



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO  
FACULTAD DE QUÍMICA**

**EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE  
ANTOCIANINAS ACILADAS DE OLOTES DE MAÍCES  
MORADOS DEL CENTRO DE MÉXICO Y SU APLICACIÓN  
COMO COLORANTE EN ALIMENTOS**

**T E S I S**

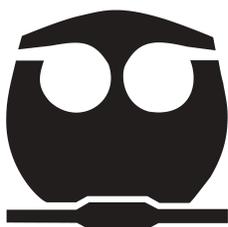
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**QUÍMICO DE ALIMENTOS**

PRESENTA

**VILLA DE LA TORRE RAFAEL**

TUTOR DE TESIS

ARTURO NAVARRO OCAÑA



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX 2023



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y por extensión, a la Facultad de Química, por permitirme ser parte de la máxima casa de estudios y darme el aprendizaje necesario para llevar a cabo este proyecto.

A mi asesor de tesis, el Dr. Arturo Navarro Ocaña quien me brindó la oportunidad de formar parte de este proyecto y por su asesoría en este proceso.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) por financiar este proyecto.

# Índice

1.	Resumen	1
2.	Introducción	3
3.	Marco Teórico	6
3.1.	Antocianinas	6
3.1.1.	Generalidades	6
3.1.2.	Estabilidad de Antocianinas	11
3.1.3.	Propiedades Nutracéuticas	13
3.1.4.	Aplicaciones	15
3.2.	Maíz	16
3.2.1.	Generalidades	16
3.2.2.	Variedades de Maíz	19
3.2.3.	Composición Química	23
3.2.4.	Usos y Aplicaciones Industriales	27
3.2.5.	Olote	31
3.3.	Condiciones Geográficas del Centro de México	35
3.3.1.	Generalidades Geográficas de México	35
3.3.2.	Condiciones Geográficas de la Mesa Central	40
3.4.	Extracción de Compuestos Naturales	43
3.4.1.	Extractos Naturales	43
3.4.2.	Técnicas de Extracción de Compuestos Naturales	45
3.4.3.	Extracción Asistida por Ultrasonido	48
3.5.	Crioconcentración	51
4.	Hipótesis	55
5.	Objetivos	55
5.1.	Objetivo General	55
5.2.	Objetivos Particulares	55
6.	Equipos y Materiales	56

7.	Metodología	59
7.1.	Diseño Experimental	59
7.2.	Preparación de Muestras y Extractos	60
7.3.	Preparación de Aislados de Antocianinas	62
7.4.	Crioconcentración	63
7.5.	Determinación de Antocianinas Totales	64
7.6.	Determinación de Flavonoides Totales	65
7.7.	Determinación de Fenoles Totales	66
7.8.	Caracterización por Cromatografía Líquida de Alta Resolución	67
7.9.	Determinación de Acidez Titulable	68
7.10.	Preparación de Encapsulados de Antocianinas	68
7.11.	Pruebas de Estabilidad	68
7.12.	Análisis Estadístico	69
8.	Resultados y Discusión	70
8.1.	Determinación de Compuestos Bioactivos en Variedades de Olote de Maíz Morado	70
8.1.1.	Antocianinas Totales	73
8.1.2.	Flavonoides Totales	76
8.1.3.	Fenoles Totales	77
8.1.4.	Selección de Variedades	79
8.2.	Optimización de Metodología de Extracción Asistida por Ultrasonido de Alta Potencia	80
8.2.1.	Tiempo de Tratamiento	81
8.2.2.	Agente Extractante	84
8.3.	Elaboración de Concentrados y Aislados de Antocianinas de Olote de Maíz Morado	88
8.3.1.	Caracterización de Aislados de Antocianinas Mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficacia	89

8.3.2.	Crioconcentración	. . . . .	96
8.4.	Elaboración de Colorante para Alimentos de Antocianinas de Olote de Maíz Morado	. . . . .	99
8.4.1.	Estabilidad de Encapsulados de Antocianinas	. . . . .	102
8.4.2.	Aplicación del Colorante en un Producto Alimenticio	. . . . .	104
9.	Conclusiones	. . . . .	106
10.	Referencias	. . . . .	107

# 1. Resumen

Las antocianinas son una clase de compuestos fenólicos presentes en una gran cantidad de flores o frutos. Gracias a su carácter iónico estos pigmentos son de alta estabilidad bajo condiciones ácidas y son solubles en agua lo que permite utilizarlos como colorantes de origen natural en alimentos y bebidas. El objetivo principal de este proyecto es la extracción y purificación de antocianinas obtenidas a partir de oletes de maíz morado (*Zea mays L.*) utilizando la tecnología de ultrasonido.

Este proyecto se llevó a cabo en cuatro etapas, la primera consistió en la preparación de muestras de oletes de maíz morado originarias de seis comunidades del Estado de México, Tlaxcala, Puebla y la Ciudad de México. Se evaluó el contenido de ciertos compuestos bioactivos (antocianinas totales, flavonoides totales y fenoles totales) de extractos metanólicos elaborados con las distintas variedades con el objetivo de identificar la variedad o variedades con cuyo contenido de estos es significativamente mayor al resto, siendo estas las variedades provenientes de Atlacomulco, Ocoyoacac, Tlalpan y Xochimilco con un contenido de antocianinas totales de 29.99 a 34.16 mg/g de gluma de olote morado.

La segunda parte fue la optimización del método de extracción asistida por ultrasonido de alta potencia. Se evaluaron las condiciones bajo las cuales se maximiza la eficiencia del proceso de extracción y se determinó el tiempo idóneo de tratamiento, así como el desempeño de cuatro distintos agentes extractantes aptos para su uso en la industria alimentaria con el fin de desarrollar una metodología que permita obtener un extracto de olote de maíz morado rico en antocianinas.

Al realizar dos ciclos de extracción con una solución al 1% de ácido cítrico en etanol 80% a 70 °C durante 30 segundos de tratamiento se logró extraer 20.23 mg de antocianinas por gramo de gluma de olote morado. Por otro lado, al utilizar una solución acuosa de ácido clorhídrico al 0.2% a 70 °C se logró obtener 12.38 mg de antocianinas totales por gramo de gluma de olote morado.

La tercera parte consistió en la elaboración de concentrados de olote de maíz morado ricos en antocianinas. Se elaboraron extractos acuosos utilizando las variedades Xochimilco y Tlalpan mediante extracción asistida por ultrasonido de alta potencia, obteniendo así una cantidad significativa de extracto rico en antocianinas. Se obtuvo el perfil de antocianinas de los extractos elaborados mediante un análisis por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) donde se determinó que las antocianinas mayoritarias del olote de maíz morado son la cianidina-3-glucósido (C3G), la cianidina-3(6''-malonil)glucósido (C3MG) y la cianidina-3(3'',6'''-dimalonil)glucósido. Estos extractos fueron posteriormente concentrados mediante la técnica de crioconcentración, logrando un aumento en la concentración de los extractos de un 339% con una eficiencia de 43.2%.

En la cuarta etapa, a partir de los concentrados líquidos se prepararon encapsulados de antocianinas y se evaluó la estabilidad de las antocianinas tanto en una solución acuosa como en el encapsulado bajo distintas condiciones de pH y temperatura, donde solo se observó una pérdida significativa de antocianinas totales al someter soluciones del extracto acuoso y de encapsulados a 80 °C bajo un pH de 6 durante 90 minutos. Por último se exploraron aplicaciones potenciales de los extractos y encapsulados elaborados para su uso como colorante en alimentos.

