil-glucósido (pn-3-6-malglu), cianidina-3-(3',6-dimalonil-glucósido) (cyd-3-(3',6'-dimalglu), cianidina-3-6-succinil-glucósido (cyd-3-6-sucglu), cianidina-3-(3',6-malonil-succinil-glucósido) (cyd-3-(3',6-malsucglu) y peonidina-3-6-succinil-glucósido (pn-3-6-sucglu). Por otro lado muestras como totomoxtle, pelo (estigma) y tallo mostraron un perfil diferente ya que presentaron ausencia de algunas antocianinas para el caso de totomoxtle no sintetizo cianidina-3-(3',6-malonil-succinil-glucósido) y peonidina-3-6-succinil-glucósido, pelo (estigma) no sintetizó cianidina-3-6-succinil-glucósido, cianidina-3-(3',6-malonil-succinil-glucósido) y peonidina-3-6-succinil-glucósido y tallo no desarrolló peonidina-3-glucósido, cianidina-3-6-succinil-glucósido, cianidina-3-(3',6-malonil-succinil-glucósido) y peonidina-3-6-succinil-glucósido. En cuanto a las antocianinas encontradas en esta variedad de maíz morado coinciden con las reportadas en otras variedades de maíces morados de otras regiones como la variedad morada de Tailandia estudiada por Harakotr *et al.*, 2014 en diferentes estados de maduración. Además Yang y Zhai (2010) que reportaron que el olote del maíz morado cultivado en China, presenta cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido, además de diferentes homólogos de malonil. Por otra parte, Yang (2009) y De Pascual-Teresa (2002), también coinciden con los autores anteriores en cuanto a la presencia de las antocianinas aciladas y no aciladas encontradas en maíz morado.

Siendo cianidina-3-glucósido y cianidina-3-6-malonil-glucósido antocianinas características del maíz morado y encontradas en mayor proporción se cuantificaron con el fin de conocer las concentraciones que se presentan en cada órgano de la variedad de maíz morado de Tehuacán y obtener nuevos estándares de antocianinas en la etapa de Jilote. Sabiendo que cianidina-3-glucósido es una antocianina no acilada y cianidina-3-6-malonil-glucósido una antocianina acilada.

Tabla 12. Concentración de C3G Y C36G en Jilote

Muestras Jilote	C3G (mg/mL extracto mta)	C36G (mg/mL extracto mta)
Grano	0.257	0.730
Olote	0.184	0.575
Totomoxtle	0.258	1.409
Pelo (estigma)	0.996	3.320
Inflorescencia masculina	0.786	1.439
Tallo	0.005	0.002
Hoja de tallo	0.184	0.842

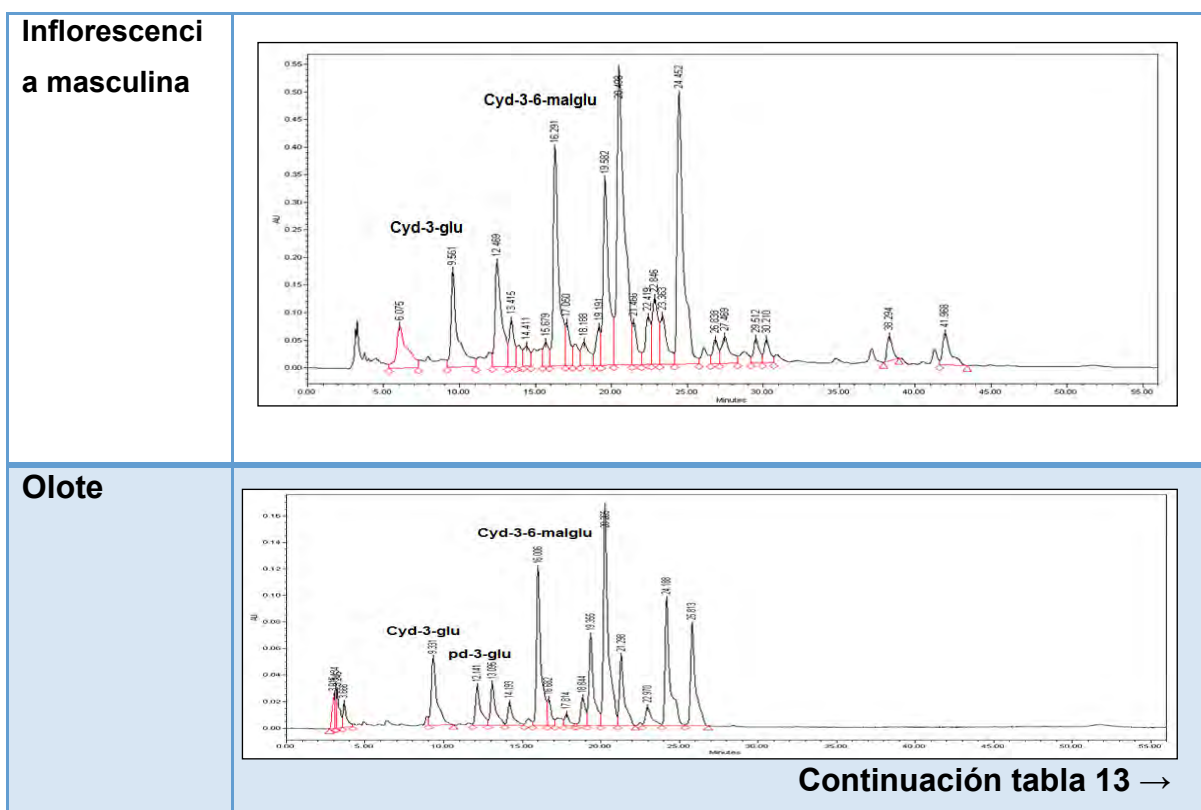
Los estándares de C3G y C36G se obtuvieron a partir de un extracto metanólico de cebolla morada, los cuales presentaron un % de pureza de 92 y 86, con tiempos de retención de 9.45 y 16.08 minutos respectivamente, de acuerdo a lo reportado por Fernández (2014). En la tabla 12, se presentan las concentraciones de C3G y C36G obtenidas de una inyección para cada una de las muestras, donde se puede observar que pelo (estigma) presenta las concentraciones más altas de C3G y C36G con 0.996 y 3.320 mg/mL respectivamente, siguiéndole inflorescencia masculina con 0.786 mg/mL de C3G y 1.439 mg/mL de C36G y el desarrollo considerable de estas antocianinas puede ser debido a que son órganos de polinización y de acuerdo con Mendoza (2012), las antocianinas le imparten una coloración llamativa a los órganos polinizadores, haciendo que actúen como mecanismo de atracción de animales polinizadores, llevando a cabo la interacción planta-animal, estos resultados los hacen excelentes fuentes de C3G y C36G. En cuanto a totomoxtle, hoja de tallo, grano y olote presentan concentraciones favorables de C36G con 1.409, 0.842, 0.730 y 0.575 mg/mL respectivamente y en cuanto a la C3G presentaron concentraciones de 0.258, 0.184, 0.257 y 0.184 mg/mL. Por otra parte en este estado de crecimiento, la síntesis de estas antocianinas en tallo no se vio muy favorecida debido a que presento concentraciones de C3G y C36G de 0.005 y 0.002 mg/mL.

Los resultados reportados en grano y olote coinciden con lo reportado por Fernández (2014), en maíz morado de Ixtenco en un primer tiempo de desarrollo, donde obtuvo una mayor concentración de C36G con respecto a C3G en estos órganos.

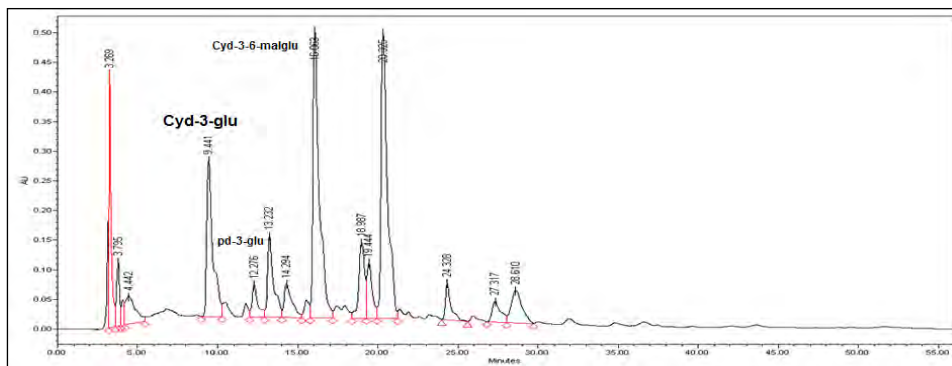
Y Harakotr *et al.*, 2014 en un primer tiempo de maduración en maíz morado cultivado en Tailandia, reporta concentraciones de C3G de 107.41µg/g en peso seco, lo que equivale a 0.107 mg/g y este resultado nos sirve como una referencia para conocer las concentraciones de otro maíz morado.

A continuación en la tabla 13, se mostraran algunos de los cromatogramas obtenidos en esta etapa de crecimiento, donde se podrán observar las muestras más representativas por su concentración de C3G y C36G.

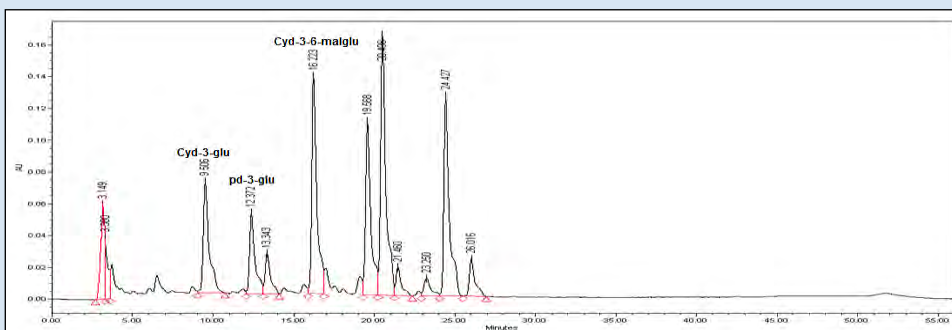
Tabla 13. Cromatogramas del perfil de antocianinas en Jilote



**Pelo
(estigma)**



Grano



Cromatogramas de extractos metanólicos, sin purificar de inflorescencia masculina, olote, pelo (estigma) y grano, realizados de acuerdo a las condiciones de un sistema de gradiente utilizando como fase móvil dos disolventes (A: H₂O/ACN/Ác Fórmico (87:3:10) y B: ACN) y una velocidad de flujo de 1.0 mL/min. Los estándares de C3G Y C36G se obtuvieron de un extracto metanólico de cebolla morada con un % pureza de 92 y 86 respectivamente y un tiempo de retención de 9.45 y 16.08 minutos y para el caso de P3G se utilizó como estándar un extracto metanólico de fresa con % pureza de 80 y un tiempo de retención de 12.27 minutos.

ELOTE

Siguiendo la misma metodología reportada para Jilote, de acuerdo con Fernández (2014), se obtuvieron los diferentes cromatogramas, donde los picos obtenidos de antocianinas fueron comparados con los de maíz morado reportado por Harakotr

et al., 2014 en diferentes estados de crecimiento y en la tabla 14, se presentan las diferentes antocianinas encontradas en cada una de las muestras.

Tabla 14. Antocianinas identificadas en maíz morado en la etapa de Elote en HPLC.

Muestras	Antocianinas
Grano	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3',6-di malglu), cyd-3-6-sucglu, cyd-3-(3',6-malsucglu) y pn-3-6-sucglu
Olote	Cyd-3-6-malglu, pd-3-glu, cyd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3',6-di malglu), cyd-3-6-sucglu, cyd-3-(3',6-malsucglu) y pn-3-6-sucglu
Pelo (estigma)	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3'',6-di malglu) y cyd-3-6-sucglu
Inflorescencia masculina	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3',6-di malglu), cyd-3-6-sucglu, cyd-3-(3',6-malsucglu) y pn-3-6-sucglu
Totomoxtle	Cyd-3-6-malglu, pd-3-glu, cyd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3',6-di malglu), cyd-3-6-sucglu, cyd-3-(3',6-malsucglu) y pn-3-6-sucglu
Hoja de tallo	Cyd-3-6-malglu
Tallo	pd-3-glu y pn-3-6-malglu
Hoja de milpa	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu y cyd-3-(3',6-di malglu)

Con un avance en su estado de desarrollo se siguen presentando 10 tipos de antocianinas que se van desarrollando en los diferentes órganos de la planta, donde se observa que grano, olote e inflorescencia masculina mantienen el mismo perfil de antocianinas mostrado en la etapa de Jilote. Totomoxtle en esta etapa sintetizó antocianinas como cianidina-3-(-3',6-malonil-succinil-glucósido) y

peonidina-3-6-glucósido, pero en general estas muestras presentaron el siguiente perfil de antocianinas: cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido, cianidina-3-6-malonil-glucósido, pelargonidina-3-6-malonil-glucósido, peonidina-3-6-malonil-glucósido, cianidina-3-(3',6-dimalonil-glucósido), cianidina-3-6-succinil-glucósido, cianidina-3-(3',6-malonil-succinil-glucósido) y peonidina-3-6-succinil-glucósido. En cuanto a muestras como pelo (estigma), hoja de tallo, tallo y hoja de milpa presentaron un perfil de antocianinas diferente ya que no sintetizaron algunas antocianinas, para el caso del pelo (estigma) no sintetizó cianidina-3-(3',6-malonil-succinil-glucósido) y peonidina-3-6-succinil-glucósido, pero en esta etapa sintetizó cianidina-3-6-succinil-glucósido, en cambio hoja de tallo desarrollo cianidina-3-6-malonil-glucósido y tallo no presentó el perfil de antocianinas que mostró en la etapa de Jilote, pero siguieron sintetizando pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-6-malonil-glucósido, que también se sintetizaron en la etapa de Jilote y con estos resultados tallo puede ser una fuente de estas antocianinas tanto en la etapa de Jilote como en la de Elote. Finalmente la hoja de milpa no presentó el mismo perfil de antocianinas mostrado en la etapa de Jilote, ya que en esta etapa no sintetiza cianidina-3-6-succinil-glucósido, cianidina-3-6-malonil-succinil-glucósido y peonidina-3-6-succinil-glucósido.

Las variaciones que se presentan entre muestras y con la etapa de Jilote, se pueden deber a varios factores entre ellos la temperatura y los nutrimentos del suelo ya que en otros estudios como el reportado por Mendoza (2012), donde menciona que la presencia de selenio en el suelo puede ocasionar un incremento en el contenido de antocianinas y un decremento simultáneo de la concentración de clorofila y la temperatura cuando incrementa inhibe la síntesis de antocianinas. Por otro lado, los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Harakotr *et al.*, 2014 en su estudio de antocianinas en maíz morado en diferentes estados de desarrollo. Así mismo por lo reportado por Quispe *et al.*, 2011, donde menciona que el olote presenta antocianinas como cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido.

Conociendo que cianidina-3-glucósido y cianidiana-3-6-malonil-glucósido son antocianinas características del maíz morado se quiso conocer su concentración en la etapa de Elote para conocer la concentración de estas antocianinas en los diferentes órganos analizados.

Tabla 15. Concentraciones de C3G y C36G en Elote

Muestras Elote	C3G (mg/mL extracto mta)	C36G (mg/mL extracto mta)
Grano	0.393	0.832
Olote	0.295	1.140
Totomoxtle	0.093	0.340
Pelo (estigma)	1.127	3.880
Inflorescencia masculina	0.449	2.506
Tallo	< 0.0001	< 0.0001
Hoja de tallo	< 0.0001	0.212
Hoja de milpa	0.186	0.706

Haciendo una inyección y utilizando el mismo estándar de cebolla morada, empleado en la etapa de Jilote, en los resultados mostrados en la tabla 15, se observa que las muestras con una concentración mayor de C36G fueron pelo (estigma) e inflorescencia masculina con concentraciones de 3.880 y 2.506 mg/mL respectivamente y de acuerdo con lo reportado en la etapa de Jilote se puede decir que en la etapa de Elote, incremento la concentración de esta antocianina y como ya se había mencionado anteriormente con lo reportado por Mendoza (2012), donde se dijo que estos órganos de la planta, tienen como función llevar a cabo la polinización y es por ello que concentran una gran cantidad de antocianinas. En cuanto a muestras como olote, grano y hoja de milpa con concentraciones de 1.140, 0.832 y 0.706 mg/mL, se puede reportar que grano y olote incrementaron su concentración de C36G en comparación con la etapa de Jilote y hoja de milpa no se tuvo el dato de la concentración de C36G y C3G en la etapa de Jilote, pero se piensa que por ser hojas muy expuestas a la luz del sol, la concentración de antocianinas en la etapa de Elote debió disminuir, debido a