Se elaboró una jalea de guayaba pigmentada con colorante en polvo en una proporción de 3.89 g de colorante por kg de producto, obteniendo una jalea con una coloración rosada de intensidad adecuada.

## 2. Introducción

En la industria de alimentos se ha desarrollado una tendencia reciente por reducir el uso de colorantes artificiales. Pigmentos como el rojo cítrico N° 2, la eritrosina o la tartrazina han caído en desuso e inclusive se ha prohibido su uso en ciertas jurisdicciones. Su consumo se ha ligado a efectos adversos como el desarrollo de alergias e incluso se han clasificado como potenciales agentes cancerígenos.

En respuesta a esto, se ha formado una demanda creciente por el desarrollo y el uso de aditivos de origen natural. Pigmentos de origen vegetal como los carotenos, las clorofilas o las antocianinas son cada vez más requeridos por la industria alimentaria ya que son considerados aditivos seguros.

No solo son compuestos inocuos, si no que gracias a ciertas características como puede ser su potencial antioxidante; la integración de estos componentes a una dieta puede influir favorablemente sobre la salud de un individuo. A partir de esto ha surgido una gran cantidad de productos farmacéuticos y alimenticios que buscan inducir efectos benéficos sobre el organismo mediante su consumo.

Simultáneamente, en la búsqueda por maximizar la eficiencia de procesos de elaboración de alimentos y otros productos; ha habido un auge en el desarrollo de técnicas y procesos que permitan reducir e incluso aprovechar los residuos producidos en la agricultura.

Materiales como los tallos y hojas suelen destinarse para la elaboración de pienso en el mejor de los casos mientras que en otros simplemente se desechan sin más. Sin embargo, muchos tejidos vegetales cuentan con fibras o compuestos de alto valor, aún si estos no tienen un valor nutricional como aquellos productos adyacentes con un valor comercial más claro.

Productos elaborados a partir de fibras y polímeros elaborados con subproductos de actividades agrícolas son relativamente comunes hoy en día. El polilactato lentamente ha ido desfasando al polietileno en la producción de plásticos desechables y en películas protectoras utilizadas comúnmente en envases para alimentos. Otros biopolímeros elaborados a partir de otros compuestos como el quitosán o la pectina muestran un gran potencial para ser aplicados de la misma manera.

Por otro lado, la obtención de compuestos de alto valor, como pueden ser los pigmentos naturales mencionados anteriormente, a partir de agroresiduos sigue siendo un área de estudio con gran potencial. Por lo general los agroresiduos no suelen ser aprovechados de esta manera hoy en día. Si bien hay excepciones como la industria vinícola, la falta de procesos eficientes mediante los cuales se puedan obtener componentes de alto valor ha limitado la aplicación de estos conceptos.

El maíz es uno de los, si no el producto agrícola más importante en México y es uno de los cereales de mayor valor comercial en el mundo. México es considerado la cuna del maíz, cultivado desde tiempos prehispánicos, su consumo está ligado fuertemente a la cultura e identidad de la población y forma una parte integral de la dieta de la gran mayoría de los mexicanos.

A partir del maíz se elaboran un sinnúmero de alimentos de todo tipo, los granos son altamente nutritivos y han sido la piedra angular de la alimentación de las comunidades de la región por miles de años. Las hojas que recubren las mazorcas, conocidas comúnmente como totomoxtle también son de utilidad. Son utilizadas comúnmente como envoltura en la elaboración de algunos alimentos, siendo los tamales la aplicación más popular.

Por otro lado, los tallos, hojas y olotes de maíz no se destinan para consumo humano. Se suelen utilizar como pienso o para la producción de fibras naturales en el caso de los tallos. Actualmente existen ciertas aplicaciones tecnológicas para estos agroresiduos, siendo la producción de biocombustibles y biopolímeros las más importantes.

Entre las más de 50 razas de maíz nativo de México, se encuentran varias razas de maíz pigmentado. En estas razas es común que el grano, olote, totomoxtle y/o tallo cuenten con pigmentación. Los pigmentos que le dan su color a las razas de maíces rojos, morados y azules pertenecen al grupo de las antocianinas.

Las antocianinas son un grupo de compuestos de origen vegetal responsables del color de una infinidad de flores, frutos y raíces. Estos pigmentos son de alto valor comercial, hoy en día son altamente utilizados en la industria cosmética, aunque suelen obtenerse de otras fuentes. Son altamente solubles en agua y gracias a su potencial antioxidante su consumo está asociado con efectos benéficos como puede ser la prevención de enfermedades cardiovasculares.

Considerando todo lo anterior, mediante este estudio se buscó la manera de aprovechar los subproductos de la producción de maíz pigmentado para la elaboración de un aditivo alimentario de origen natural. Esto se realizó mediante el aprovechamiento de la tecnología emergentes de extracción de ultrasonido, esta tecnología permite la obtención de componentes de interés de una manera eficiente, rápida y de menor impacto ambiental comparada con técnicas convencionales.

## 3. Marco Teórico

### 3.1 Antocianinas

#### 3.1.1 Generalidades

Las antocianinas son una clase de compuestos fenólicos que se encuentran en las vacuolas y el citoplasma de las células vegetales de flores, frutos, tallos o raíces de una gran variedad de plantas. Son pigmentos naturales responsables del color rojo, rosa, anaranjado o azul de estos tejidos, dependiendo del tipo de antocianina o antocianinas presentes (de la Rosa *et al.*, 2019).

Su función en los tejidos vegetales depende de su locación, en el caso de las flores se producen por ser pigmentos potentes para atraer polinizadores, mientras que su presencia en hojas y tallos se deben a que también fungen como fitoalexinas, es decir, son sustancias que protegen a la planta de agentes infecciosos además de prevenir daños causados por radiación UV (Jackman y Smith, 1996).



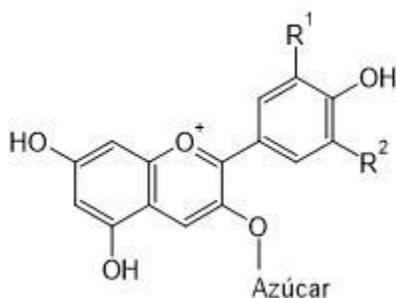
Figura 1. Ejemplos de productos vegetales pigmentados con antocianinas, desde arriba, izquierda a derecha: Uva merlot, fresa, granada, cereza, maíz morado, frijol negro, arroz negro, clavel, jamaica, crisantemo, lavanda, camote morado, zanahoria morada, cebolla morada (Imágenes de iStock).

Las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides y son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina la cual cuenta con uno o más carbohidratos unidos mediante enlaces  $\beta$ -glucosídicos (Sinopoli *et al.*, 2019). Si bien es posible que en cualquiera de los grupos hidroxilo haya una glicosilación, el hidroxilo del carbono 3 siempre está glicosilado (Jackman y Smith, 1996).

Lo que hace especial a las antocianinas es que son los únicos flavonoides de carácter iónico (Ravanel y Medina, 2021). A diferencia del resto de los flavonoides, las antocianinas cuentan con una hidroxilación en el carbono 3. La presencia de un grupo enol permite la formación del ión flavilio el cual les da su color rojizo o magenta característico.

Existe una gran cantidad de antocianinas distintas sin embargo, en la naturaleza la gran mayoría de las antocianinas presentes en tejidos vegetales corresponden a los derivados de seis antocianidinas: Cianidina, delphinidina, malvidina, pelargonidina, peonidina y petunidina (Wallace y Giusti, 2019).

La cianidina es la antocianina más abundante siendo esta el esqueleto de cerca del 50% de todas las antocianinas y se encuentra comúnmente en tallos, raíces y hojas. La peonidina y la petunidina son las responsables por el color rojo o magenta de la mayoría de las bayas y flores. La delphinidina es la antocianina mayoritaria en flores de color violeta o azul. La pelargonidina si bien es rojiza en solución es la antocianina responsable del tono anaranjado en ciertas flores o frutos como la fresa. Por último la malvidina otorga un color púrpura intenso y es la antocianina mayoritaria en los vinos tintos (Enaru *et al.*, 2021).



Antocianidina	Sustituyentes	
	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
Pelargonidina	H	H
Cianidina	OH	H
Delphinidina	OH	OH
Peonidina	OCH <sub>3</sub>	H
Petunidina	OCH <sub>3</sub>	OH
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

Figura 2. Estructura de una antocianina, los distintos tipos de antocianidina se caracterizan de acuerdo a los sustituyentes presentes en las posiciones R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> (de la Rosa *et al.*, 2019).

Las antocianinas son compuestos cuya estabilidad está fuertemente ligada a diversos factores como el pH, la temperatura o la exposición a la luz UV-visible, así como la presencia de otros compuestos en solución como pueden ser los azúcares, metales, agentes antioxidantes e incluso ciertos copigmentos (Sharma *et al.*, 2016).

En general son de alta estabilidad y altamente solubles en agua bajo condiciones ácidas lo que permite utilizarlos como colorantes de origen natural en alimentos y bebidas (Grumezescu et al., 2019).

Las antocianinas pueden encontrarse en una de cuatro conformaciones dependiendo del pH. La formación del ion flavilio se favorece a un pH menor a 3, este está asociado con una coloración rojiza o magenta intensa. En condiciones de menor acidez se favorece la formación de estructuras quinoidales, a un pH entre 4 y 5, las antocianinas se encuentran en la forma de una pseudobase incolora, mientras que a un pH entre 7 y 9 se tornan de un color violáceo. A un pH superior a 10, las antocianinas se tornan de un color azul (de la Rosa et al., 2019).

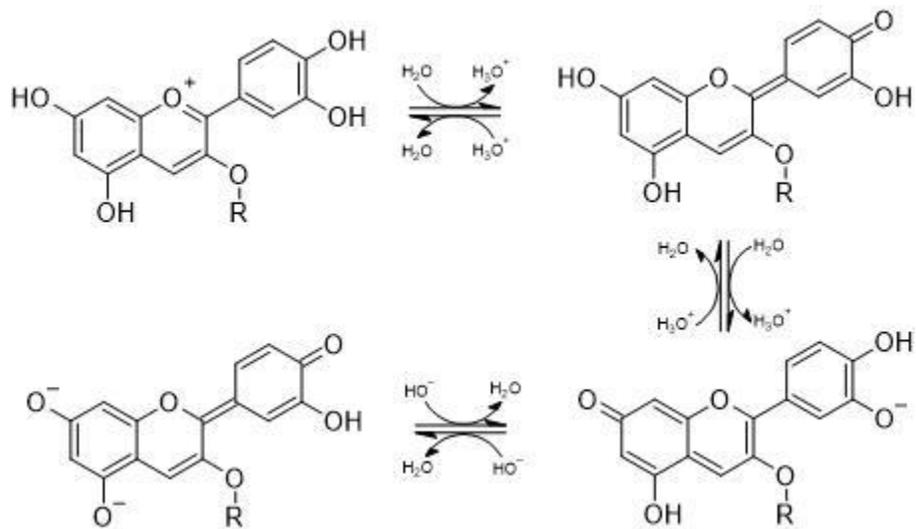


Figura 3. Estructura de la cianidina a diferentes condiciones de pH.

La gran variedad de tonos y matices de los distintos órganos pigmentados por antocianinas no se deben únicamente a la estructura química y el pH al que se encuentran la antocianina o antocianinas presentes si no que también juega un papel importante el fenómeno de la copigmentación.

La copigmentación se refiere al fenómeno por el cual la formación de complejos entre un compuesto colorido y un compuesto o ion metálico que si bien no cuenta con un color por sí mismo es capaz de intensificar o preservar el color de un pigmento al asociarse con este (Trouillas *et al.*, 2016).

En el caso de las antocianinas existen tres tipos de copigmentación importantes, el primero es la copigmentación intermolecular la cual ocurre cuando el copigmento es una molécula orgánica como suele ocurrir con los flavonoides, taninos y ácidos fenólicos presentes en los tejidos vegetales (Trouillas *et al.*, 2016). El copigmento incoloro interacciona con la antocianina, alterando la distribución y densidad electrónica del cromóforo lo que resulta en una modificación en su espectro de absorción (Morata *et al.*, 2019).

Un caso específico de la copigmentación intermolecular se da cuando el propio pigmento tiene actividad copigmentante, es decir el pigmento es capaz de interactuar con sí mismo, a este fenómeno se le denomina autoasociación. Las antocianinas son propensas a la autoasociación, en especial en altas concentraciones la densidad del color pierde la relación lineal con la concentración de antocianinas y se observa un color más intenso al esperado (Morata *et al.*, 2019).

Por último se encuentra la copigmentación con iones metálicos, estos principalmente provocan un cambio en el matiz de las antocianinas. Las antocianinas interactúan con cationes metálicos como  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Al}^{3+}$  entre otros y son los responsables del color violeta o azul de diversas flores y plantas bajo condiciones no alcalinas (Sinopoli *et al.*, 2019).

### 3.1.2. Estabilidad de Antocianinas

Las antocianinas se pueden encontrar en diversas conformaciones distintas dependiendo del pH de la solución en la que se encuentren. Generalmente bajo condiciones altamente ácidas ( $\text{pH} \leq 1$ ) la estabilidad de las antocianinas se maximiza gracias a la formación del ión flavilio (Wallace y Giusti, 2019). En soluciones neutras o alcalinas se favorece la degradación de las antocianinas debido a la hidrólisis de los enlaces glicosídicos. A un pH superior a 10 las antocianinas se degradan con rapidez, estas condiciones permiten la formación de chalconas las cuales pueden resultar en la fragmentación de la antocianidina en ácidos fenólicos.

Las antocianinas cuyo anillo B está poco sustituido, *i. e.* derivados de pelargonidina y cianidina, son en particular susceptibles a este mecanismo de degradación. La presencia de grupos electrodonadores como el hidroxilo y el metoxilo, así como acilaciones o glicosilaciones, estabilizan a la antocianidina y dificultan la fragmentación (Enaru *et al.*, 2021).