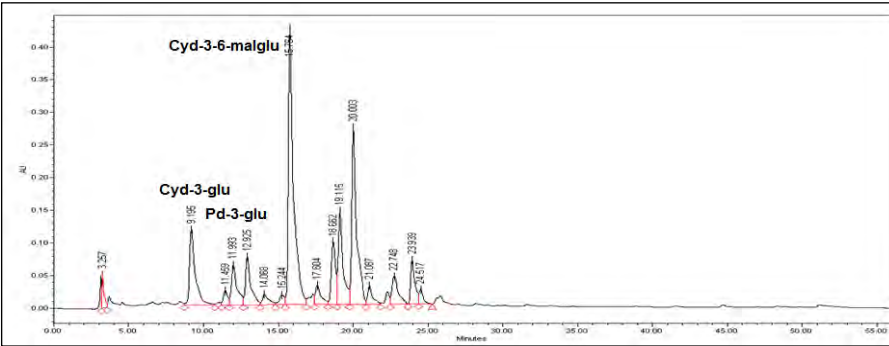
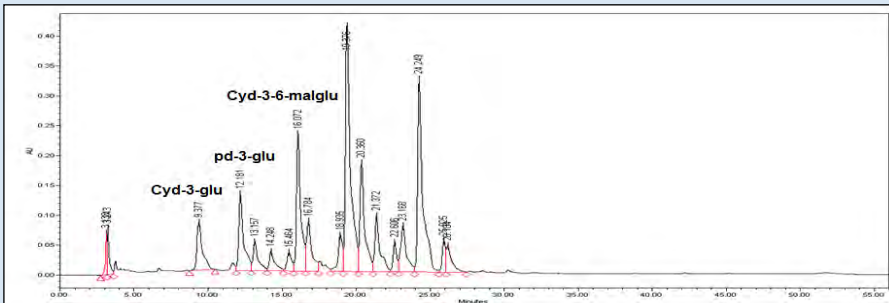
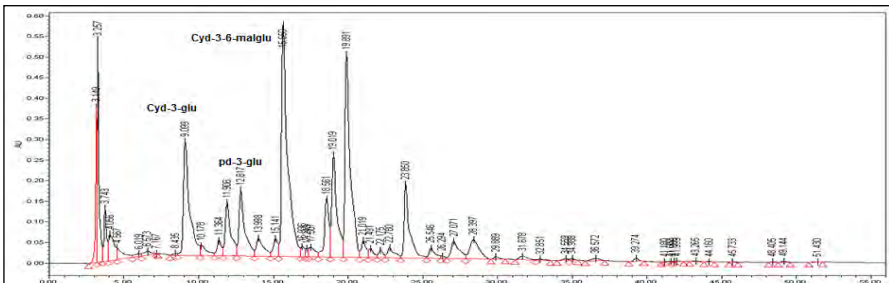
que son muy inestables al calor y a temperaturas altas. Con una concentración menor de 0.340 y 0.212 mg/mL, totomoxtle y hoja de tallo disminuyen su concentración de C36G con respecto a la etapa de Jilote, en cuanto a tallo presentó ausencia de C3G y C36G, pero en el cromatograma se pudo observar que presenta otras antocianinas como son pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-6-malonil-glucósido y hablando de C3G. La muestra que presentó la mayor concentración fue pelo (estigma) con 1.127 mg/mL, reflejando un aumento en su concentración en esta etapa de crecimiento. Inflorescencia masculina con una concentración de 0.449 mg/mL disminuyó su concentración de C3G en esta etapa con respecto a la etapa de Jilote y esto puede ser porque se encuentra en la parte superior de la planta y se encuentra más expuesta a los rayos del sol, lo que le da inestabilidad a la antocianina por lo que ya se ha mencionado anteriormente. Por otro lado con concentraciones menores grano, olote, hoja de milpa y totomoxtle presentaron concentraciones de 0.393, 0.295, 0.186 y 0.093 mg/mL respectivamente, donde grano y olote aumentaron su concentración de C3G con respecto a la etapa de Jilote y totomoxtle y hoja de milpa disminuyen su concentración de C3G y aunque no se tiene el valor para hoja de milpa en la etapa de Jilote se piensa lo mismo que lo reportado para C36G y para el caso de hoja de tallo no sintetizó C3G, ya que no se detectó dentro de los límites establecidos en el método la presencia de esta antocianina. Estos resultados nos indican que pelo (estigma) e inflorescencia masculina pueden ser utilizados como nuevas fuentes de C3G y C36G en la etapa de Elote y las otras muestras que presentaron ausencia pueden ser fuente de otras variedades de cianidina, peonidina o pelargonidina.

Comparando estos resultados con los reportados por Fernández (2014), se puede decir que el maíz morado en la etapa de elote presenta una concentración mayor de C36G, ya que Fernández (2014), reportó en un segundo tiempo de crecimiento del maíz morado cultivado en Ixtenco que desarrolló un mayor contenido de C36G y un menor contenido de C3G en muestras como grano, olote y totomoxtle, lo que coincide con la variedad morada de Tehuacán, donde muestras evaluadas presentaron concentraciones mayores de C36G y concentraciones menores de

C3G, aunque en esta variedad muestras como pelo (estigma), grano e Inflorescencia masculina no presentan una concentración baja de C3G.

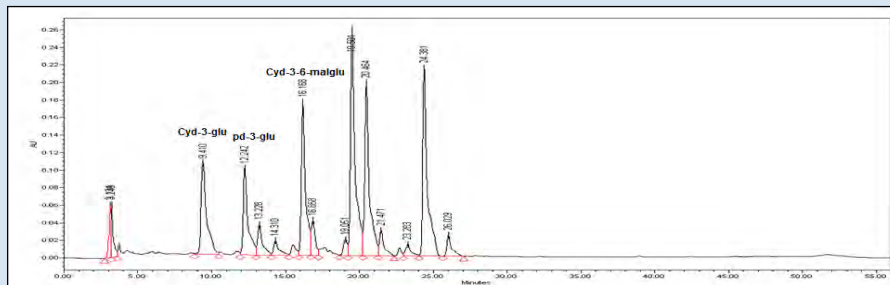
A continuación se presenta en la tabla 16, los cromatogramas obtenidos en el HPLC, donde se identificaron C3G y C36G, de las muestras más representativas en la etapa de Elote, por su concentración de estas antocianinas.

Tabla 16. Cromatogramas del perfil de antocianinas en Elote

<p>Inflorescencia masculina</p>	
<p>Olote</p>	
<p>Pelo (estigma)</p>	

Continuación tabla 16 →

Grano



Cromatogramas de extractos metanólicos, sin purificar de inflorescencia masculina, olote, pelo (estigma) y grano, realizados de acuerdo a las condiciones de un sistema de gradiente utilizando como fase móvil dos disolventes (A: H₂O/ACN/Ác Fórmico (87:3:10) y B: ACN) y una velocidad de flujo de 1.0 mL/min. Los estándares de C3G Y C36G se obtuvieron de un extracto metanólico de cebolla morada con un % pureza de 92 y 86 respectivamente y un tiempo de retención de 9.45 y 16.08 minutos y para el caso de P3G se utilizó como estándar un extracto metanólico de fresa con % pureza de 80 y un tiempo de retención de 12.27 minutos.

MAZORCA

Realizando una inyección y empleando el mismo estándar de cebolla morada de las dos etapas anteriores, se obtuvieron los cromatogramas para la etapa de Mazorca y se pudieron obtener los diferentes picos con los cuales se volvieron a identificar los 10 tipos de antocianinas en la planta del maíz morado y estos se presentan en la tabla 17, además los resultados de los cromatogramas fueron comparados con los reportados por Harakotr *et al.*, 2014.

Tabla 17. Antocianinas identificadas en maíz morado en la etapa de Mazorca, mediante HPLC

Muestras	Antocianinas
Grano	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, cyd-3-(3',6-di malglu), cyd-3-6-sucglu
Olote	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3'',6-di malglu) y cyd-3-6-sucglu
Pelo (estigma)	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3'',6-di malglu) y cyd-3-6-sucglu
Inflorescencia masculina	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, , pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu y cyd-3-(3',6-di malglu)
Totomoxtle	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu, cyd-3-(3',6-di malglu), cyd-3-6-sucglu, cyd-3-(3',6-malsucglu) y pn-3-6-sucglu
Hoja de tallo	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu y cyd-3-(3',6-di malglu)
Tallo	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu y cyd-3-(3',6-di malglu)
Hoja de milpa	Cyd-3-6-malglu, cyd-3-glu, pd-3-glu, pn-3-glu, pg-3-6-malglu, pn-3-6-malglu y cyd-3-(3',6-di malglu)

En Mazorca, las muestras que presentaron el mismo perfil de antocianinas en las etapas de crecimiento de Jilote y Elote como grano, olote e inflorescencia masculina, en esta última etapa de crecimiento de la planta del maíz morado presentaron un perfil diferente en el caso del grano sintetizo cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido, cianidina-3-6-malonil-glucósido, cianidina-3-(3',6-dimalonil-glucósido) y cianidina-3-6-succinil-glucósido. En cuanto al olote en esta etapa de crecimiento presenta el mismo perfil de antocianinas que el pelo (estigma), sintetizando cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido, cianidina-3-6-malonil-glucósido, pelargonidina-3-6-malonil-glucósido, peonidina-3-6-malonil-glucósido, cianidina-3-(3',6-dimalonil-glucósido) y cianidina-3-6-succinil-glucósido. Por otra parte hoja de tallo, inflorescencia masculina y hoja de milpa en esta etapa sintetizan las mismas antocianinas como son cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido, cianidina-3-6-malonil-glucósido, pelargonidina-3-6-malonil-glucósido, peonidina-3-6-malonil-glucósido y cianidina-3-(3',6-dimalonil-glucósido)

en el caso de hoja de tallo sintetizó antocianinas que no presento en la etapa de Elote, la hoja de milpa presentó el mismo perfil de antocianinas que en Elote e inflorescencia masculina deo de sintetizar antocianinas que presento en la etapa de Elote. Por otro lado, totomoxtle y tallo sintetizaron más antocianinas que en la etapa de Elote, ya que tallo sintetizo cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido, cianidina-3-6-glucósido, peonidina-3-6-glucósido, pelargonidina-3-6-glucósido y cianidina-3- (3',6-dimalonil-glucósido). En cuanto a las antocianinas en las hojas en la planta del maíz, Mendoza (2012) menciona que la presencia de las antocianinas en las hojas puede ayudar a incrementar su temperatura, al absorber energía y así actuar como un termorregulador. Estos resultados coinciden con lo reportado en otras variedades de maíz morado estudiadas por otros autores como De Pascual-Teresa (2002), Yang y Zhai (2010), Quispe *et al.*, 2011, Fernández (2014) y Harakotr *et al.*, 2014, donde en etapas anteriores se mencionó un poco de sus investigaciones, lo que coinciden con las antocianinas reportadas en este proyecto.

Conociendo el perfil de antocianinas se prosiguió a cuantificar las concentraciones de C3G y C36G, empleando el mismo estándar y las mismas condiciones que en las etapas de crecimiento anteriores.

Tabla 18. Concentraciones de C3G y C36G en Mazorca

Muestras Mazorca	C3G (mg/mL extracto mta)	C36G (mg/mL extracto mta)
Grano	0.272	0.553
Olote	0.242	0.978
Totomoxtle	0.231	1.137
Pelo (estigma)	0.066	0.304
Inflorescencia masculina	0.209	1.111
Tallo	0.056	0.189
Hoja de tallo	0.213	1.293
Hoja de milpa	0.084	0.238

De acuerdo con los resultados reportados en la tabla 18, podemos decir que la mayoría de las muestras disminuyeron su concentración de C3G y C36G, donde para el caso de C36G dos muestras muy relevantes en las etapas de Jilote y Elote, dejan de sintetizar antocianinas y esto se vio reflejado en sus concentraciones en esta etapa, ya que pelo (estigma) que había presentado las mayores concentraciones en la etapa de Jilote y Elote en esta etapa presenta una de las concentraciones más bajas con una concentración de 0.304 mg/mL, en cuanto a la otra muestra se trata de inflorescencia masculina que presenta una concentración de 1.111 mg/mL, cuando en las etapas de Jilote y Elote fue la segunda muestra en presentar los valores más altos y estos valores pueden ser, debido a que en la etapa de Mazorca la planta está por terminar su ciclo de vida y el periodo de polinización ya ha cumplido sus objetivos en etapas anteriores, así que la planta deja de sintetizar antocianinas en estos órganos. Por otra parte también hubo un descenso en la concentración de C36G en grano, olote y hoja de milpa que presentaron valores de 0.553, 0.978 y 0.238 mg/mL respectivamente. En cambio las muestras que incrementaron su concentración de C36G fueron totomoxtle, tallo y hoja de tallo, presentando concentraciones de 1.137, 0.189 y 1.293 mg/mL, destacando entre estas totomoxtle y hoja de tallo, que con respecto a las etapas anteriores habían presentado concentraciones bajas e incluso no detectadas por el método, con esto se puede decir que en la etapa de Mazorca se lleva a cabo la síntesis de antocianinas en estos órganos.

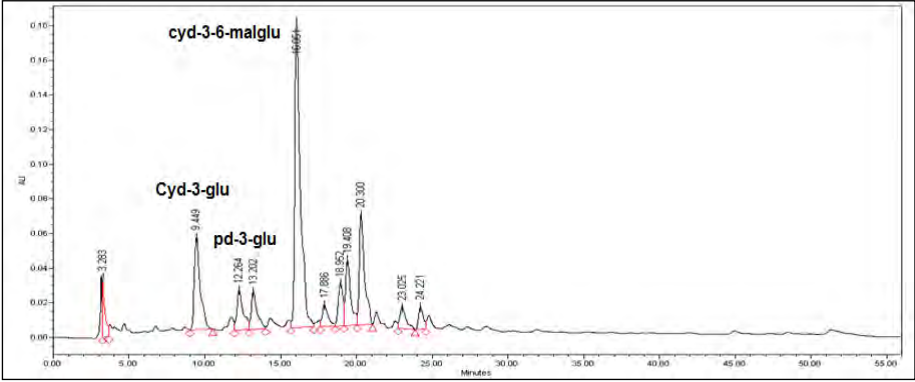
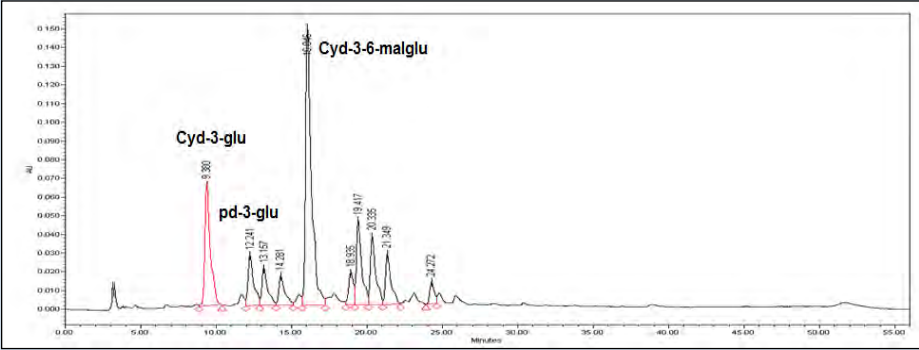
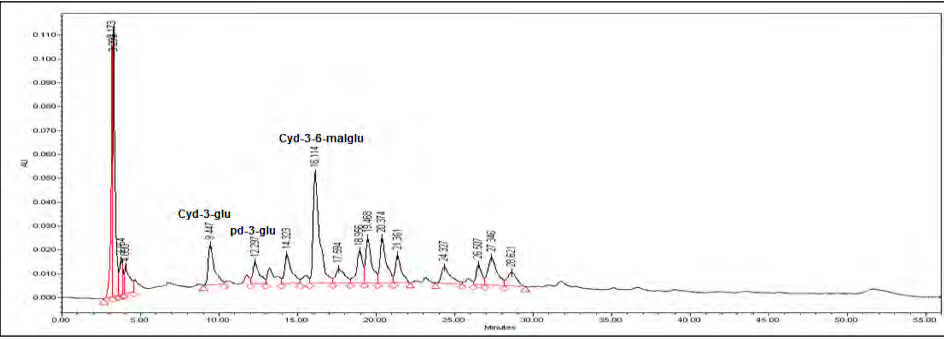
Para el caso de C3G, la mayoría de las muestras presentó una disminución en la concentración y muestras destacadas en etapas anteriores como pelo (estigma) e inflorescencia masculina que presentaron concentraciones bajas con valores de 0.066 y 0.209 mg/mL, donde es notorio que entre más avanza el estado de madurez de la planta se van dejando de sintetizar las antocianinas en ciertos órganos de la planta y lo mismo paso con muestras como grano, olote y hoja de milpa que presentaron concentraciones de 0.272, 0.242 y 0.084 mg/mL respectivamente. En cuanto a las muestras que incrementaron su concentración de C3G con respecto a Jilote y Elote, fueron totomoxtle, hoja de tallo y tallo con un contenido de 0.231, 0.213 y 0.056 mg/mL, observándose que fueron las mismas

muestras que incrementaron su concentración en C36G, con lo que se afirma que en la etapa de Mazorca, se lleva a cabo la síntesis de antocianinas en totomoxtle, hoja de tallo y tallo.

En otros estudios reportados de maíz morado en un estado de maduración avanzado, han reportado autores como Harakotr *et al.*, 2014 en maíces morados cultivados en Tailandia, concentraciones de C3G de 308.35 $\mu\text{g/g}$ lo equivalente a 0.380 mg/g y de C36G una concentración de 278.96 $\mu\text{g/g}$ lo que equivale 0.279 mg/g. Por otra parte en otro estudio con maíz morado cultivado en Ixtenco, Fernández (2014), reporta que en un estado de maduración avanzado muestras como grano y totomoxtle disminuyen su concentración de C3G, mientras que olote aumenta su concentración de C3G, lo que para el caso del grano coincide, en cambio con olote no ya que en la variedad de Tehuacán disminuyó su concentración y ocurrió lo contrario en totomoxtle que aumentó su concentración. Con C36G se coincide en que muestras como grano disminuyen su concentración y totomoxtle incrementa su concentración, con la muestra que no coincidió fue con la de olote que en el estudio de Fernández (2014) incrementa su concentración y en esta investigación disminuyó su concentración de antocianinas.

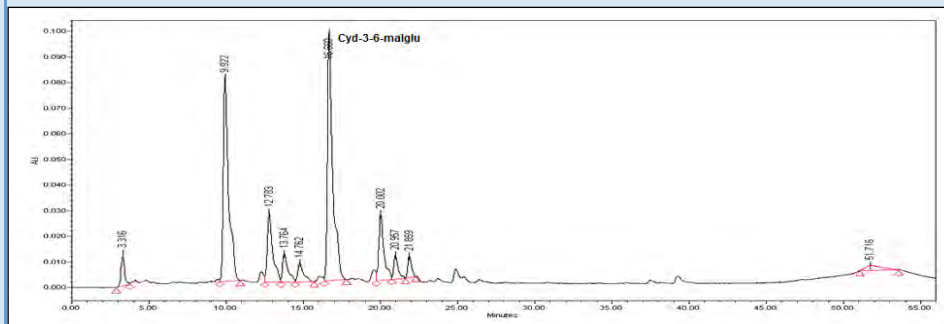
A continuación se presentan en la tabla 19, los cromatogramas de las muestras más representativas de la etapa de Mazorca, donde se identificó el perfil de C3G y C36G, resaltando sus picos en cada una de las muestras.