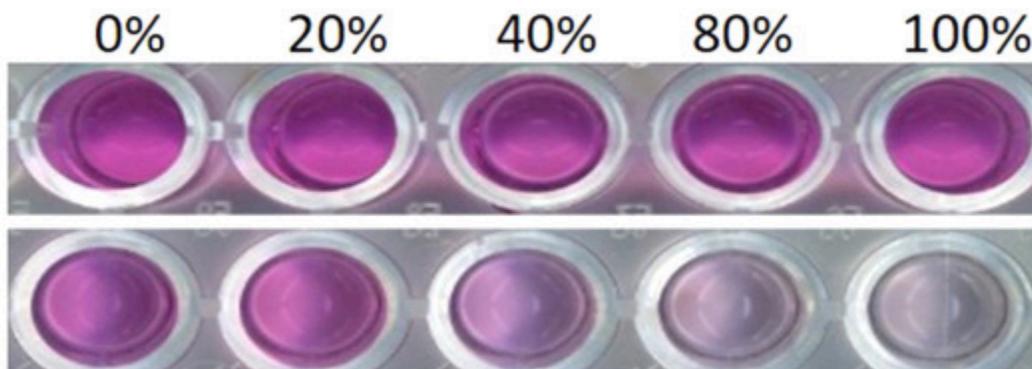


Figura 4. Estabilidad de antocianinas de camote morado en soluciones etanólicas tras 60 horas de almacenamiento (Ma *et al.*, 2017).

Si bien estas reacciones pueden ocurrir a temperatura ambiente, la degradación se favorece notablemente a temperaturas altas.

Esto ha representado un obstáculo en el uso de antocianinas como colorante en alimentos ya que es común que el proceso de elaboración requiera de un tratamiento térmico el cual podría llegar a los 180 °C, condiciones bajo las cuales hay pérdidas significativas del color y potencial antioxidante de las antocianinas (Enaru *et al.*, 2021).

Inclusive se han observado pérdidas significativas en el contenido de antocianinas en productos o alimentos tras someterlos a tratamientos térmicos relativamente suaves como la pasteurización (75°C por 15 min) o el blanqueado (90 °C por 3 min) (Patras *et al.*, 2010).

El potencial antioxidante del medio también juega un papel importante en la estabilidad de las antocianinas. Debido a su alto potencial antioxidante estas suelen oxidarse ya sea directamente o por la acción de enzimas oxidadas como la polifenoloxidasas. Ciertos compuestos generados por la oxidación de ácidos fenólicos como la clorogenoquinona obtenida tras la oxidación del ácido clorogénico son capaces de degradar a las antocianinas, estas inducen la formación de productos de condensación lo que resulta en un pardeamiento (Patras *et al.*, 2010).

Los carbohidratos de las antocianinas pueden presentar acilaciones; ya sean ácidos aromáticos como el ácido cumárico, ferúlico y sinápico o ácidos alifáticos como el malónico, oxálico y succínico. Las antocianinas cuyos carbohidratos están acilados presentan una estabilidad significativamente superior, en especial aquellas con sustituyentes aromáticos ya que la presencia de estos grupos favorece la copigmentación por autoasociación en las antocianinas (Sinopoli *et al.*, 2019).

Además del impedimento estérico, la presencia de estos grupos reduce el carácter electrofílico de la molécula, es por esto que las antocianinas aciladas son menos propensa a los ataques nucleofílicos que desencadenan la degradación (Jackman y Smith, 1996).

La copigmentación y el pH son los factores principales que estabilizan a las antocianinas *in vivo*, se ha observado que modulan y preservan el color de frutas, vegetales y flores. Ese mismo mecanismo se observa en los productos alimenticios elaborados a partir de estos como lo son bebidas, jaleas, salsas y purés (Sinopoli *et al.*, 2019).

### 3.1.3 Propiedades Nutraceuticas

Además de su potencial tecnológico en alimentos, las antocianinas son de interés para la industria alimentaria ya que se consideran compuestos nutraceuticos, es decir su consumo tiene efectos benéficos sobre la salud. El consumo de ciertos productos ricos en antocianinas ha formado parte de la medicina tradicional, las bayas de color rojizo o púrpura intenso como el arándano y la grosella se consumen regularmente por sus efectos benéficos mientras que la col morada, la zanahoria negra y la papa morada son ejemplos de vegetales ricos en cianidina que se consumen regularmente con el fin de prevenir enfermedades (Khoo *et al.*, 2017).

La principal propiedad que hacen a las antocianinas compuestos nutraceuticos es su alta capacidad antioxidante, característica que comparten con la gran mayoría de los flavonoides (de la Rosa *et al.*, 2019). Se define como antioxidante a cualquier sustancia capaz de captar o desactivar radicales libres, como lo son las especies reactivas de oxígeno, nitrógeno, entre otros (Morata *et al.*, 2019).

El anillo B de las antocianinas es capaz de captar estas especies reactivas ya que el intermediario resultante es bastante estable, además de que los grupos hidroxilo libres que están presentes en los carbonos 3 y 5 del anillo A fungen como electrodonadores, estabilizando aún más a la molécula una vez que esta se oxida (Enaru *et al.*, 2021).

Su poder antioxidante *in vivo*, el cual se exagera al inducir un aumento en la actividad de ciertas enzimas oxidoreductasas como la superóxido dismutasa y la catalasa, se refleja en su capacidad para reducir el estrés oxidativo sobre las células.

Esto a su vez les otorga a las antocianinas potencial antiinflamatorio y antitumoral, el cual se ve reflejado en su potencial para inhibir la degradación de proteínas musculares (Khairani *et al.*, 2020) así como su potencial como agentes profilácticos frente a enfermedades cardiovasculares, cáncer, entre otras (Ravanal y Medina, 2021).

Se ha observado que los alimentos ricos en antocianinas tienen algunos efectos benéficos en el organismo que no se relacionan directamente con su capacidad antioxidante (Khoo *et al.*, 2017). Como describen Jokioja *et al.* (2021), quienes mencionan que el consumo de antocianinas es capaz de reducir el índice glucémico durante la etapa postprandial de la digestión y ralentiza el máximo de concentración de glucosa en sangre, un alto índice glucémico junto con un pico temprano de glucosa en sangre tiene una correlación estrecha con el desarrollo de diabetes tipo II y otros síndromes metabólicos.

### 3.1.4. Aplicaciones

Las antocianinas se utilizan extensivamente en la industria cosmética, y se ha descubierto su potencial como ingrediente funcional. Debido a su capacidad para absorber la radiación UVB y al inducir ciertos procesos biológicos, su aplicación tópica está relacionada tanto directa como indirectamente con una menor incidencia en el desarrollo de melanomas en las zonas donde se aplicó el compuesto (Diaconeasa *et al.*, 2020).



Figura 5. Muestras de textiles de lana y lino teñidos con distintas fuentes de antocianinas.  
(Ozipowicz, 2019)

De la misma manera, las antocianinas se utilizan comúnmente como colorantes en la elaboración de alimentos y bebidas; los alimentos elaborados con antocianinas se pueden considerar alimentos funcionales. Por ejemplo, Barba *et al.* (2022) utilizaron antocianinas de olote de maíz morado como colorante en una conserva de rábanos. Díaz García *et al.* (2021) elaboraron una bebida en polvo a base de té y olote de maíz morado.

En general las antocianinas se pueden utilizar como colorante en cualquier alimento con cierto grado de acidez, condiciones donde se observará una coloración rojiza intensa (Grumezescu et al., 2019).