Tabla 19. Cromatogramas del perfil de antocianinas en Mazorca

<p>Inflorescencia masculina</p>	 <p>Chromatogram showing the profile of anthocyanins in the inflorescence masculina. The x-axis represents time in minutes (0.00 to 55.00) and the y-axis represents absorbance (AU) (0.00 to 0.18). The most prominent peak is labeled 'cyd-3-6-malglu' at 16.664 minutes. Other significant peaks include 'Cyd-3-glu' at 9.449 minutes and 'pd-3-glu' at 12.264 minutes. Numerous smaller peaks are also labeled with their retention times.</p>
<p>Olote</p>	 <p>Chromatogram showing the profile of anthocyanins in Olote. The x-axis represents time in minutes (0.00 to 55.00) and the y-axis represents absorbance (AU) (0.000 to 0.150). The most prominent peak is labeled 'Cyd-3-6-malglu' at 16.664 minutes. Other significant peaks include 'Cyd-3-glu' at 9.300 minutes and 'pd-3-glu' at 12.241 minutes. Numerous smaller peaks are also labeled with their retention times.</p>
<p>Pelo (estigma)</p>	 <p>Chromatogram showing the profile of anthocyanins in Pelo (estigma). The x-axis represents time in minutes (0.00 to 55.00) and the y-axis represents absorbance (AU) (0.000 to 0.110). The most prominent peak is labeled 'Cyd-3-6-malglu' at 16.114 minutes. Other significant peaks include 'Cyd-3-glu' at 9.242 minutes and 'pd-3-glu' at 12.220 minutes. Numerous smaller peaks are also labeled with their retention times.</p>

Continuación tabla 19 →

Grano



Cromatogramas de extractos metanólicos, sin purificar de inflorescencia masculina, olote, pelo (estigma) y grano, realizados de acuerdo a las condiciones de un sistema de gradiente utilizando como fase móvil dos disolventes (A: H₂O/ACN/Ác Fórmico (87:3:10) y B: ACN) y una velocidad de flujo de 1.0 mL/min. Los estándares de C3G Y C36G se obtuvieron de un extracto metanólico de cebolla morada con un % pureza de 92 y 86 respectivamente y un tiempo de retención de 9.45 y 16.08 minutos y para el caso de P3G se utilizó como estándar un extracto metanólico de fresa con % pureza de 80 y un tiempo de retención de 12.27 minutos.

8.4. ANTOCIANINAS TOTALES

Conociendo el perfil de antocianinas de cada muestra en los tres estados de crecimiento (Jilote, Elote, Mazorca), se determinó el contenido total de antocianinas de cada muestra para seleccionar las que presenten la mayor concentración y poderlas utilizar como fuentes de antocianinas, se siguió la metodología propuesta por Wrolstad (2005). En el gráfico 2, se pueden observar los resultados obtenidos para cada muestra en cada etapa de crecimiento.

En el gráfico 1 se presenta el promedio de antocianinas totales, obtenido de los órganos analizados de la planta de maíz morado con la finalidad de conocer en qué etapa de crecimiento se sintetiza la mayor concentración de antocianinas

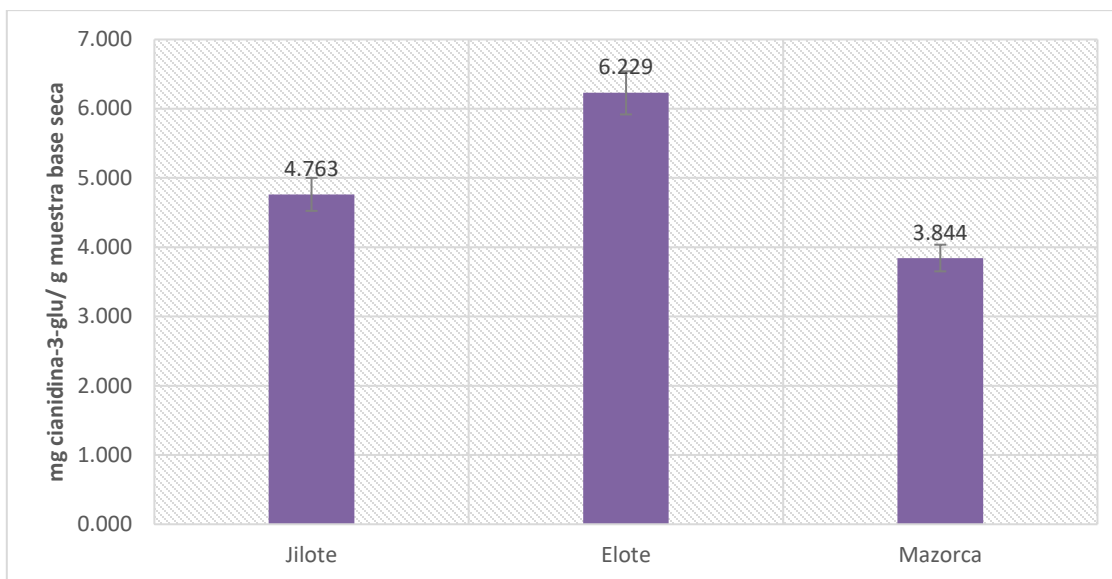


Gráfico 1. Promedio de antocianinas totales, obtenidas en la planta del maíz morado.

Elote es la etapa de crecimiento que sintetiza más antocianinas con un promedio de 6.229 mg/g, por tanto en esta etapa se pueden obtener los principales estándares y nuevas fuentes de antocianinas, en la etapa de Jilote es notorio que es donde se comienza la síntesis de antocianinas en la planta de maíz morado y presenta un promedio de 4.763 mg/g y finalmente en la etapa de Mazorca es donde se dejan de sintetizar algunas antocianinas presentando un promedio de 3.844 mg/g. En el gráfico 2, se presentará el contenido de antocianinas obtenido en cada una de las muestras evaluadas y se conocerá las nuevas fuentes de antocianinas en cada una de las etapas de crecimiento mencionadas.

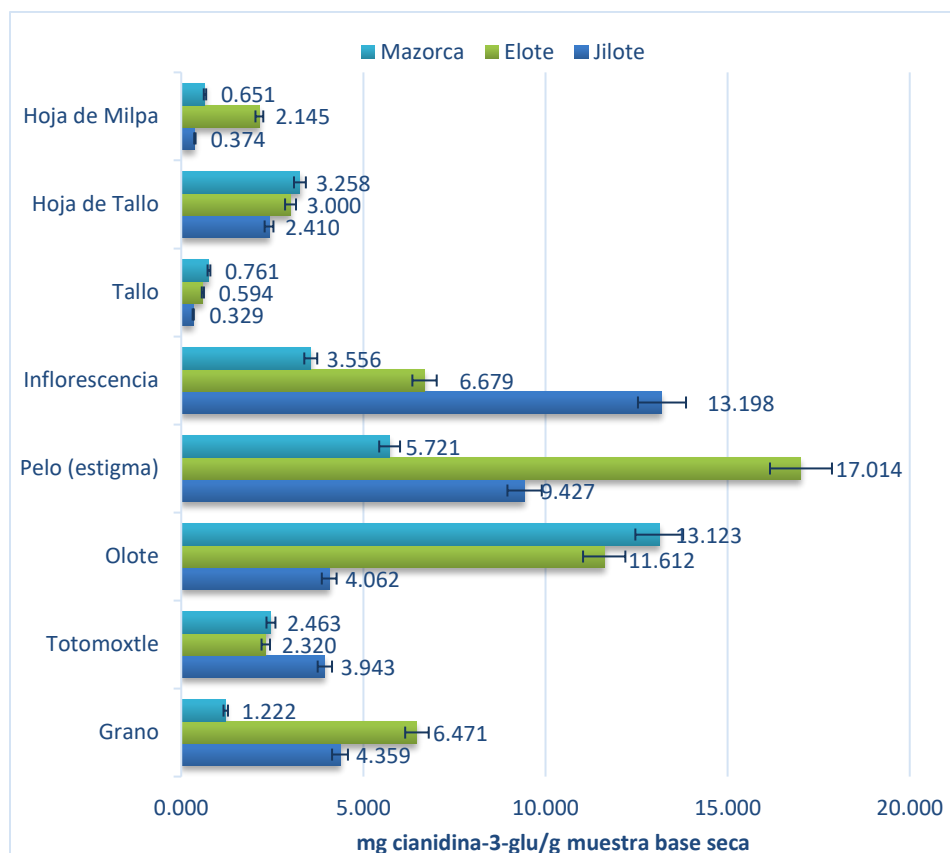


Gráfico 2. Antocianinas totales presentes en la planta del maíz morado nativo en tres estados de crecimiento

Jilote

En esta etapa de crecimiento de la planta de maíz morado, la muestra que concentró la mayor cantidad de antocianinas fue Inflorescencia masculina con 13.198 mg/g en base seca, siguiéndole pelo (estigma) con 9.427 mg/g en base seca y como ya se había mencionado anteriormente en las primeras etapas del crecimiento de la planta se concentra una mayor cantidad de antocianinas, con el fin de llamar la atención de los animales polinizadores y llevar a cabo la polinización. En cuanto a grano y olote, presentaron concentraciones de 4.359 y 4.062 mg/g en base seca, con lo que se puede decir que la síntesis de antocianinas en estas estructuras comienza al mismo tiempo y con ello es normal un contenido de antocianinas equivalente, debido a que el grano en esta etapa de crecimiento se encuentra más insertado en el olote y en pleno desarrollo, donde

también va adquiriendo sus propiedades físicas y químicas. Para el caso de totomoxtle y hoja de tallo, presentaron una concentración de 3.943 y 2.410 mg/g en base seca, una concentración de antocianinas totales baja, debido a que apenas se comienza la síntesis de antocianinas en estos órganos, que de acuerdo con Mendoza (2012), la acumulación de antocianinas en hojas jóvenes puede conferirle a la planta una defensa contra patógenos como los hongos y plagas como las hormigas. Con una menor concentración de antocianinas, hoja de milpa y tallo presentan valores de 0.374 y 0.329 mg/g en base seca respectivamente, lo que indica una síntesis escasa de antocianinas en estos órganos.

Comparando con Fernández (2014), que reportó en maíz morado cultivado en Ixtenco en una primer etapa de crecimiento, en muestras como grano, olote y totomoxtle concentraciones de 19.96, 28.75 y 14.14 mg/g en base seca respectivamente y con Harakotr *et al.*, 2014 también en un estado prematuro en maíces morados de Tailandia concentraciones de 694.6 y 29.2 µg/g en una variedad China una concentración de 11.7 µg/g y por último en una variedad de Taiwán una concentración de 22.2 µg/g se puede decir que en la etapa de Jilote, la variedad de Tehuacán presenta concentraciones favorables tomando en cuenta que la cantidad total de antocianinas reportadas fue en un gramo de muestra seca.

Elote

En este estado de crecimiento de la planta de maíz morado se presenta una mayor síntesis de antocianinas, donde la muestra que presentó una mayor concentración fue pelo (estigma) con 17.024 mg/g en base seca, lo que es normal por tratarse de un órgano polinizador de la planta y como ya se había mencionado antes en estos órganos se suelen concentrar una gran cantidad de antocianinas, en esta etapa olote incremento su concentración de antocianinas presentando una cantidad de 11.612 mg/g en base seca, seguidamente con 6.679 y 6.471 mg/g en base seca se encuentran inflorescencia masculina y grano respectivamente, donde es notorio que inflorescencia masculina deja de sintetizar antocianinas, lo que podría ser debido a que este órgano de la planta está muy expuesto a los

rayos del sol y eso no favorece a la síntesis de antocianinas, ya que son inestables al calor y a temperaturas altas y grano comenzó a sintetizar una mayor cantidad de antocianinas. En cuanto a hoja de tallo, totomoxtle y hoja de milpa presentaron concentraciones de 3.000, 2.320 y 2.145 mg/g en base seca respectivamente, siendo que hoja de tallo y hoja de milpa sintetizaron más antocianinas y totomoxtle dejó de sintetizar antocianinas ya que haciendo una comparación con la etapa de Jilote disminuyó su concentración de antocianinas en Elote. Y con una concentración baja de antocianinas tallo presenta una cantidad de 0.594 mg/g en base seca que aunque es un valor bajo aumento su concentración de antocianinas en comparación con la etapa de Jilote.

Comparando estos resultados con los reportados por López-Martínez *et al.*, 2009, donde estudiaron diferentes variedades de maíces morados en diferentes regiones de México reportando valores de 478 a 2050 mg/100g harina. Fernández (2014), que reportó en la etapa de Elote en maíz morado de Ixtenco concentraciones de antocianinas en grano, olote y totomoxtle de 2.2, 16.21 y 8.4 mg/g en base seca y por otro lado Quispe *et al.*, 2011, que reportan en tres cultivos de maíz morado peruano concentraciones de 13.36, 20.60 y 14.75 mg/g en base seca y con esto se puede decir que la variedad de Tehuacán coincide con algunos de los resultados reportados y presenta concentraciones más altas en algunas muestras, tomando en cuenta que la medición se hizo en un gramo de muestra seca.

Mazorca

En esta etapa de crecimiento algunas muestras van dejando de desarrollar antocianinas y otras comienzan a sintetizar más antocianinas como es el caso del olote que en esta etapa fue la muestra que presentó la mayor concentración de antocianinas con 13.123 mg/g en base seca, lo que es coherente ya que es una muestra que no está en contacto con la luz solar, debido a que los granos y el totomoxtle la protegen y con ello la antocianinas no se ven afectadas, en cuanto a pelo (estigma) ha dejado de sintetizar antocianinas ya que su concentración ha disminuido en comparación con la etapa de Elote, presentando un valor de 5.721

mg/g en base seca, por otro lado inflorescencia masculina entre más avanza el estado de maduración de la planta de maíz, va dejando de sintetizar más antocianinas presentando una concentración baja con respecto a etapas anteriores con un valor de 3.556 mg/g en base seca, lo que es normal que estos órganos polinizadores dejen de sintetizar antocianinas, debido a que en etapas anteriores llevaron a cabo su función polinizadora y en esta etapa la planta ocupa su energía para seguir llevando a cabo la síntesis de antocianinas en otros órganos como por ejemplo hoja de tallo y tallo, que en comparación con etapas anteriores fueron incrementando su concentración de antocianinas presentando un valor de 3.258 y 0.761 mg/g en base seca, en cuanto a totomoxtle presentó un valor constante con un contenido de 2.463 mg/g en base seca, por otro lado grano fue otra muestra que disminuyó su concentración de antocianinas presentando un contenido de 1.222 mg/g en base seca y finalmente la concentración de antocianinas también disminuyó en hoja de milpa, muestra que presentó una concentración de 0.651 mg/g en base seca. Y de acuerdo con Fernández (2014), en esta etapa se van degradando las antocianinas, debido a que se dejan de sintetizar antocianinas para sintetizar otros compuestos.

Estos resultados están en concordancia con el reportado por Abdel *et al.*, 2006 que reportó una concentración de 127.7 mg/100g y para el caso del olote con Fernández (2014), donde reportó en maíz morado en la etapa de mazorca concentraciones para grano, olote y totomoxtle concentraciones de 6.22, 16.38 y 8.3 mg/g en base seca.

8.5. Identificación de Ácidos hidroxicinámicos por CCF

Se utilizó el método de CCF para identificar los ácidos hidroxicinámicos que son compuestos fenólicos de importancia en el maíz y entre ellos el que más destaca es el ácido ferúlico. Como estándares se utilizaron vainillina (99%), ácido ferúlico ($\geq 99\%$), ácido cumárico (99%), ácido cafeico (99%) y ácido sinápico ($\geq 98\%$). Esta parte de la investigación se realizó con el fin de conocer si existen ácidos hidroxicinámicos que estén acilados a las estructuras de los flavonoides entre estos principalmente las antocianinas que se encuentran presentes en esta variedad de maíz morado ya que se sabe y autores como Castañeda-Sánchez en el 2011 han mencionado que el ácido ferúlico es el ácido hidroxicinámico más importante en el planta del maíz ya que se presenta en todas las variedades. Y el ácido cumárico también se presenta en concentraciones considerables y dependiendo de la variedad del maíz estos ácidos se encontrarán en contenidos diferentes y también se buscara si hay presencia de vainillina debido a que el ácido ferúlico es precursor de esta. Por tanto en las cromatoplasmas elaboradas los estándares de vainillina, ácido ferúlico, ácido cumárico, ácido cafeico y ácido sinápico presentaron los siguientes Rf's 7.5, 5.4, 5.8, 3.5 y 4.3 respectivamente.

Jilote

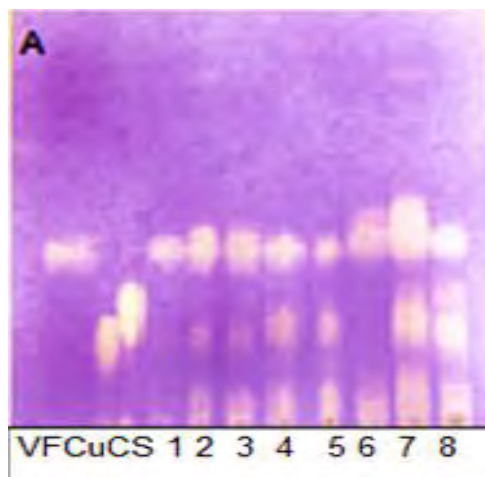


Figura 21. Estándares: V= vainillina, F= ácido ferúlico, Cu= ácido cumárico, C= ácido cafeico y S= ácido sinápico. Muestras: 1= grano, 2= olote, 3= totomoxtle, 4= inflorescencia masculina, 5= hoja de tallo, 6= tallo, 7= hoja de milpa y 8= pelo (estigma).