Las antocianinas también se pueden utilizar como pigmentos para teñir ciertos textiles. Si bien las antocianinas son altamente solubles en agua, es posible obtener textiles teñidos con una alta fijación de color mediante el uso de mordentes. Compuestos como el sulfato de aluminio permiten la obtención de textiles rojizos o violáceos con una fijación alta frente al lavado y a exposición a la luz (Mongkholrattanasit et al., 2014).

## 3.2 Maíz

### 3.2.1. Generalidades

El maíz (*Zea mays*) es un cereal perteneciente al grupo de las gramíneas y de la Maydeae, de la cual el maíz es la única especie domesticada. Junto con el arroz y el trigo forma parte integral de la alimentación humana, siendo este cereal el cultivo de mayor rendimiento de grano alimenticio gracias a su alta actividad fotosintética. Aunque, a diferencia del trigo y del arroz, la mayor parte de la producción mundial de maíz se destina a la elaboración de biocombustibles y de alimento para ganado (García Lara y Serna Saldívar, 2019).

El maíz es una planta alta que cuenta con raíces fibrosas, consiste en un solo tallo de pocas ramificaciones, del cual brotan hasta 30 hojas lanceoladas de manera alternada. La planta del maíz se desarrolla durante el verano y su ciclo de producción de mazorca oscila entre los 120 y 210 días, dependiendo de la raza y las condiciones de desarrollo, en específico de la temperatura y la altitud.

Las distintas variedades e híbridos se pueden cultivar en altitudes que van del nivel del mar a los 2400 metros sobre el nivel del mar (Lozano Martínez y Belden Fernández, 2019).

Cada planta cuenta con una sola ramificación en la cual se desarrolla una inflorescencia femenina (mazorca) mientras que en la punta del tallo se desarrolla la inflorescencia masculina o espiga (Sánchez Ortega, 2014). Entre los cereales de interés comercial el maíz destaca por su capacidad de realizar tanto autopolinización como polinización cruzada, lo que facilita significativamente el proceso de mejoramiento del maíz (García Lara y Serna Saldívar, 2019).

Una vez que la inflorescencia femenina es polinizada en esta se empieza a desarrollar el grano. Los granos se agrupan en hileras alrededor del olote, un eje fibroso que conforma la mazorca. Cada mazorca cuenta con trescientos a mil granos y está cubierta por una serie de hojas protectoras (totomoxtle). El color y peso de los granos varía dependiendo de la variedad y las condiciones de cultivo, estos pueden ser blancos, amarillos, rojizos o negros y pueden llegar a constituir hasta un 40% del peso seco total de la planta (Benitez, 2006).

El grano de maíz es posiblemente el cereal con mayor valor nutricional, es el grano con mayor contenido de carbohidratos y lípidos, aunque su valor proteico es relativamente pobre (Paliwal, 2001). El grano está compuesto por tres partes: el pericarpio, una cubierta de almidón céreo que recubre y protege al grano; el endospermo, un tejido que funge como reserva de energía durante el germinado y la parte de mayor interés comercial; y el germen, el cual contiene el embrión de la planta y el tejido que servirá como la primer hoja del brote (García Lara y Serna Saldívar, 2019).

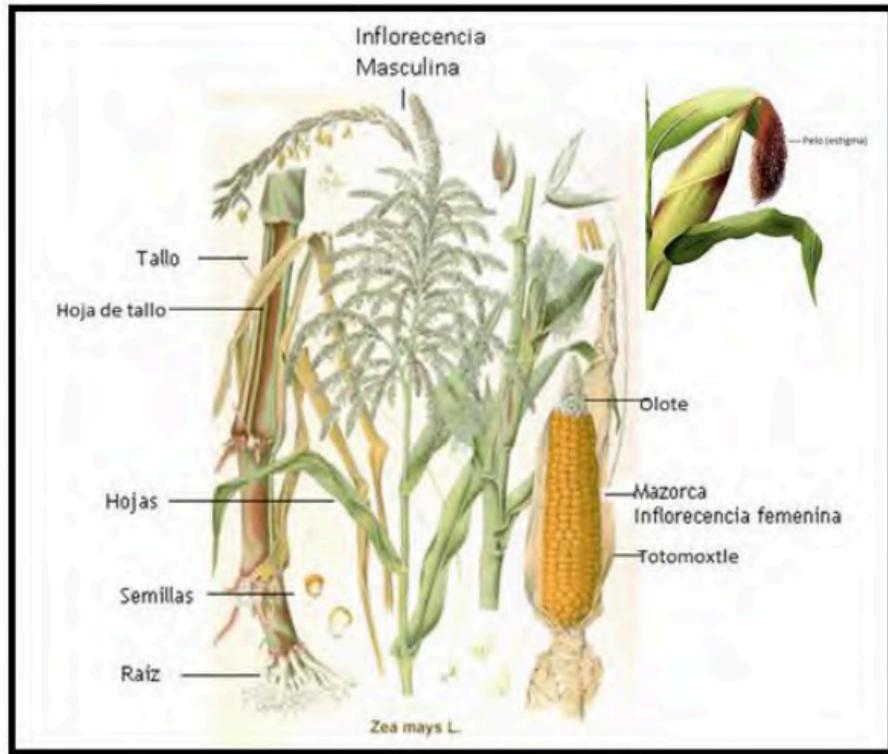


Figura 6. Morfología del maíz (Dávila Pérez, 2016).

Existen diversas teorías sobre el origen del maíz. Una describe que se desarrolló a partir del cruzamiento entre ancestros de *Coix* spp. y *Sorghum* spp; gramíneas originarias del sudeste asiático y el noreste africano, respectivamente.

Otra teoría afirma que el maíz es originario de los Andes, esta teoría se basa en la alta diversidad genética entre los maíces nativos de la zona. Sin embargo la teoría más aceptada hoy en día es que el maíz es originario del centro y sur de México, esta teoría está respaldada por la presencia de otras especies del género *Zea* en la zona entre las cuales se encuentra el teocinte o teocintle, la planta considerada el ancestro del maíz (Paliwal, 2001).

### 3.2.2. Variedades de Maíz

Hoy en día se reconocen más de 220 razas de maíz, de las cuales 64 son originarias de México. Los nombres de las distintas razas de maíz originarias de México se suelen designar de acuerdo a características de la mazorca o del grano, por la zona geográfica donde se originó o por los grupos indígenas que los cultivan tradicionalmente (García Lara y Serna Saldívar, 2019). Las distintas razas de maíz originarias de México se dividen en siete grupos:

**Cónico:** El grupo con más integrantes, incluye los maíces cuya mazorca tiene esta morfología. Integrado por las razas Arrocillo, Cacahuacintle, Chalqueño, Cónico, Cónico Norteño, Dulce, Elotes Cónicos, Mixteco, Mushito, Mushito de Michoacán, Negrito, Palomero de Chihuahua Palomero de Jalisco, Palomero Toluqueño y Uruapeño.

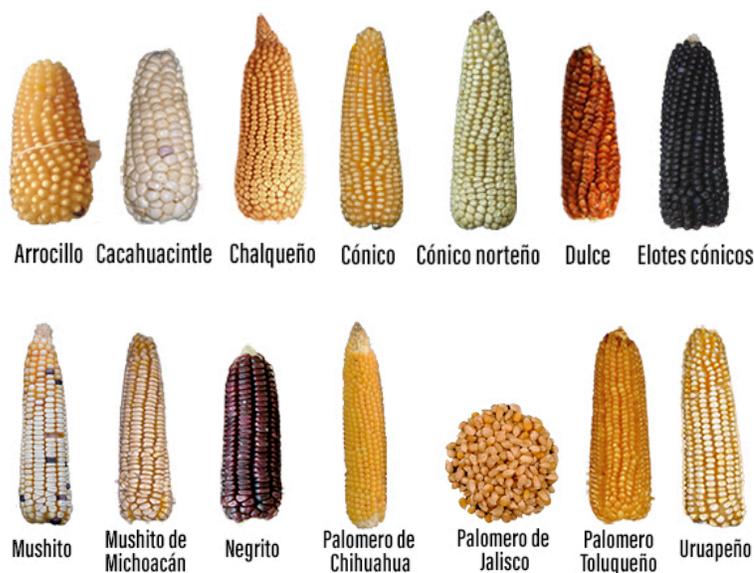


Figura 7. Razas de maíz del grupo cónico (CONABIO, 2020).

**Sierra de Chihuahua:** Conformado por los maíces de esta zona geográfica con excepción del Palomero de Chihuahua, ya que a diferencia de este las mazorcas de los maíces de este grupo suelen ser alargadas y cilíndricas.

Integrado por las razas Amarillo de Montaña, Apachito, Azul, Complejo Serrano de Jalisco, Cristalino de Chihuahua y Gordo.



Figura 8. Razas de maíz del grupo sierra de Chihuahua (CONABIO, 2020).

Ocho hileras: Estos maíces se caracterizan por ser nativos de zonas de poca altura y por producir mazorcas largas con ocho a doce hileras de granos. Integrado por las razas Ancho, Blando, Bofo, Bolita, Elote Occidental, Harinoso de Ocho, Jala, Onaveño, Tablilla de Ocho, Tabloncillo, Tabloncillo Perla y Zamorano Amarillo.

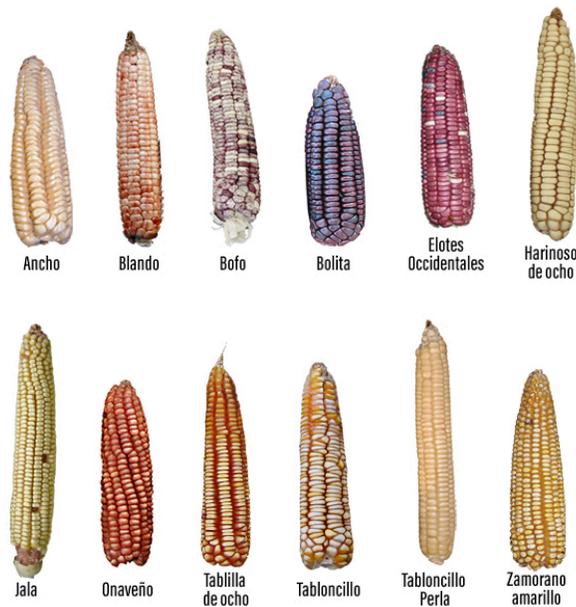


Figura 9. Razas de maíz del grupo ocho hileras (CONABIO, 2020).

Chapalote: Grupo conformado por maíces provenientes de las planicies costeras del pacífico, las mazorcas son largas y con forma de pluma. Integrado por las razas Chapalote, Dulcillo del Noroeste, Elotero de Sinaloa y Reventador.

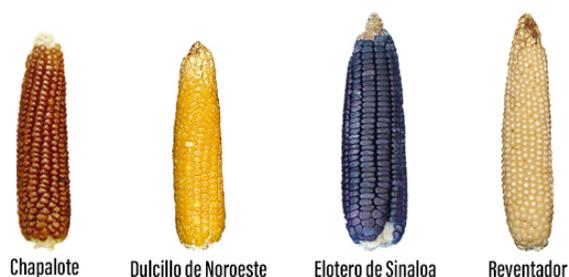


Figura 10. Razas de maíz del grupo chapalote (CONABIO, 2020).

Tropicales Precoces: Son maíces originarios de regiones semiáridas, en respuesta a cantidades menores de lluvia las mazorcas pasan por un ciclo de maduración corto. Integrado por las razas Conejo, Nal-Tel, Ratón y Zapalote Chico.

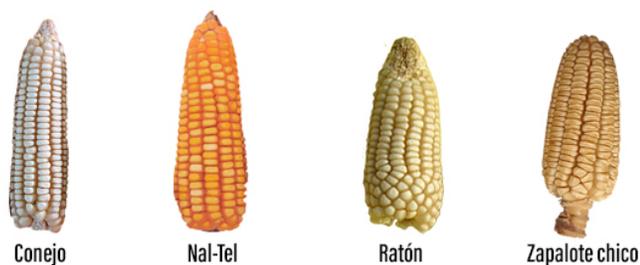


Figura 11. Razas de maíz del grupo tropicales precoces (CONABIO, 2020).

Dentados Tropicales: El grupo con mayor distribución en México, sus integrantes suelen ser los más utilizados en programas de mejoramiento genético. Las mazorcas son de tamaño mediano y los granos tienen una forma característica. Integrado por las razas Celaya, Chiquito, Chiapaneco, Cubano Amarillo, Nal-Tel de Altura, Pepitilla, Tepecintle, Tuxpeño, Tuxpeño Norteño, Vandeño y Zapalote Grande.

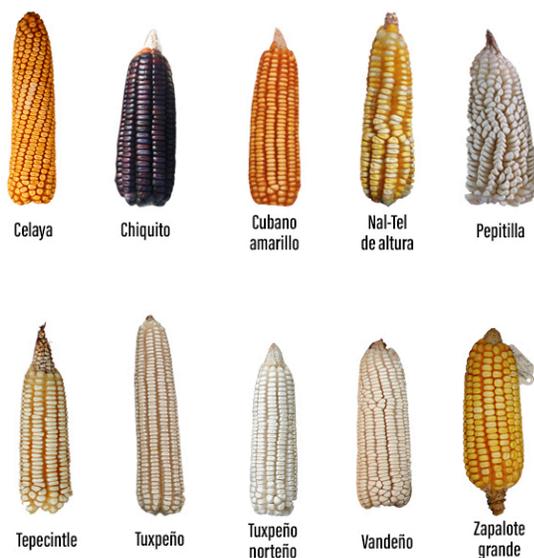


Figura 12. Razas de maíz del grupo dentados tropicales (CONABIO, 2020).

Maduración Tardía: Conformado por razas originarias del sureste de México, se caracterizan por un tiempo de maduración prolongado y alta sensibilidad a la variación del total de horas de luz solar en el día debido al cambio de estación (fotoperiodo). Integrado por las razas Dzit-Bacal, Comiteco, Coscomatepec, Mixeño, Motozinteco, Negro de Chimaltenango, Olotillo, Olotón, Quicheño, Serrano, Serrano Mixe y Tehua.