En la figura 21, se presenta el perfil de ácidos hidroxicinámicos obtenidos de la CCF, en donde las muestras que desarrollaron ácido ferúlico y coincidieron con el Rf de 5.4 reportado para este estándar fueron grano, olote, totomoxtle, inflorescencia masculina, hoja de tallo, tallo, hoja de milpa y pelo (estigma). En cuanto al ácido cumárico que presenta un Rf de 5.8 lo presentaron grano, olote, totomoxtle, inflorescencia masculina, hoja de tallo, tallo, hoja de milpa y pelo (estigma). Por otra parte ácido cafeico con un Rf de 3.5, lo manifestaron muestras como olote, totomoxtle, inflorescencia masculina, hoja de tallo, hoja de milpa y pelo (estigma). Ácido sinápico con Rf de 4.3, lo desarrollaron hoja de milpa y pelo (estigma) y algo que es notorio que ninguna muestra presento vainillina y que todas presentaron ácido ferúlico y cumárico, lo que coincide con Salinas-Moreno *et al.*, 2007 donde reportan en diferentes variedades de maíz presencia de ácido ferúlico, ácido cumárico y sinápico, siendo ferúlico el de mayor proporción.

Elote

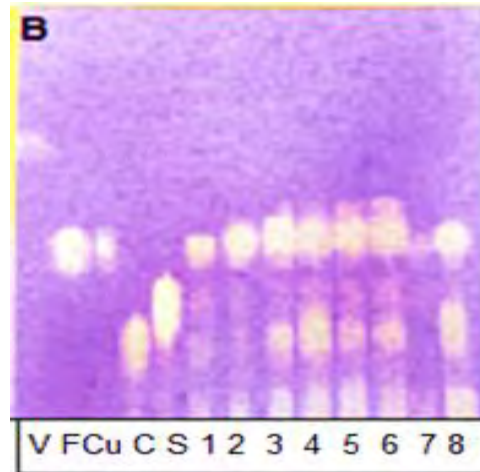


Figura 22. Estándares: V= vainillina, F= ácido ferúlico, Cu= ácido cumárico, C= ácido cafeico y S= ácido sinápico. Muestras: 1= grano, 2= olote, 3= totomoxtle, 4= inflorescencia masculina, 5= hoja de tallo, 6= tallo, 7= hoja de milpa y 8= pelo (estigma).

En la figura 22, se puede observar que en la etapa de crecimiento de elote, sigue predominando el ácido ferúlico con un R_f de 5.4, ya que se encuentra en grano, olote, totomoxtle, inflorescencia masculina, hoja de tallo, tallo, hoja de milpa y pelo (estigma) y lo mismo ocurre con ácido cumárico con un R_f de 5.8, porque sigue manifestándose en grano, olote, totomoxtle inflorescencia masculina, hoja de tallo, tallo y pelo (estigma). En cambio el ácido cafeico con R_f de 3.5, sólo aparece en totomoxtle, inflorescencia masculina, hoja de tallo, tallo y pelo (estigma) y ácido sinápico dejó de sintetizarse en hoja de milpa y pelo (estigma) que lo habían presentado en Jilote y en cuanto a vainillina no se presenta. En esta etapa también se coincide con lo reportado por Salinas-Moreno *et al.*, 2007 y con Pandey *et al.*, 2013 donde confirman la presencia de ácido ferúlico y cumárico en maíz, ya que ácido ferúlico y cumárico se presentan en todas las muestras evaluadas.

Mazorca

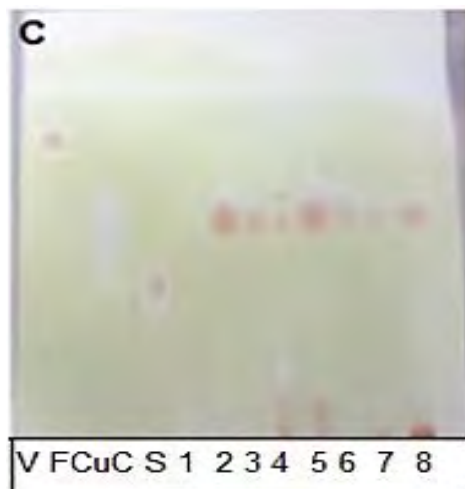


Figura 23. Estándares: V= vainillina, F= ácido ferúlico. Cu= ácido cumárico, C= ácido cafeico y S= ácido sinápico. Muestras. 1= grano, 2= olote, 3= totomoxtle, 4= pelo (estigma), 5= hoja de tallo, 6= tallo, 7= inflorescencia masculina y 8= hoja de milpa.

En la figura 23, se presenta una cromatoplaca que fue revelada con sulfato cérico para poder observar las coloraciones de los estándares y algo que fue notorio es que se sigue mostrando ácido ferúlico como el hidroxicinámico más predominante presentando un Rf de 5.4 y sintetizándose en grano, olote, totomoxtle, pelo (estigma), hoja de tallo, tallo, inflorescencia masculina y hoja de milpa. En cuanto a ácido cumárico con Rf de 5.8 se dejó de sintetizar en grano, inflorescencia masculina y hoja de milpa, presentándose en muestras como olote, totomoxtle, pelo (estigma), hoja de tallo y tallo. Lo que fue muy evidente es que ácido cafeico y ácido sinápico dejaron de sintetizarse por completo y en esta etapa tampoco se manifestó vainillina. Estos resultados vuelven a coincidir con lo reportado por Salinas-Moreno *et al.*, 2007, Pandey *et al.*, 2013 y Cabrera-Soto *et al.*, 2009, donde mencionan que el ácido ferúlico es el principal fenol que se encuentra en el maíz, ya que representa el 85% de los fenoles totales.

Con lo que se puede confirmar que el ácido ferúlico es un ácido hidroxicinámico presente en la planta de maíz morado manifestándose en todos los órganos de la planta y etapas de crecimiento evaluadas.

8.6. FENOLES TOTALES

Conociendo el perfil de los ácidos hidroxicinámicos mediante CCF en la planta del maíz morado, se determinó el contenido de fenoles totales siguiendo una metodología desarrollada por Folin-Ciocalteu (Kuskoski *et al.*, 2005).

Sabiendo que los fenoles son de los principales compuestos bioactivos encontrados en el maíz, se sumó la cantidad de fenoles totales obtenidos en cada uno de los órganos evaluados y se realizó un promedio para conocer en cuál de las etapas analizadas se sintetizan en mayor concentración los fenoles y en el gráfico 3 se puede observar que la etapa de crecimiento de Elote es donde se concentra la mayor cantidad de fenoles totales, ya que se presentó un contenido de 54.44 mg/g en base seca, siguiéndole la etapa de Jilote con una concentración de 44.83 mg/g en base seca, donde es evidente que es donde comienza la síntesis de los fenoles y en cuanto a la etapa de Mazorca hay un descenso en la concentración de fenoles dejando ver que algunos se dejan de sintetizar, logrando una concentración de 29.48 mg/g en base seca.

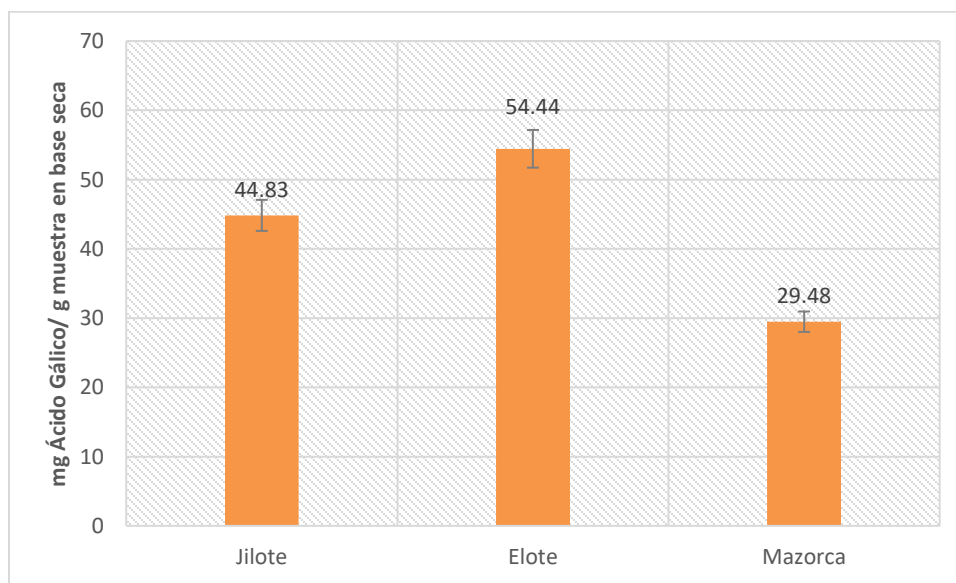


Gráfico 3. Promedio de fenoles totales en la planta del maíz morado

En el gráfico 4, se presenta la cantidad de fenoles totales obtenidos y su desarrollo en cada una de las muestras analizadas, durante las etapas evaluadas.

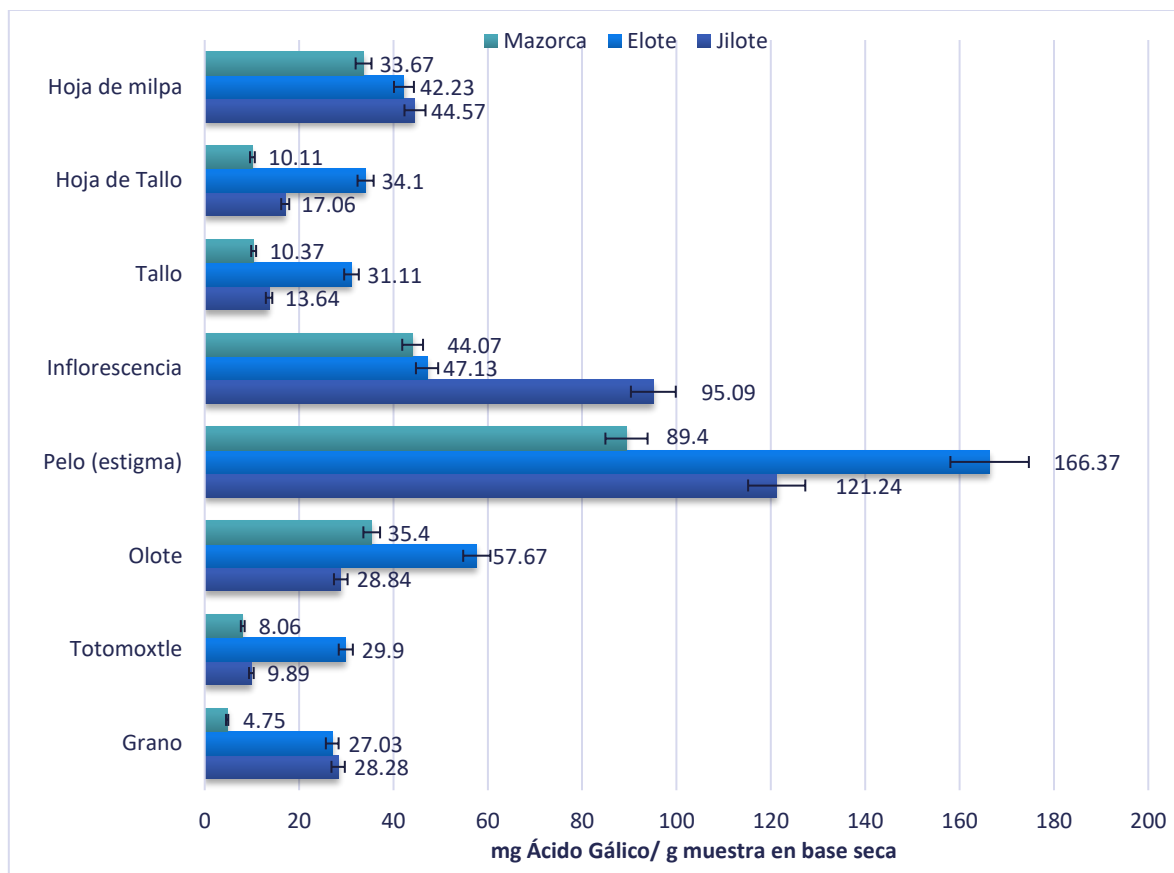


Gráfico 4. Fenoles totales, de maíz morado nativo en tres etapas de crecimiento

JILOTE

En esta etapa de crecimiento del maíz morado, la muestra que sintetizó la mayor concentración de fenoles totales fue pelo (estigma) con un contenido de 121.24 mg/g en base seca, siguiéndole inflorescencia masculina con 95.09 mg/g en base seca, relacionándose con los resultados obtenidos de antocianinas totales, por otro lado hoja de milpa también sintetizó un gran contenido de fenoles reportando un valor de 44.57 mg/g en base seca, en cuanto a oloote, grano y hoja de tallo presentaron concentraciones equivalentes con un contenido de 28.84, 28.28 y 17.06 mg/g en base seca. Sintetizando una menor cantidad de fenoles totales, tallo y totomoxtle reportan concentraciones de 13.64 y 9.89 mg/g en base seca y

así como pelo (estigma) e inflorescencia masculina presentan resultados relacionados con las concentraciones obtenidas en antocianinas totales, también las demás muestras reflejan la misma tendencia.

Otros autores como Harakotr *et al.*, 2014 reportan en maíces morados de Tailandia, China y Taiwán concentraciones de 7.6- 12.3 mg/g en un estado no avanzado de maduración por otro lado Fernández (2014) reporta en grano, olote y totomoxtle de maíz morado concentraciones de 38.57, 33.86 y 27.74 mg/g y haciendo una comparación con los resultados obtenidos la variedad de Tehuacán presenta una concentración más alta de fenoles totales con respecto a los maíces morados reportados por Harakotr *et al.*, 2014 y por otro lado valores más bajos en cuanto a los reportados por Fernández (2014).

Elote

En esta segunda etapa de crecimiento del maíz morado, pelo (estigma) sigue siendo la muestra que sintetiza más fenoles totales presentando un contenido de 166.37 mg/g en base seca y este resultado lo hace una excelente fuente de fenoles, por otro lado inflorescencia masculina dejó de sintetizar algunos fenoles ya que disminuyó su concentración en comparación con la etapa de Jilote, presentando un contenido de 47.13 mg/g en base seca y ocurrió diferente con olote que en comparación con la etapa anterior en esta etapa se convirtió en la segunda muestra que sintetizó más fenoles con una concentración de 57.67 mg/g en base seca, en cuanto a hoja de milpa presentó un valor equivalente a la etapa de Jilote con una concentración de 42.23 mg/g en base seca, siguiéndole hoja de tallo y tallo con 34.1 y 31.1 mg/g en base seca, que en esta etapa es notorio que sintetizaron más fenoles ya que su concentración aumento. Las muestras que presentaron una concentración menor de fenoles totales fueron totomoxtle y grano con 29.9 y 27.03 mg/g en base seca, donde grano presenta un resultado equivalente en cuanto a la etapa de Jilote y totomoxtle incremento su contenido de fenoles totales. La mayoría de las muestras presentan relación a lo reportado en antocianinas totales ya que siguen la misma tendencia.

En otros estudios López *et al.*, 2010 reportan para maíz morado una concentración de 465.2 mg/g, por otro lado Zilic *et al.*, 2012 reportan en maíz morado de Estados Unidos y Serbia concentraciones de 6044.5 y 6114.7 mg/kg. Quispe *et al.*, 2011 reportan en olote de tres cultivos de maíz morado peruano concentraciones de 33.39-40.58 mg/g y Fernández (2014) para un segundo tiempo de desarrollo en maíz morado proveniente de Ixtenco reporta en grano, olote y totomoxtle concentraciones de 16.14, 24.14 y 21.4 mg/g, donde la variedad de Tehuacán reporta concentraciones más altas de fenoles totales en cuanto a las variedades de Ixtenco y Perú y con respecto a los resultados reportados por los otros autores se tendría que analizar una mayor cantidad de muestra para saber si la variedad de Tehuacán presenta una concentración mayor de fenoles totales con respecto a esas variedades de maíz morado.

Mazorca

En Mazorca la muestra que sigue sintetizando el mayor contenido de fenoles totales es pelo (estigma) con una concentración de 89.4 mg/g en base seca y siguiendo la tendencia de la etapa de Jilote en la síntesis de fenoles, inflorescencia masculina se coloca en el segundo lugar con una concentración de 44.07 mg/g en base seca, en cuanto a olote y hoja de milpa con concentraciones de 35.4 y 33.67 mg/g en base seca, dejan de sintetizar la misma cantidad de fenoles que en la etapa de Elote y no sólo estas muestras presentan esta tendencia si no que muestras como tallo, hoja de tallo, totomoxtle y grano con concentraciones menores de 10.37, 10.11, 8.06 y 4.74 mg/g en base seca respectivamente. Al igual que en antocianinas totales en esta etapa de crecimiento los fenoles totales presentan una relación en cuanto a que se van dejando de sintetizar ya que la mayoría de las muestras presentan concentraciones bajas.

Por otro lado Harakotr *et al.*, 2014 reporta en maíz morado en un estado maduro de Tailandia, China y Taiwán concentraciones de 6.9-19.7 mg/g de fenoles totales, por otra parte Fernández (2014) reporta en muestras de grano, olote y totomoxtle de maíz morado en mazorca cultivado en Ixtenco concentraciones de 14.96, 33.25

y 25.06 mg/g y en comparación con la variedad de Tehuacán estas variedades presentan una concentración más alta de fenoles en Grano y Totomoxtle, pero una concentración menor con respecto a Olote

8.7. FLAVONOIDES TOTALES

La concentración de flavonoides totales se determinó en los tres estados de crecimiento (Jilote, Elote y Mazorca) se expresaron en relación a los miligramos de catequina, con la cual se realizó la curva patrón. En el gráfico 5, se muestra una comparación entre etapas de crecimiento con el fin de conocer en qué etapa se sintetizan la mayor concentración de flavonoides, para esto se realizó un promedio de la cantidad reportada de flavonoides totales en cada una de las etapas, de estos resultados se obtuvo que la etapa de Jilote es la que sintetiza la mayor concentración de flavonoides ya que reportó una concentración de 24.28 mg/g en base seca y en la etapa de Elote se presentó una menor síntesis de flavonoides ya que presentó una concentración de 16.25 mg/g en base seca y conforme va avanzando el proceso de maduración se van dejando de sintetizar más flavonoides ya que en la etapa de Mazorca se presenta una concentración de 12.30 mg/g en base seca con lo que se puede decir que en la etapa de Jilote se puede aprovechar la mejor concentración de flavonoides.