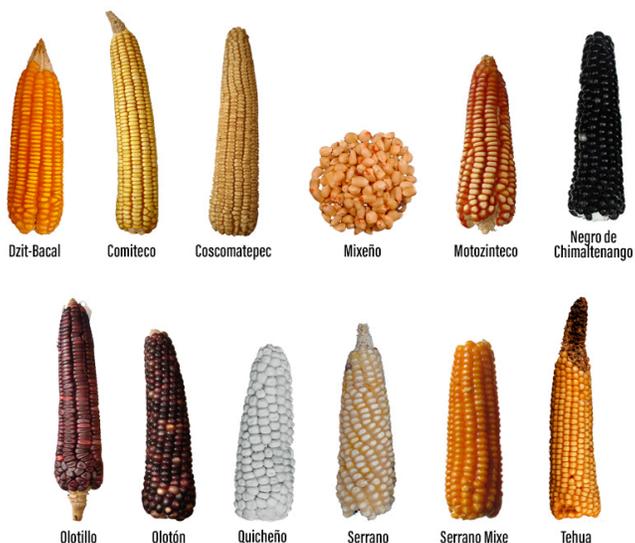


Figura 13. Razas de maíz del grupo maduración tardía (CONABIO, 2020).

De las 64 razas originarias de México 59 son nativas, mientras que las razas Cubano Amarillo, Nal Tel de Altura, Negro de Chimaltenango, Quicheño y Serrano son maíces originarios de Guatemala y el Caribe (CONABIO, 2020).

### 3.2.3. Composición Química

La composición de las distintas partes del maíz depende de diversos factores como la raza o variedad, así como las condiciones geográficas en las que este se desarrolle. El tejido más estudiado, debido a su valor comercial, es el grano. Su alto contenido calórico está almacenado en forma de almidón, el cual representa cerca de un 75% del peso total del grano. (FAO, 1993). Por otro lado, los demás tejidos si bien cuentan con un contenido de carbohidratos totales similar a la del grano una parte significativa de estos es fibra dietética (Risco Mendoza, 2007).

Los granos de maíz también son ricos en minerales como el fósforo, magnesio, manganeso y potasio aunque la concentración suele variar de acuerdo a las condiciones del suelo donde se cultive. El grano también puede contar con algunas vitaminas como carotenoides, tocoferoles, tiamina y niacina pero estas se encuentran en bajas cantidades o, en el caso de la niacina, su biodisponibilidad es baja.

Cabe mencionar que la concentración de estos nutrientes en el endospermo es baja o nula, por lo que frecuentemente es necesaria la fortificación de harinas refinadas y sémolas de maíz (Acosta Estrada *et al.*, 2019).

Tabla 1. Composición del grano y olote de maíz (Risco Mendoza, 2007).

Componente	Porcentaje	
	Grano	Olote
Humedad	11.4	11.20
Proteína	6.7	3.74
Grasa	1.5	0.32
Cenizas	1.7	3.31
Carbohidratos	76.9	57.42
Fibra	1.8	24.01

Además de los distintos nutrientes el maíz cuenta con fitoquímicos, se le denomina fitoquímico a cualquier compuesto bioactivo de origen vegetal que no contribuye al valor nutrimental. El maíz es rico en compuestos fenólicos y fitosteroles, y es el cereal que cuenta con la mayor concentración de estos compuestos bioactivos. (Siyuan *et al.*, 2018).

Algunas razas o variedades de maíz también contienen fitoquímicos que no suelen estar presentes en el resto de los maíces. En el caso de maíces amarillos se encuentran carotenoides como la luteína mientras que en olotes morados y azules se encuentran antocianinas como la cianidina-3-glucósido (Suriano *et al.*, 2021). Los maíces rojos son los únicos en los que se encuentran cantidades significativas de ambas clases de pigmentos.

Entre los compuestos ubicuos del grano de maíz se encuentran el ácido ferúlico y el ácido cumárico. Estos componentes se encuentran principalmente en el pericarpio y la capa de aleurona del grano ya sea glicosilados o formando parte de la pared celular.

De estos, solo el ácido ferúlico se encuentra biodisponible sin un tratamiento previo del grano (Acosta Estrada *et al.*, 2019). El consumo de estos ácidos fenólicos está asociado con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares gracias a su potencial antioxidante y antiinflamatorio (Zhang *et al.* 2020).

Las antocianinas son el compuesto bioactivo más importante presente en los maíces azules, morados y rojos. Si bien todos los maíces cuentan con otros flavonoides como la maicina y la isoorientina estos se encuentran en muy bajas concentraciones en la mayoría de los tejidos del maíz, siendo el estigma o seda de maíz la excepción más importante (Tian *et al.*, 2021). Las antocianinas por otro lado, son consideradas los flavonoides de mayor interés presentes en el maíz. Estos componentes se encuentran en altas concentraciones en maíces pigmentados y son los agentes responsables de su color.

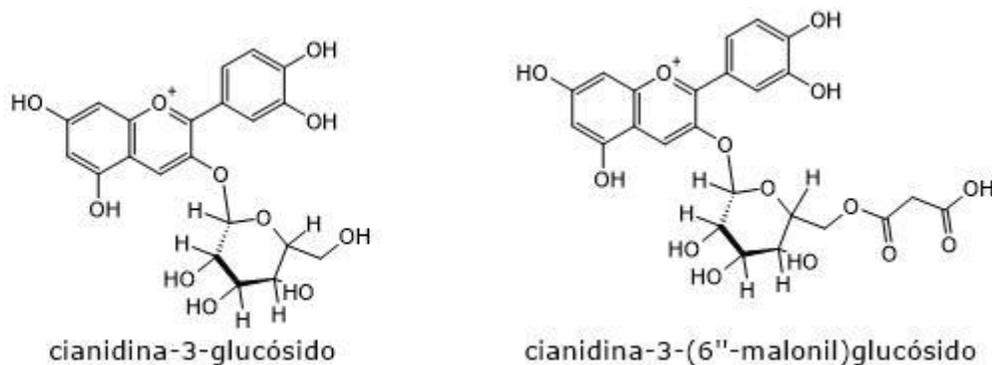
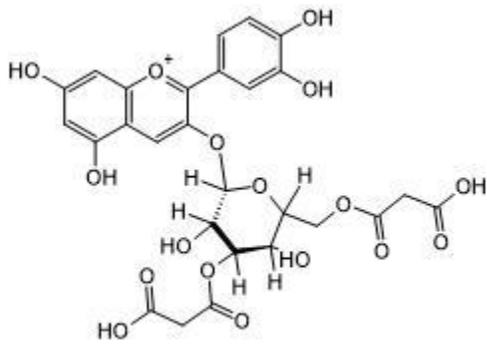


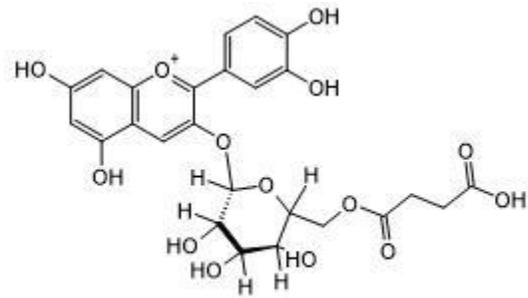
Figura 14. Estructuras químicas de las antocianinas principales del maíz morado.

Las antocianinas principales en el maíz son la cianidina-3-glucósido (C3G) y la cianidina-3-(6''-malonil)glucósido (C3MG). Todas las variedades de maíz pigmentado, con excepción del maíz amarillo el cual debe su color a carotenoides como la luteína y la zeaxantina (Acosta Estrada *et al.*, 2019), contienen estas dos antocianinas en altas concentraciones.