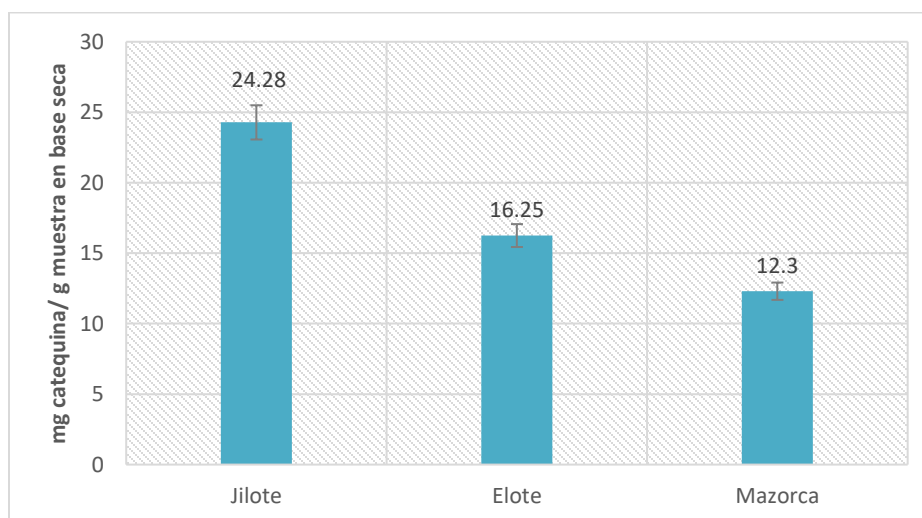


Gráfico 5. Promedio de flavonoides totales en la planta del maíz morado

Por otro lado y como se mencionó anteriormente se obtuvo el contenido de flavonoides totales en cada uno de los órganos en las tres etapas de crecimiento y se obtuvieron los siguientes resultados que se presentan en el gráfico 6.

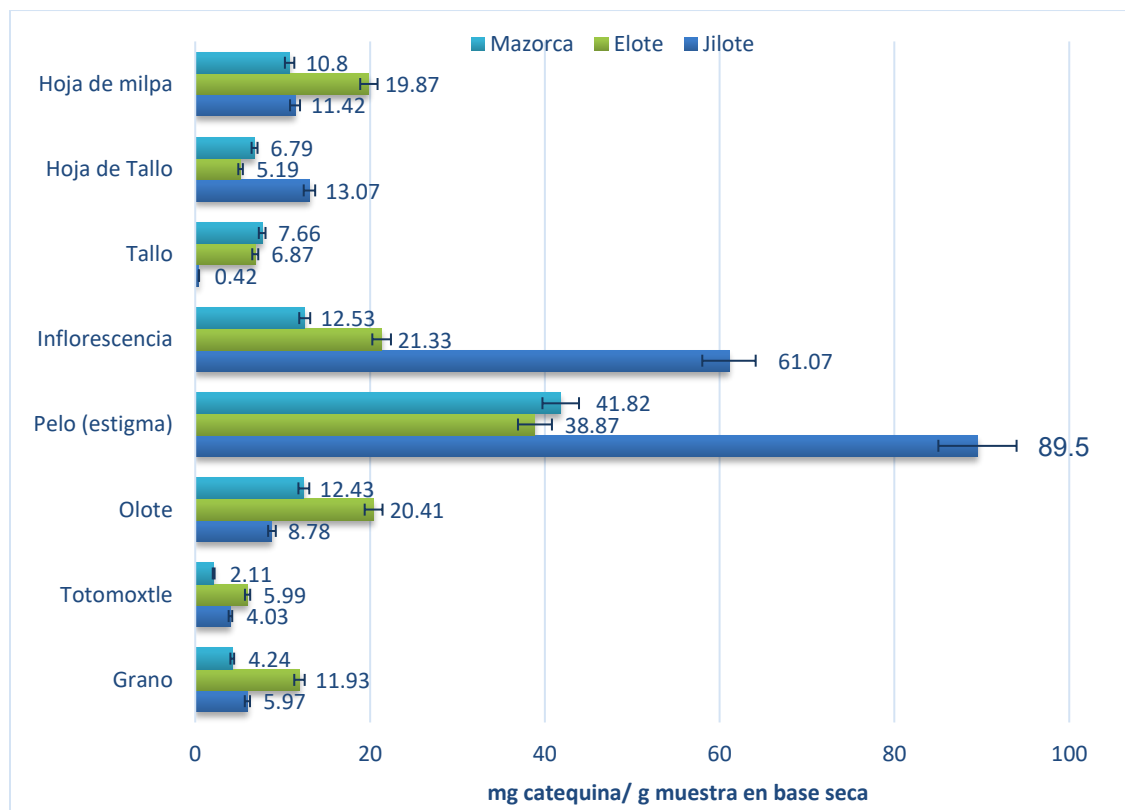


Gráfico 6. Flavonoides totales, de maíz morado nativo en tres etapas de crecimiento

Jilote

En esta etapa de crecimiento del maíz morado, la muestra que presenta la mayor síntesis de flavonoides es pelo (estigma) con una concentración de flavonoides totales de 89.5 mg/g en base seca, siguiéndole con 61.07 mg/g en base seca, inflorescencia masculina y estos resultados coinciden con los reportados en antocianinas en relación a que las antocianinas son flavonoides y como se

mencionó en ese apartado, debido a que son órganos polinizadores se necesita una concentración elevada de flavonoides para que se pueda llevar a cabo la función de atraer animales polinizadores y con ello el mecanismo de interacción planta-animal y favorecer la polinización de la planta del maíz, en cuanto a hoja de tallo y hoja de milpa presentan concentraciones de 13.07 y 11.42 mg/g en base seca, coincidiendo estos valores bajos con los reportados en antocianinas ya que en esta etapa la síntesis de flavonoides se encuentra enfocada en los órganos polinizadores además de que como la planta está en crecimiento presenta una situación de estrés y la energía que obtiene es empleada para su desarrollo, se cree que podría ser un factor para que se presenten concentraciones bajas en este tipo de muestras, para el caso de olote, grano y totomoxtle presentaron concentraciones de 8.78, 5.97 y 4.03 mg/g en base seca respectivamente y en esta etapa se observa que tallo apenas comienza la síntesis de flavonoides presentando una concentración baja de 0.42 mg/g en base seca de flavonoides totales.

Elote

En Elote, la muestra de pelo (estigma) sigue sintetizando la mayor cantidad de flavonoides totales con una concentración de 38.87 mg/g en base seca, para el caso de inflorescencia masculina disminuye su concentración reportando 21.33 mg/g en base seca, que como se ha mencionado anteriormente por tratarse de una muestra expuesta a la luz solar algunos flavonoides como las antocianinas se ven afectados por las temperaturas altas, ya que son inestables a cambios bruscos de temperatura, por otra parte olote y hoja de milpa presentan concentraciones de 20.41 y 19.87 mg/g en base seca, aumentando su concentración de flavonoides con respecto a la etapa anterior además estos resultados siguen la tendencia en cuanto a los resultados reportados en antocianinas totales y otra muestra que se vio favorecida con la síntesis de flavonoides fue grano que presentó una concentración de 11.93 mg/g en base seca y en esta etapa no es muy considerable la síntesis de flavonoides en hoja de tallo, ya que disminuyó su concentración presentando un contenido de 5.19 mg/g

en base seca comparando con la etapa de Jilote , por otra parte muestras como totomoxtle y tallo incrementaron su concentración de flavonoides presentando valores de 5.99 y 6.87 mg/g en base seca con respecto a la etapa de Jilote. Y de acuerdo con Carrasco-Ríos (2009), es importante la síntesis de flavonoides, principalmente antocianinas ya que protegen a la planta del maíz de la radiación UV y entre los órganos más expuestos a esta radiación encontramos los tallos y hojas, por eso es importante que la planta sintetice metabolitos secundarios como los flavonoides.

Mazorca

Los flavonoides totales siguen sintetizándose en mayor concentración en la muestra de pelo (estigma) con una concentración de 41.82 mg/g en base seca y también se puede observar que las muestras como inflorescencia masculina, olote y hoja de milpa van disminuyendo su contenido de flavonoides en comparación con la etapa de Elote presentando concentraciones de 12.53, 12.43 y 10.8 mg/g en base seca, por otro lado muestras como tallo y hoja de tallo incrementaron su contenido de flavonoides presentando concentraciones de 7.66 y 6.79 mg/g en base seca y en cuanto a grano y totomoxtle también presentaron una disminución en la síntesis de flavonoides ya que son las muestras que presentan los valores más bajos con una concentración de 4.24 y 2.11 mg/g en base seca. Y algo que tiene relación con los resultados reportados en antocianinas es que entre más avanza el estado de maduración de la planta se van dejando de sintetizar ciertos flavonoides obteniéndose concentraciones menores de flavonoides con respecto a etapas anteriores, lo que se piensa que es un proceso normal en el desarrollo de la planta ya que en esta etapa la planta está por terminar su ciclo de vida.

La variedad morada de Tehuacán reporta concentraciones altas de flavonoides en muestras como pelo (estigma) e inflorescencia masculina y en grano presenta concentraciones mayores a las reportadas por otros autores como es el caso de

Das *et al.*, 2015 que reportó para maíz amarillo concentraciones de flavonoides de 8.1 y 15.8 $\mu\text{g/g}$, por otro lado Zilic *et al.*, 2012 reportan en maíces blanco, amarillo y pigmentados concentraciones de flavonoides que van de 248.64-337.51 mg/kg siendo los pigmentados los que obtuvieron las mayores concentraciones y con los resultados reportados en la variedad morada de Tehuacán se coincide en que los maíces coloridos presentan una mayor cantidad de flavonoides totales que los maíces amarillos y blancos, por tanto son una fuente más concisa para obtener estos compuestos bioactivos.

8.8. XILANOS TOTALES

El total de xilanos se obtuvo en gramos de peso seco con respecto a los gramos de muestra y en el gráfico 7, se presenta el promedio de xilanos totales obtenido de las tres etapas de crecimiento analizadas, con el fin de conocer en qué etapa de crecimiento se sintetiza la mayor cantidad de xilanos y en los resultados se puede observar que la etapa de Elote es la que desarrolla el mayor contenido de xilanos presentando una concentración de 0.075 g/g en base seca y después con una concentración de 0.051 g/g en base seca la etapa de Mazorca, siendo la segunda en desarrollar más xilanos, por último la etapa de Jilote es la que presenta una síntesis menor de Xilanos con una concentración de 0.045 g/g en base seca.

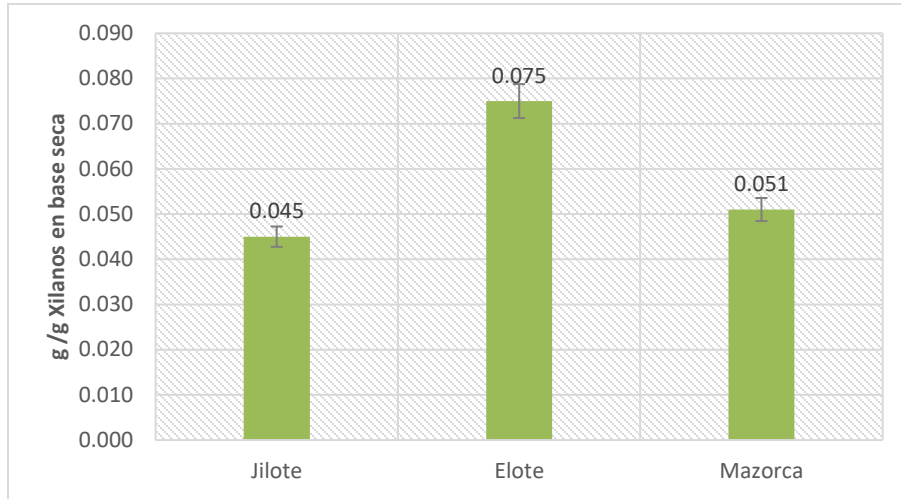


Gráfico 7. Promedio de xilanos totales en la planta del maíz morado

En el gráfico 8 se presentan los resultados obtenidos en cada una de las muestras evaluadas, con el fin de conocer las muestras que presenten las mejores concentraciones de xilanos y poder tener nuevas fuentes de xilanos para la industria de alimentos o farmacéutica, ya que actúan como prebióticos.

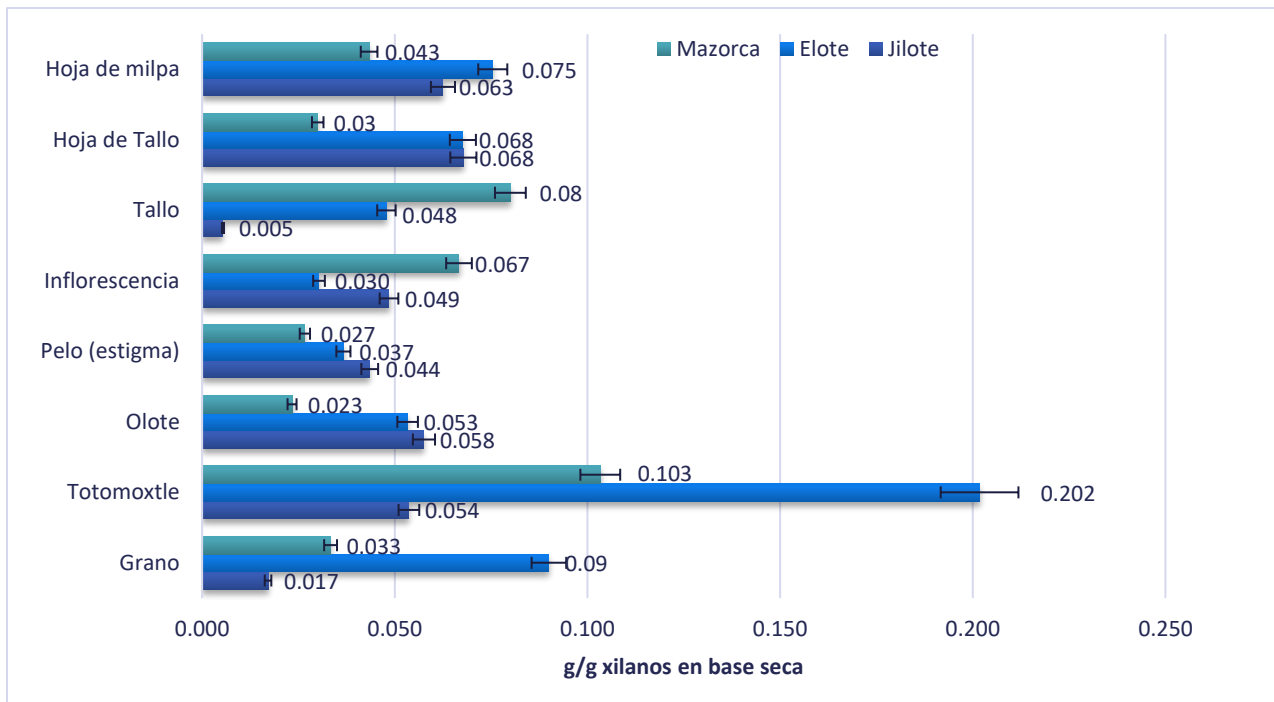


Gráfico 8. Xilanos totales, en maíz morado nativo en tres etapas de crecimiento

Jilote

En esta etapa se puede observar que las muestras que son parte del rastrojo del maíz es decir que son subproductos como hojas y brácteas son las que presentan las concentraciones más altas de xilanos y esto es porque tienen más tejido vegetal y los xilanos se encuentran unidos a las fracciones de hemicelulosa en la pared celular del tejido vegetal y esto hace que muestras como hoja de tallo y hoja de milpa sinteticen una gran concentración de xilanos con valores de 0.068 y 0.063 g/g en base seca, siguiéndoles muestras como olote y totomoxtle que presentaron una concentración de 0.058 y 0.054 g/g en base seca, por otro lado inflorescencia masculina y pelo (estigma) presentan una concentración de 0.044 y 0.049 g/g en base seca y sintetizando concentraciones menores de xilanos se encuentran grano y tallo con 0.017 y 0.005 g/g en base seca.

Elote

En esta etapa de crecimiento, siguen siendo los subproductos del maíz morado los que presentan las concentraciones altas, aunque cabe destacar que grano presentó la segunda concentración más alta con una concentración de 0.09 g/g en base seca y con este resultado se demuestra que podría ser un excelente alimento funcional por la función prebiótica que presentan los xilanos y en comparación con la etapa de Jilote la muestra que presenta la mayor concentración de xilanos es totomoxtle con un contenido de 0.202 g/g en base seca, en cuanto a hoja de milpa y hoja de tallo que en la etapa anterior habían desarrollado las concentraciones más altas en esta etapa hoja de milpa aumenta su concentración con 0.075 g/g en base seca y hoja de tallo presenta una concentración equivalente con respecto a la etapa anterior, presentando una concentración de 0.068 g/g en base seca, por otro lado, olote presenta una concentración de 0.053 g/g en base seca y pelo (estigma) e inflorescencia masculina con respecto a la etapa de Jilote también presentan una concentración menor con un valor de 0.037 y 0.030 g/g en base seca y en esta etapa tallo

incrementa su concentración de xilanos mostrando una concentración de 0.048 g/g en base seca.

Mazorca

En esta etapa de crecimiento del maíz morado, se puede observar que totomoxtle se mantiene como la muestra que presenta la mayor concentración de xilanos y comparando su concentración con la etapa de Elote se ha notado que descendió su concentración presentando un total de 0.103 g/g en base seca, en cuanto a tallo siguió sintetizando xilanos, siendo en esta etapa la segunda muestra que desarrolla más xilanos con una concentración de 0.08 g/g en base seca, por otro lado, inflorescencia masculina incrementa su concentración de xilanos desarrollando un total de 0.067 g/g en base seca y muestras como hoja de milpa y hoja de tallo disminuyeron su concentración de xilanos presentando valores de 0.043 y 0.03 g/g en base seca respectivamente. Las concentraciones más bajas las presentaron pelo (estigma) y olote con 0.027 y 0.023 g/g en base seca que en cada etapa fue notorio que iba descendiendo su concentración de xilanos totales.

Finalmente si se aprovechan los subproductos del maíz se pueden obtener excelentes fuentes de xilanos y estos pueden ser empleados por diferentes industrias como son la de alimentos y farmacéutica, ya que los xilanos se pueden emplear como prebióticos.

9. CONCLUSIONES

- Se cumplió con los objetivos del proyecto, ya que se logró identificar antocianinas por un método rápido en CCF y se confirmó su presencia en el HPLC encontrando 10 antocianinas entre las más importantes cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido y cianidina-3-6-malonil-glucósido, características del maíz morado.
- En cuanto a las antocianinas totales Elote fue la etapa de crecimiento que desarrolló la mayor concentración de antocianinas.
- Pelo (estigma) fue la muestra que presentó la mayor concentración de antocianinas en la etapa de crecimiento de Elote.
- Se logró identificar ácido ferúlico en las tres etapas de crecimiento (Jilote, Elote y Mazorca), siendo el ácido hidroxicinámico predominante en esta variedad de maíz morado.
- La etapa de crecimiento de Elote fue la que desarrolló la mayor concentración de fenoles totales.
- Pelo (estigma) fue la muestra que presentó el mayor contenido de fenoles totales, en la etapa de crecimiento de Elote.
- Jilote fue la etapa de crecimiento que mostró el mayor contenido de flavonoides totales.
- Pelo (estigma) es la muestra que más desarrollo de flavonoides totales presenta en la etapa de crecimiento de Jilote.
- Elote fue la etapa que presentó la mayor concentración de xilanos totales.
- Totomoxtle es la muestra que más concentración de xilanos totales presenta en la etapa de Elote.

Por tanto, la planta de maíz morado tiene un alto potencial como fuente de compuestos bioactivos, en particular en la etapa de Elote, ya que presenta la mayor concentración de fenoles, antocianinas y xilanos y la etapa de Jilote de flavonoides. Por otra parte el Pelo (estigma), Inflorescencia masculina, Grano,

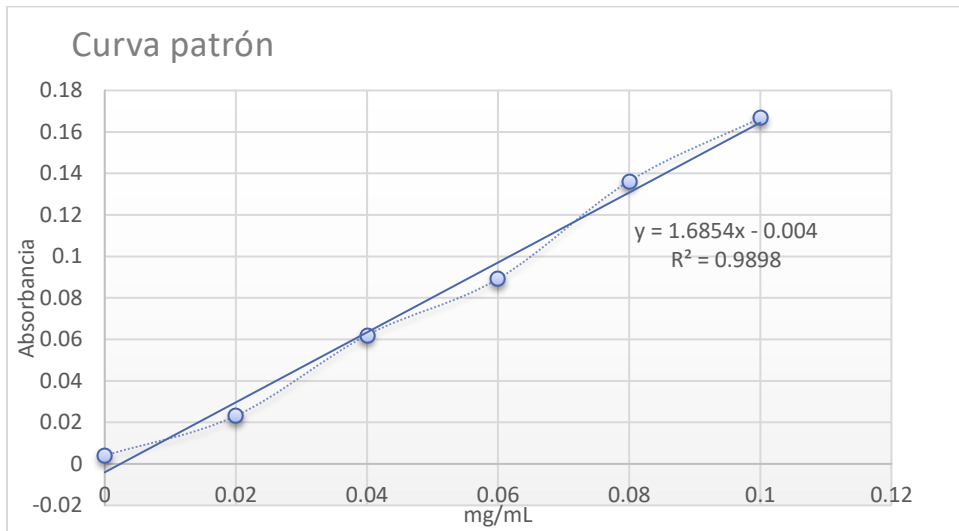
Olote y Totomoxtle presentan este tipo de compuestos y en mayor cantidad, por lo que estas muestras son una opción para la obtención de compuestos bioactivos.

10. ANEXOS

- **ANEXO I.** Curvas patrón de los estándares empleados para la cuantificación espectrofotométrica.

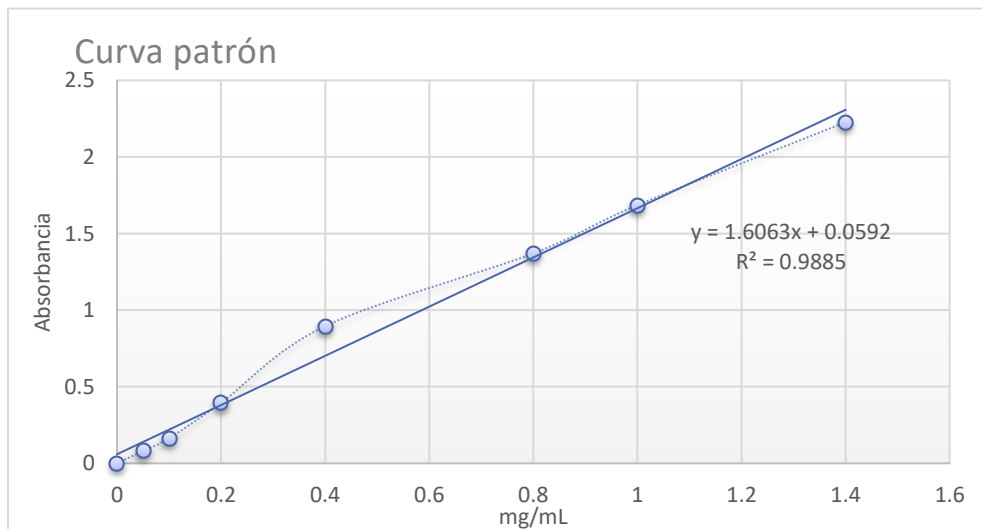
Curva patrón para fenoles totales a partir de ácido gálico

- Ácido gálico: 1mg/ 1mL



Curva patrón para flavonoides totales a partir de catequina

- Catequina: 0.1mg/ 1mL

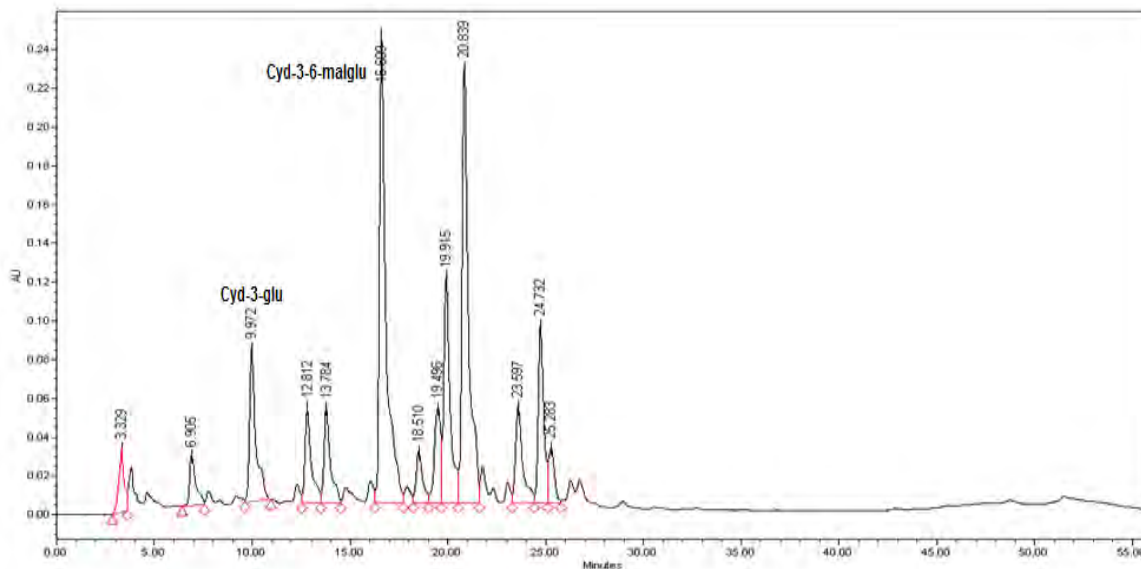


ANEXO II. Cromatogramas del perfil de antocianinas obtenido por HPLC

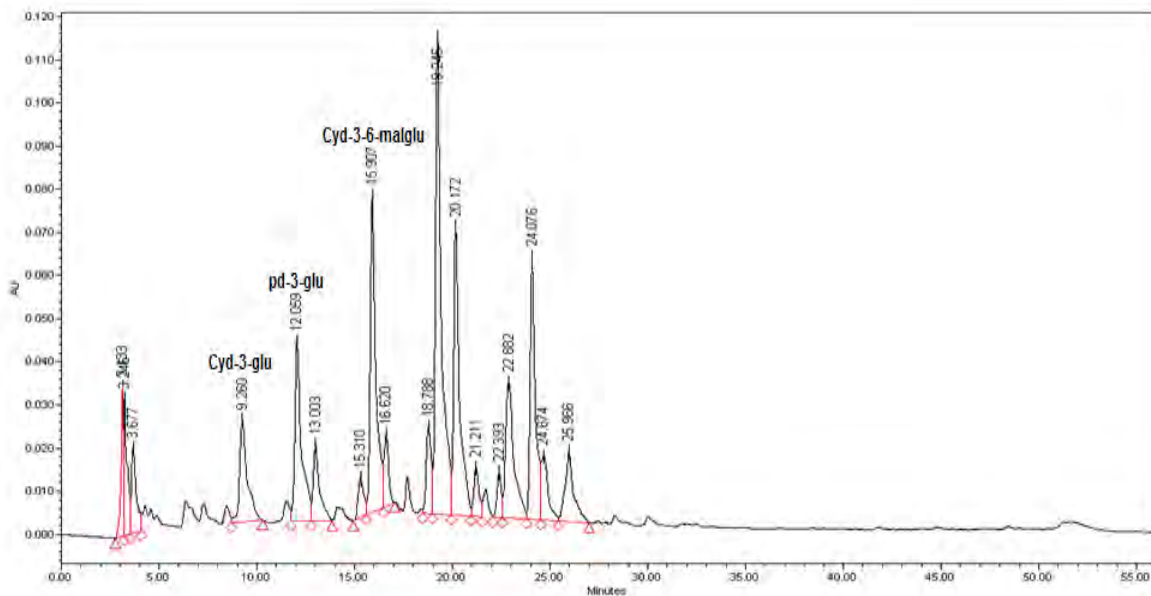
- **Condiciones cromatográficas y de estándares para todos los cromatogramas que se presentaran a continuación.**

Cromatogramas de extractos metanólicos, sin purificar de inflorescencia masculina, olote, pelo (estigma) y grano, realizados de acuerdo a las condiciones de un sistema de gradiente utilizando como fase móvil dos disolventes (A: H₂O/ACN/Ác Fórmico (87:3:10) y B: ACN) y una velocidad de flujo de 1.0 mL/min. Los estándares de C3G Y C36G se obtuvieron de un extracto metanólico de cebolla morada con un % pureza de 92 y 86 respectivamente y un tiempo de retención de 9.45 y 16.08 minutos y para el caso de P3G se utilizó como estándar un extracto metanólico de fresa con % pureza de 80 y un tiempo de retención de 12.27 minutos.

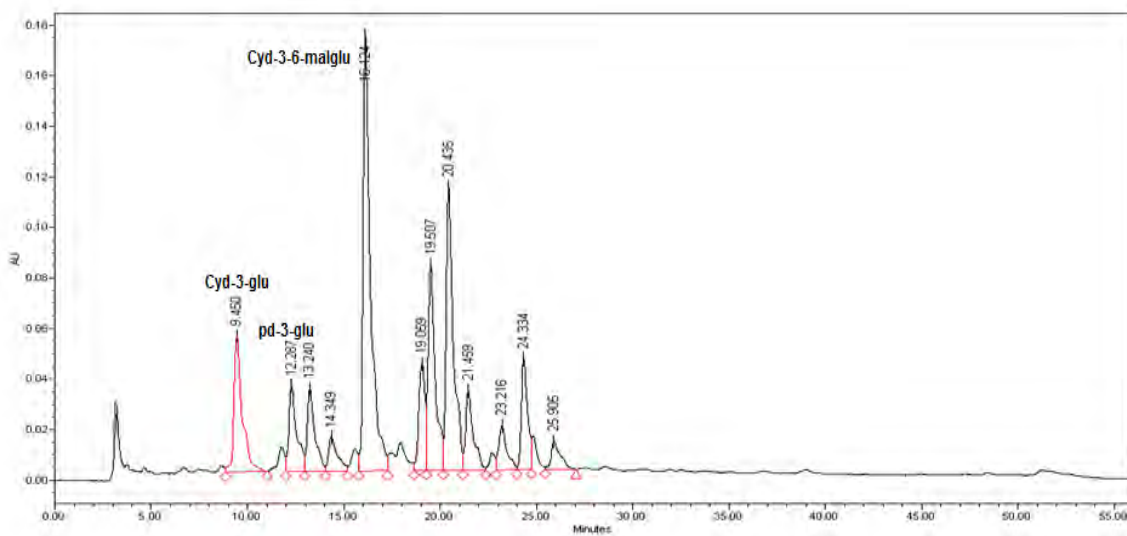
- Totomoxtle (jilote)



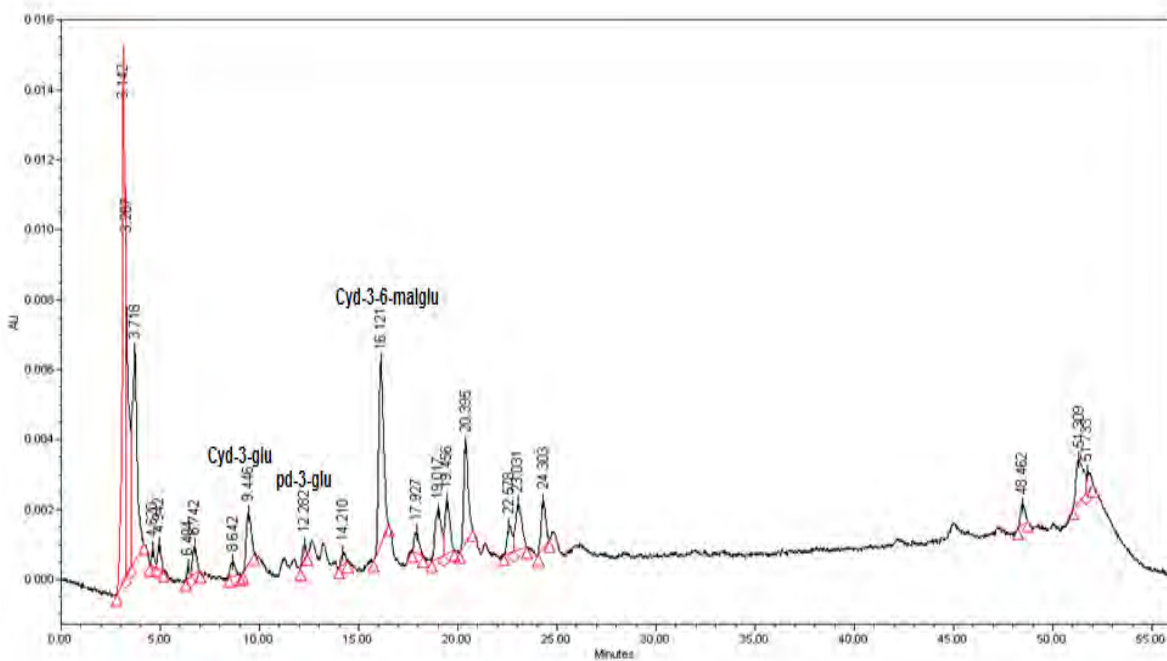
- Totomoxtle (elote)



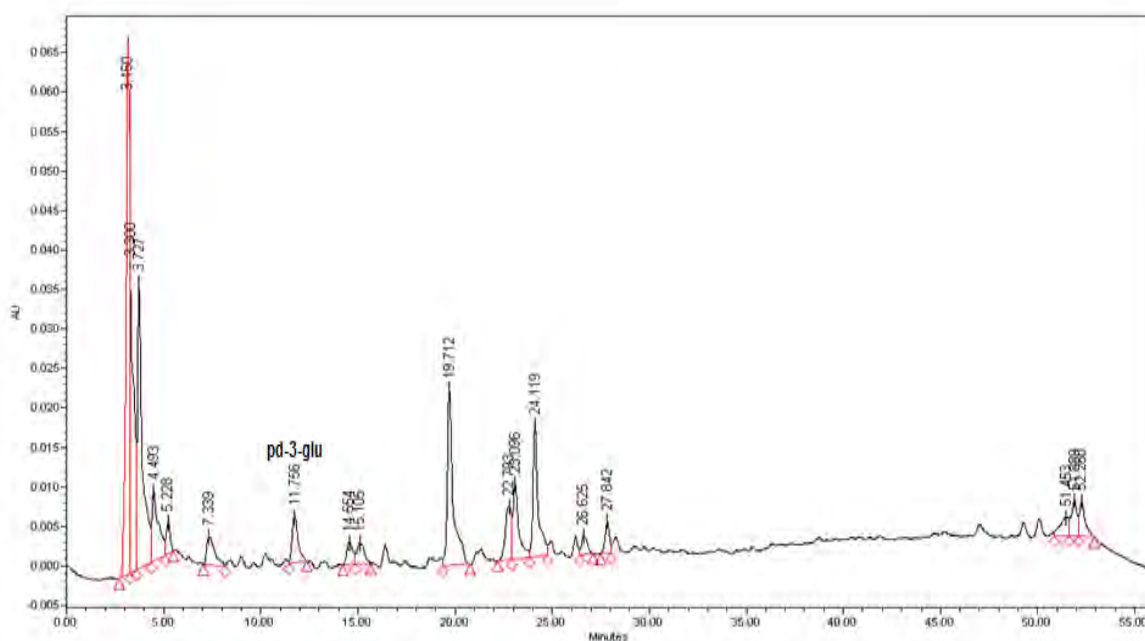
- Totomoxtle (mazorca)



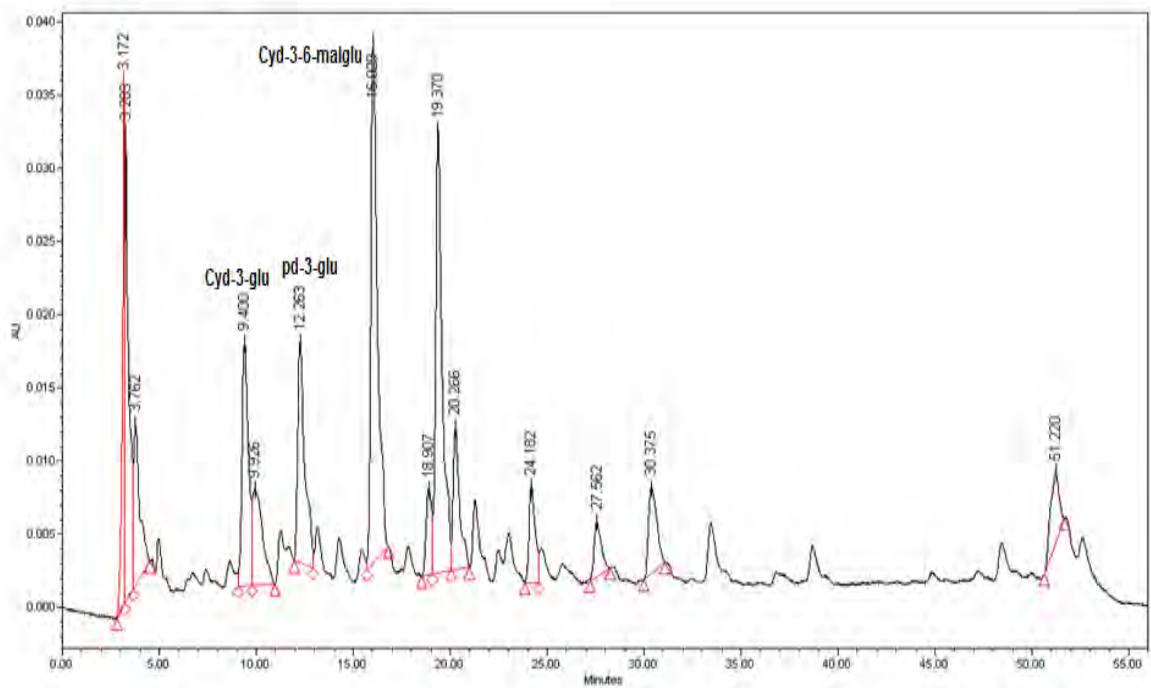
- Tallo de Jilote



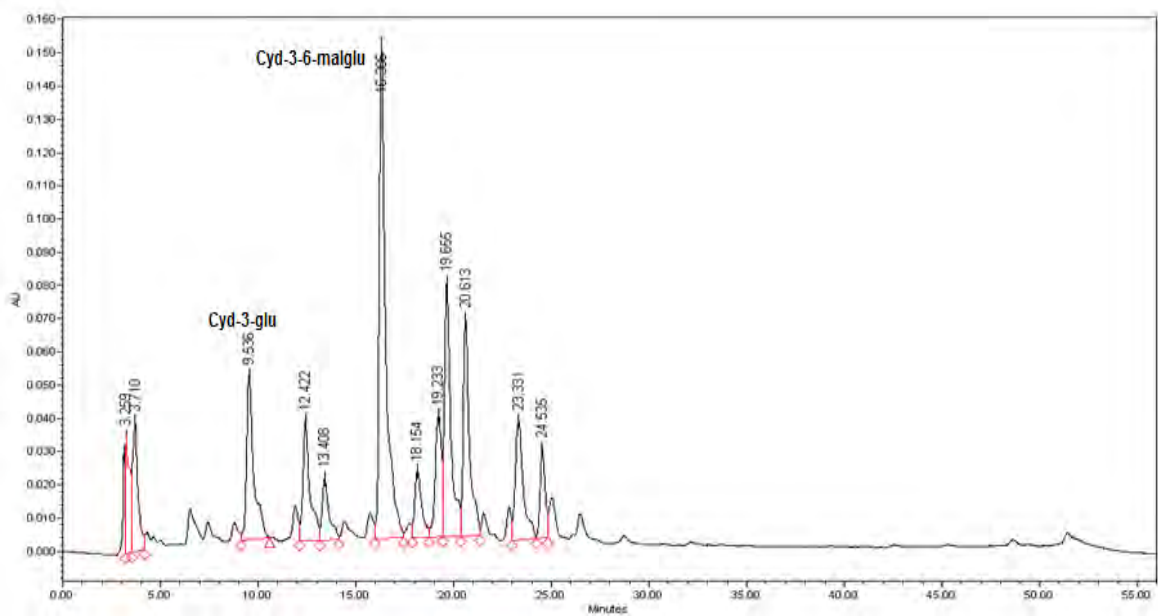
- Tallo de Elote



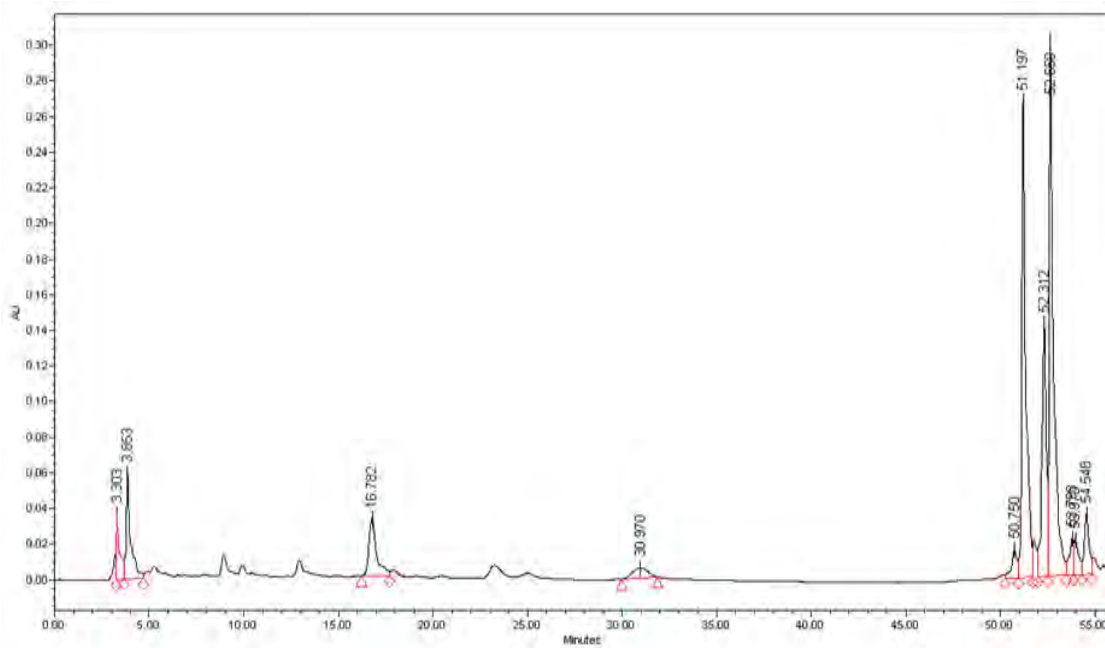
- Tallo de Mazorca



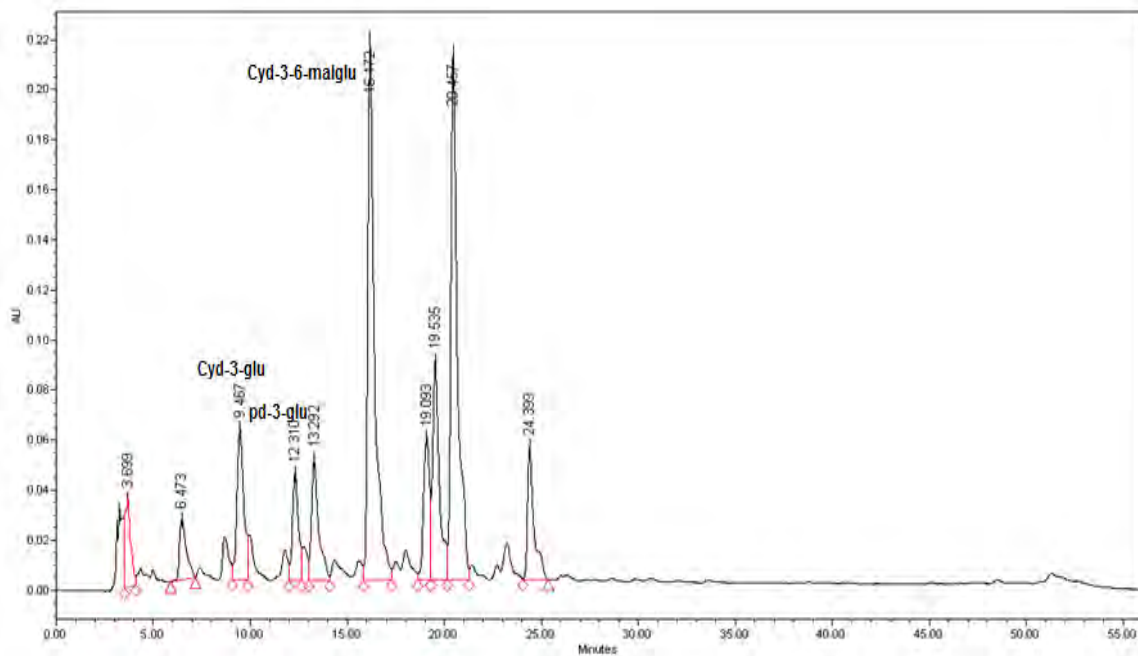
- Hoja de tallo (Jilote)



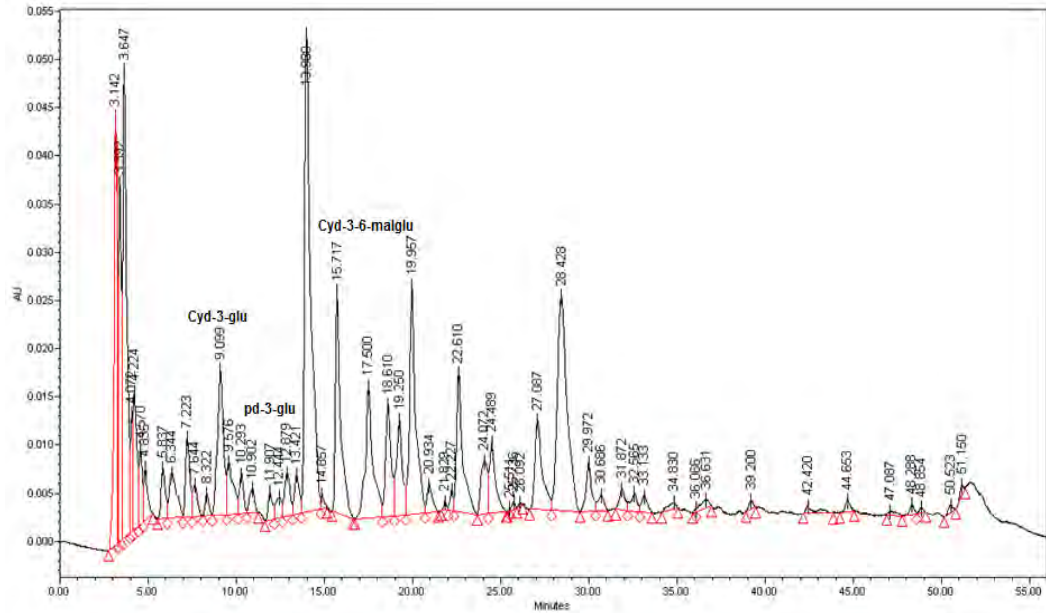
- Hoja de tallo (Elote)



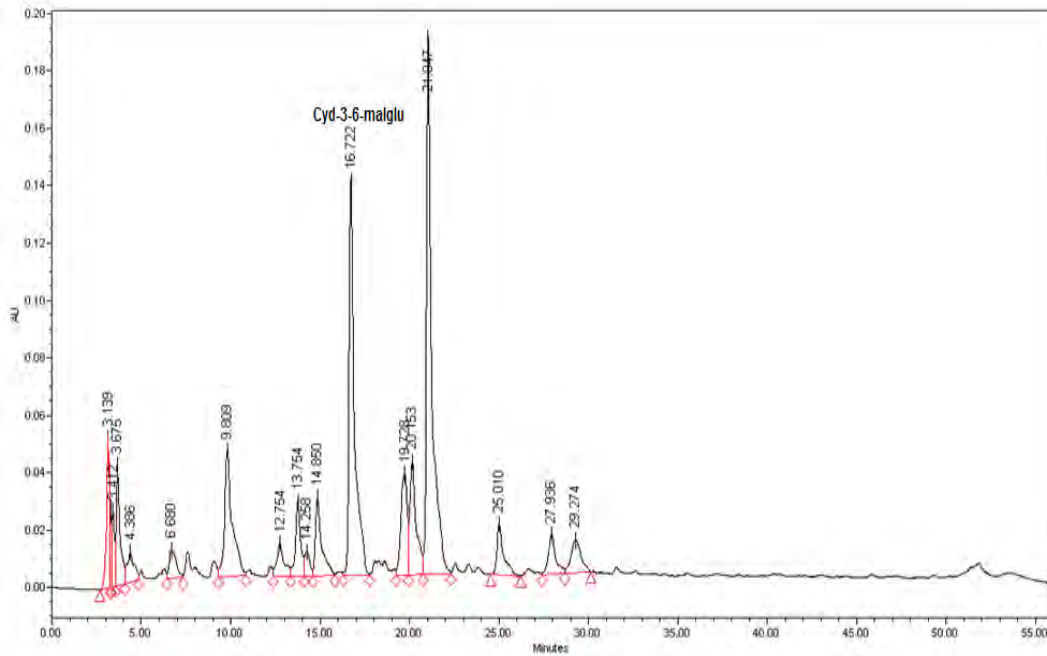
- Hoja de tallo (Mazorca)



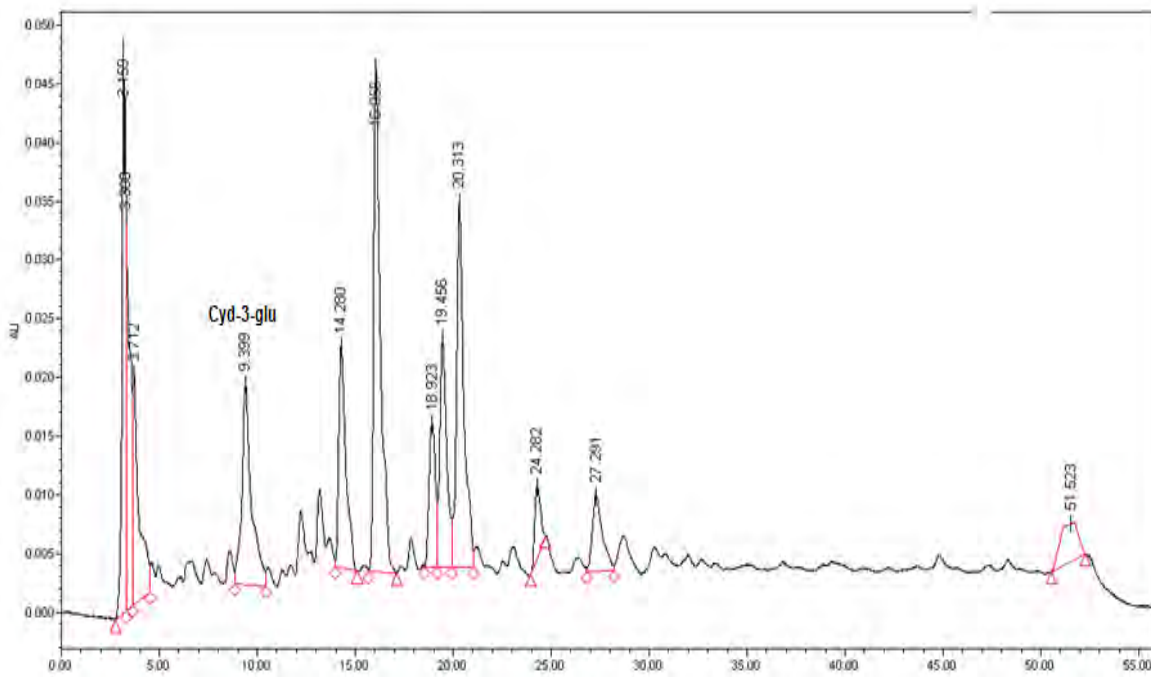
- Hoja de milpa (Jilote)



- Hoja de milpa (Elote)



- Hoja de milpa (Mazorca)



ANEXO III: ANÁLISIS ESTADÍSTICO (ANOVA)

Título	ANOVA ANTOCIANINAS	ANOVA FENOLES	ANOVA FLAVONOIDES	ANOVA XILANOS
F	4.08	10.28	4.93	1.66
PVal	0.01	0.0001	0.004	0.19
df	7	7	7	7
SS	320.43	28776.04	6863.92	0.01
MS	45.78	4110.86	980.56	0.002
dfError	16	16	16	16
SSError	179.66	6399.10	3181.20	0.02
MSError	11.23	399.94	198.83	0.001
sp	3.35	20.00	14.10	0.04

11. REFERENCIAS

- Abdel-Aal M, Young Christopher and Rabalski Iwona. (2006). Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 54, 4696-4704.
- Aguilera Ortiz Miguel, Reza Vargas María del Carmen, Chew Madinaveitia Rodolfo Gerardo y Meza Velázquez Jorge Armando. (2011). Propiedades funcionales de las Antocianinas. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 13 (2), 16-22.
- Aguilera Ortíz, Miguel. (2009). Caracterización y estabilidad de las antocianinas de Higo Ficus carica variedad Misipon, Cultivado en Ciudad Lerdo Durango, México. UANL. Tesis Doctorado en Ciencias con Acentuación en Alimentos. 46-49.
- Almeida Gudiño J.F. (2012). Extracción y caracterización del colorante natural del maíz negro (*Zea mays L.*) y determinación de su actividad antioxidante. Tesis Licenciatura. Escuela Politécnica Nacional. Ecuador.
- Alvírez-Morales Alicia, González-Martínez Blanca Edelia y Jiménez-Salas Zacarías. (2002). Tendencias en la producción de alimentos: Alimentos funcionales. *RESPYN (Revista Salud Pública y Nutrición)*. 3(3).
- Amit K. Das y Vasudeva Singh. (2015). Antioxidative free and bound phenolic constituents in pericarp, germ and endosperm of Indian dent (*Zea mays var. indentata*) and flint (*Zea mays var. indurata*) maize. *ELSEVIER journal of functional foods*. India.13, 363–374.
- Arroyo Jorge, Ruez Ernesto, Rodríguez Miguel, Chumpitaz Víctor, Burga Jonny, De la Cruz Walter y Valencia José. (2007). Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*Zea mays L.*) en ratas hipercolesterolémicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. Perú. 24(2), 57-162.

- Aza-González César, Núñez-Paleniús Héctor Gordon y Ochoa-Alejo Neftalí. (2012). Molecular Biology of Chili pepper Anthocyanin Biosynthesis. Journal of the Mexican Chemical Society. 56(1), 93-98.
- Barros-Ríos J, Malvar R.A y Santiago R. (2011). Función de la Pared celular del maíz (*Zea mays L*) como Mecanismo de defensa frente a la plaga del taladro (*Ostrinia Nubilalis Hub* y *Sesamia nona grioides* (ef). REB (Revista de Educación Bioquímica). 30(4), 132-142.
- Beltrán J, Bockholt A.J and Rooney L. (2001). Blue corn. In Hallaver, AR. Ed. Specialty corns. Iowa State University. 293-337.
- Biju John, Sulaiman C.T, Satheesh George and V R K Reddy. (2014). Total phenolics and flavonoids in selected medicinal plants from Kerala. International Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. Academic Sciences. 6(1), 406-408.
- Cabrera-Soto M. Luisa, Salinas-Moreno Yolanda, Velázquez-Cardelas Gustavo A y Espinosa Trujillo Edgar. (2009). Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. Agrociencia. 43(8), 827-839.
- Carrasco-Ríos Libertad. (2009). Efecto de la Radiación Ultravioleta-B en Plantas. Idesia (Arica). 27(3), 59-76.
- Carrillo Trueba César. (2009). El origen del maíz naturaleza y cultura en Mesoamérica. Revista. Redalyc. 92-93, 4-13.
- Castañeda-Sánchez A. (2011). Propiedades nutricionales y antioxidantes del maíz azul (*Zea mays L*). Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. 5 (2), 72-83.
- Cervera Valero, Joana T, Benlluch-Tinoco María, García-Martínez Eva y Martínez-Navarrete Nuria. (2013). Optimización de un proceso de secado combinado para obtener kiwi en polvo de alta calidad. Máster en Ciencia e Ingeniería de los Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia.
- Cooper Bribiesca Bárbara Leslie. (2013). Enzimas xilanolíticas bacterianas y sus aplicaciones industriales. VERTIENTES. Revista especializada en ciencias de la salud. 16(1), 19-22.

- De Pascual-Teresa Sonia, Santos-Buelga Celestino y Rivas-Gonzalo Julián. (2002). LC-MS analysis of anthocianins from purple corn. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82, 1003-1006.
- Escalante-Aburto Anayansi, Ramírez-Wong Benjamín, Torres-Chávez Patricia I, Barrón-Hoyos Manuel J, Figueroa-Cárdenas Juan de Dios y López-Cervantes Jaime. (2013). La nixtamalización y su efecto en el contenido de antocianinas de maíces pigmentados, una revisión. *Revista Fitotecnia mexicana*. 36(4), 429-437.
- Espinosa Trujillo Edgar. (2008). Algunos Aspectos genéticos y Bioquímicos de las Antocianinas en poblaciones criollas de maíz de granos pigmentados. Tesis Doctorado en Ciencias. Colegio de Postgraduados. México.
- Feria M.J, López F, García J.C, Zamudio M.A.M y Pérez A. (2009). Energía y productos de hidrólisis a partir de cultivos industriales y forestales. *AFINIDAD CXVI*. 544, 458-464.
- Fernández Aulis, M.F. (2014). Identificación y cuantificación de antocianinas aciladas de plantas endémicas de México (maíces y salvias). Tesis Maestría en Ciencias. UNAM. México.
- Fernández Suárez Rocío, Morales Chavéz Luis A y Gálvez Mariscal Amanda. (2013). Importancia de los maíces nativos de México en la dieta de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. Redalyc. org. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 36(3-A), 275-283.
- Flores Partida, V. (2011). Rendimiento de grano y contenido de antocianinas en poblaciones de maíz de la región de Huaquechula. Tesis de Maestría. Colegio de postgraduados. México.
- Fukamachi K, Imada T, Ohshima Y, Xu J and Tsuda H. (2008). Purple corn color suppresses rasprotein level and inhibits 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene-induced mammary carcinogenesis in the rat. *Cancer Science*. 99(9) ,1841-1846.
- Gamero Collado Dery y Sansoni José Antonio E. (1988). Obtención de colorante a partir del maíz morado. Tesis Licenciatura. Universidad

Nacional de Ingeniería. Facultad de Ingeniería Química y Manufacturera. Lima-Perú.

- Garzón Gloria Astrid. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. Acta biológica Colombiana. 13(3), 27-36.
- Gomez Francisco, Bueso Francisco, Reconco Rommel, Hughes-Hallett Peter, Bentley Jeffery y Smith Margaret. (1995). Manual de Mejoramiento y Conservación del Maíz Criollo con Pequeños Agricultores. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano.
- Gómez García Ricardo, Martínez Ávila Guillermo C, Rodríguez Herrera Raúl y Aguilar Cristóbal. (2012). Fuentes y beneficios de los antioxidante fenólicos. Ciencia cierta. 31.
- Gorriti Gutiérrez Arilmi, Arroyo Acevedo Jorge, Negron Ballarte Luisa, Jurado Teixeira Bertha, Purizaca Llajaruna Harold, Santiago Aquisé Ilario, Taype Espinoza Evelyng y Quispe Jacobo Fredy.a (2009). Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (*Zea mays L.*): Método de extracción. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 8(6), 509-518.
- Gorriti Gutiérrez Arilmi, Quispe Jacobo Fredy, Arroyo A. Jorge, Córdova R. Augusta, Jurado T. Bertha, Santiago A. Ilario y Taype E. Evelyng (2009) b. Extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays L.* “Maíz morado” Ciencia e investigación. 12(2), 64-74.
- Guillén-Sánchez Jhoseline, Mori-Arismendi Sigry y Paucar-Menacho Luz María. (2014). Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays L.*) Var. Subnigroviolaceo. Scienta Agropecuaria. 5(4), 211-217.
- Guisti, M.M. and Wrolstad, R.E. (2001). Characterization and measurements of anthocyanins by UV-VIS spectroscopy. In current protocols in Food Analytical Chemistry. New York. 13.
- Harakotr Bhornchai, Suriham Bhalang, Tangwongchai Ratchada, Scott Marvin Paul y Lertrat Kamol. (2014). Anthocyanins and antioxidant activity in coloured waxy corn at different maturation stages. ELSEVIER. 9, 109-118.

- Harnly James M, Doherty Robert F, Beecher Gary R, Holden Joanne M, Haytowitz David B, Bhagwat Seema and Gebhardt Susan. (2006). Flavonoid content of U.S. Fruits, Vegetables and Nuts. *Journal of Agricultural and food chemistry*. 54(26), 9966-9977.
- Hurtado Nelson H y Pérez Milena. (2014). Identificación, Estabilidad y Actividad Antioxidante de las Antocianinas Aisladas de la Cáscara del Fruto Capulí (*Prunus serotina* spp. *Capuli* (Cav) Mc. Vaug Cav). *Información Tecnológica*. 25(4), 131-140.
- Jiménez Pérez C. (2014). Utilización de Maíz Pigmentado para elaboración de un alimento funcional. Tesis Licenciatura. UAM. México.
- Kuskoski Martha E, Asuero Agustín G, Troncoso Ana M, Mancini-Filho Jorge y Fett Roseane. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology (Campinas)*. 25(4).
- Lavado Soto Mooner A, Ruez Guevara Luis y Robles Calderón Roberto. (2013). El maíz morado como materia prima industrial. *Revista de Facultad de Ingeniería Industrial*. 5(2), 85-91.
- Loera Corral Octavio. (2002). Las xilanasas microbianas y sus aplicaciones. *Bio Tecnología*. 7(2), 26-37.
- López Martínez L. Xóchitl y Baeza Jiménez Ramiro. (2010). Comparación de la capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y antocianinas totales de diferentes variedades de maíz (*Zea mays* L). *INVURNUS*. 5(2), 19-22.
- López-Martínez L. Xóchitl y García-Galindo H. Sergio. (2009). Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintos variedades de maíz mexicano. *Revista electrónica. Nova Scientia*. 2(3), 51-66.
- Márquez Mendoza G.M. (2011). Capacidad antioxidante y caracterización estructural de las antocianinas de los frutos rojos *Prunus domestica* L., *Ficus carica* L. y *Vitis vinifera* L. c.v. "red globe" cultivados en Perú. Tesis para el grado de Magíster en Recursos Vegetales y Terapéuticos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima-Perú.

- Mendoza Mendoza, C.G. (2012). Las Antocianinas del Maíz: Su distribución en la planta y producción. Tesis Maestría. Colegio de Postgraduados. México.
- Muñoz Jáuregui Ana María y Ramos Escudero Fernando. (2007). Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. Revista Horizonte Médico. 7(1), 23-31.
- Oliveira Fuster G y González-Molero I. (2007). Probióticos y prebióticos en la práctica clínica. Nutrición Hospitalaria. 22(Supl. 2), 26-34.
- Ortiz- Torres E, Antonio López Pedro, Gil-Muñoz Abel, Guerrero-Rodríguez Juan de Dios, López-Sánchez Higinio, Taboada Gaytán Oswaldo R, Hernández-Guzmán Arahón y Valadez-Ramírez Mario. (2013). Rendimiento y Calidad de elote en poblaciones nativas de maíz de Tehuacán, Puebla. Revista Chapingo. Serie horticultura. 19(2), 225-238.
- Pandey Rachna, Singh Amitabh, Maurya Sudarshan, Singh U.P and Singh Mandavi. (2013). Phenolic acids in different preparations of Maize (*Zea mays*) and their role in human health. International Journal of Corrent Microbiology and Applied Sciences. 2(6), 84-92.
- Perales R y Hugo R. (2009). Maíz riqueza de México. Redalyc. 92-93,46-55.
- Petroni Katia, Pilu Roberto y Tonelli Chiara. (2014). Anthocyanins in corn: A wealth of genes for human health. Springer.Verlay. 240, 901-911.
- Quiñones M, Miguel M y Aleixandre A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutrición hospitalaria. 27(1), 76-89.
- Quispe Jacobo Fredy, Arroyo Condorena Karim y Gorriti Gutiérrez Arilmí. (2011). Características morfológicas y químicas de 3 cultivares de maíz morado (*Zea mays L*) en Arequipa-Perú. Revista de la Sociedad Química del Perú. 77(3).
- Ramírez Amador Karla, Rojas Carrillo Óscar, Alvarado Aguilar Patricia y Vega-Baudrit José. (2012). Obtención de xilosa a partir de desechos lignocelulósicos de la producción y proceso industrial de la piña. UNICIENCIA. 26, 75-89.

- Risco Mendoza Martha, Salazar González Magda y Donckers Roeland (2007). Conociendo la cadena productiva del maíz morado en Ayacucho. Solid Perú.16-18.
- Rivas Gonzalo J.C. y Garcia Alonso M. (2002). Flavonoides en alimentos vegetales: estructura y actividad antioxidante. Alimentación, Nutrición y Salud. Instituto DANONE, 9(2), 31-38.
- Robledo Olivo Armando, Aguilar Cristóbal N y Montañez Sáenz Julio César. (2012). Uso del Olote de maíz como sustrato microbiano para la obtención de xilanasas. Revista de Divulgación Científica. AQM. Coahuila- México. 7.
- Rostro Alanis. M. J. (2014). Obtención y caracterización química de arabinoxilooligosacáridos a partir de pericarpio de maíz nixtamalizado y determinación de la actividad prebiótica y actividad antioxidante. Tesis Doctorado. UANL. Fac. De Ciencias Químicas. México.
- Salinas Moreno Yolanda, Cruz Chávez Francisco, Díaz Ortiz Silvia y Castillo González Fernando. (2012). Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. Revista fitotecnia mexicana. 35(1).
- Salinas Moreno Yolanda, García Salinas Carolina, Coutiño Estrada Bulmaro y Vidal Martínez Víctor. (2013). Variabilidad en contenido y tipo de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. Revista Fitotecnia. 36(3-A), 285-294.
- Salinas-Moreno Yolanda, López-Reynoso José de J, González-Flores Guadalupe B y Vázquez-Carrillo Griselda. (2007). Compuestos fenólicos del grano de maíz y su relación con el oscurecimiento de masa y tortilla. Agrociencia. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. 41 (5), 295-305.
- Salinas-Moreno Yolanda, Pérez-Alonso José J, Vázquez-Carrillo Griselda, Aragón-Cuevas Flavio y Velázquez-Cardelas Gustavo A. (2012). Antocianinas y Actividad antioxidante en Maíces (*Zea Mays L.*) De las Razas Chalqueño, Elotes cónicos y bolita. Revista Scielo. Agrociencia. 46(7). 693-706.

- Santa Rosa René H, Gil Muñoz Abel, Santacruz Varela Amalio, Miranda Colín Salvador y Córdova Téllez Leobigildo. (2008). Diversidad Morfológica de maíces nativos del Valle de Puebla. *Agricultura técnica en México*. 34(2), 189-200.
- Serna–Saldívar Sergio O, Gutiérrez-Urbe Janet A, Mora-Rochin Saraid y García-Lara Silverio. (2013). Potencial nutracéutico de los maíces criollos y cambios durante el procesamiento tradicional y con extrusión. *Redalyc. Org. Revista Fitotecnica Mexicana*. 36(3-A), 295-304.
- Silva-Espinoza Brenda A, Ortega-Ramírez Luis A, González-Aguilar Gustavo A, Olivas Isela y Ayala-Zavala Jesús F. (2013). Protección antifúngica y enriquecimiento antioxidante de fresa con aceite esencial de hoja de canela. *Revista fitotecnica*. 36(3), 217-224.
- Tomás-Barberán F.A. (2003). Los polifenoles de los alimentos y la Salud. *Alimentación Nutrición y Salud*. Instituto DANONE. 10(2), 41-53.
- Valencia C.S.Y. y Rodríguez H.L.F. (2011). Cinética de la deshidratación y control de la oxidación en manzana. Granny Smith, mediante la aplicación de diferentes métodos de secado. *Tumbaya*. 1(6), 7-16.
- Vargas Álvarez Y. (2013). Síntesis de compuestos tipo éster derivados del ácido ferúlico y estudio de su oxidación electroquímica en un medio aprótico. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana. Xalapa-Veracruz.
- Wrolstad Ronald E, Durst Robert W and Lee Jungmin. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *ELSEVIER. Trends in Food Science & Technology*. 16, 423-428.
- Yang Zhendong y Zhai Weiwei. (2010). Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays L*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 11(1), 169-176.
- Yang Zhendong, Chen Zhijie, Yuan Shulin, Zhai Weiwei, Piao Xiangshu and Piao Xianglan. (2009). Extraction and identification of anthocyanins from purple corn (*Zea mays L*). *International Journal of Science & Technology*. 44, 2485-2492.

- Zapata Sandra, Piedrahita Ana María y Rojano Benjamín. (2014). Capacidad de radicales de oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspectiva en Nutrición Humana*. 16(1), 25-36.
- Zhao X, Corrales Margarita, Zhang Chao, Hu Xiaosong, Ma Yue and Tausher Bernhard. (2008). Composition and thermal stability of anthocyanins from Chinese purple corn (*Zea mays* L.). *Journal of Science of Food and Agriculture*. 56(22), 10761-10766.
- Zilic Sladana, Serpen Arda, Akillioglu Gül, Gökmen Vural and Vancetović Jelena. (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.

Referencias encontradas en páginas de internet

- Depósito de documentos de la FAO (2015, mayo). Disponible en: [http://www.fao.org/docrep/t0395s/T0395S02.htm#Origen del maíz](http://www.fao.org/docrep/t0395s/T0395S02.htm#Origen%20del%20maiz)
- FND (2015, mayo). Disponible en: <http://www.financiararural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Ma%C3%ADz%20%28may%202014%29.pdf>
- CONABIO (2015, noviembre). Disponible en: <http://www.biodiversidad.gob.mx/usos/maices/maiz.html>
- CONABIO (2015, noviembre). Disponible en: <http://www.biodiversidad.gob.mx/usos/maices/grupos/elotesConicos.html>
- Revista de Agricultura (2015, noviembre). Disponible en: <http://www.mag.go.cr/rev-histo/ra-17-12-615.pdf>
- Depósito de documentos de la FAO (2015, noviembre). Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/t0395s/t0395s00.htm>

Referencias de Libros

- Badui Dergal Salvador. (2006). Química de los Alimentos. Cuarta edición. Pearson Educación. México.
- Jugenheimer, R. W. (1981). Variedades mejoradas y métodos de cultivo y producción de semillas. Limusa. México. Pág. 51-72
- Jugenheimer, R. W. (1988). Maíz, variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semillas. Limusa, México.
- Paredes López Octavio, Guevara Lara Fidel y Bello Pérez Luis Arturo. (2006). Los Alimentos Mágicos De Las Culturas Indígenas Mesoamericanas. México. Fondo de Cultura Económica. 21-22.
- Ramírez Nava Juan. (2006). Liofilización de Alimentos. Universidad del Valle. ReCiTeIA. Colombia. Pág. 2.
- Reyes Castañeda Pedro. (1990). El maíz y su cultivo. A.G.T. Editor, S.A. México.
- Scientific Company Ltd.
- Smith I, Feinberg JG. (1965). Papper & Thin Layer Chromatography and Electrophresis. Shandon.