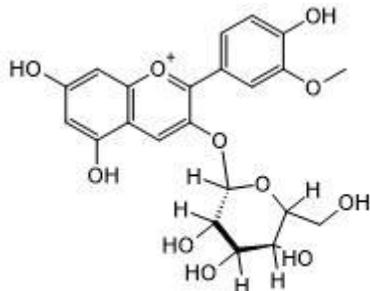
Otras antocianinas como la peonidina-3-glucósido, la pelargonidina-3-glucósido así como los derivados 3'',6''-dimalonil y succinil de cianidina, peonidina y pelargonidina también pueden encontrarse en concentraciones menores (Dávila Pérez, 2016).



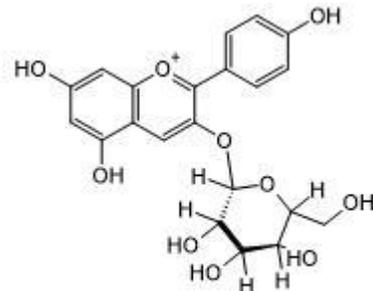
cianidina-3-(3'',6''-dimalonil)glucósido



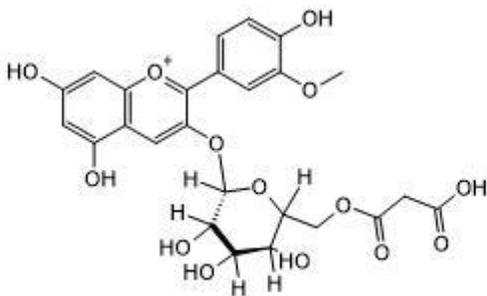
cianidina-3-(6''-succinil)glucósido



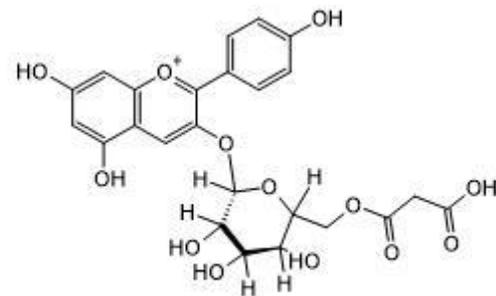
peonidina-3-glucósido



pelargonidina-3-glucósido



peonidina-3-(6''-malonil)glucósido



pelargonidina-3-(6''-malonil)glucósido

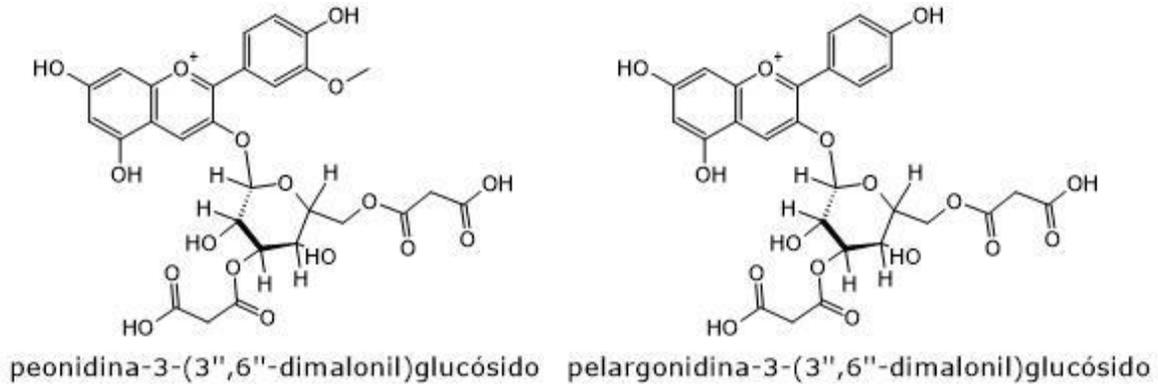


Figura 15. Algunas antocianinas minoritarias presentes en el maíz morado.

El contenido de antocianinas en granos de maíz pigmentado usualmente oscila entre los 0.6 a 1.0 mg/g de peso seco (Zhang *et al.* 2020). Sin embargo en razas que cuentan con otros órganos pigmentados la concentración de antocianinas puede ser mucho más alta. En estos casos incluso se observa que las antocianinas representan una porción significativa de la composición de la planta; como ocurre con ciertas variedades de maíz cacahuacintle en las cuales las antocianinas representan hasta el 1.5% del peso seco total del olote y el totomoxtle (Fernández Aulis *et al.*, 2019).

### 3.2.4. Uso y Aplicaciones Industriales

El maíz es una planta que se cultiva extensivamente en muchas partes del mundo por su alto valor comercial. El grano es el producto de maíz más valioso ya que además de ser un alimento de alto valor energético, el almidón que conforma el endospermo del grano también se suele utilizar como materia prima en ciertos procesos tecnológicos (FAO, 1993). Además del grano, la mazorca entera de maíz es considerada una hortaliza y su comercialización y consumo es común; por otro lado otras partes de la planta (hojas, tallos, olote) también son de utilidad para ciertos procesos industriales (Lozano Martínez y Belden Fernández, 2019).

En el mundo se producen anualmente más de un billón de toneladas de grano de maíz. Estados Unidos es el principal productor de maíz en el mundo, contribuyendo con cerca del 30% de la producción mundial anual de maíz, seguido de este se encuentran Brasil, China, Sudáfrica, Ucrania, Argentina, India y México (Ranum *et al.*, 2014). Estos países en conjunto generan más del 60% de la producción mundial de maíz (FAOSTAT, 2020). A diferencia de los otros cereales cultivados de forma masiva, una parte significativa de la producción de maíz se destina a otras aplicaciones además del consumo humano.

El uso que se le da al maíz producido localmente varía entre los distintos países productores; en general en los países cuya producción de maíz es baja esta va enfocada en la elaboración de piensos o alimentos. Por otro lado, los países cuya producción es superior suelen exportar la mayor parte o bien, utilizan el maíz para la elaboración de biocombustibles, jarabes, biopolímeros y otros productos a partir del almidón de maíz.

México destaca entre estos países ya que a pesar de ser uno de los líderes mundiales en producción de maíz también ocupa el segundo lugar en la importación de maíz. Esto se debe a que la producción nacional se utiliza para elaborar alimentos o productos tecnológicos de alto valor (Dávila Pérez, 2016) mientras que el maíz importado se destina principalmente al consumo indirecto mediante la producción de productos cárnicos (Gobierno de México, 2020).

En el caso de los países cuyo consumo de maíz es relativamente bajo, se ha observado un aumento en la demanda de este grano para su consumo directo.

El crecimiento de la demanda de maíz para consumo humano en el mundo se debe en parte a la globalización, específicamente al surgimiento de la demanda mundial por alimentos elaborados a base de maíz de origen mexicano, como las tortillas, totopos, entre otros (Lozano Martínez y Belden Fernández, 2019)

Debido a los grandes volúmenes en los que se produce el grano de maíz, su obtención también implica la generación de agroresiduos en cantidades considerables (Ranum *et al.*, 2014). Entre los subproductos del maíz se encuentran los tallos, hojas y olores de maíz, estos tejidos están constituidos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina. La celulosa contenida en los residuos de maíz se puede utilizar para la producción de biocombustibles (Jenkins, 2014).

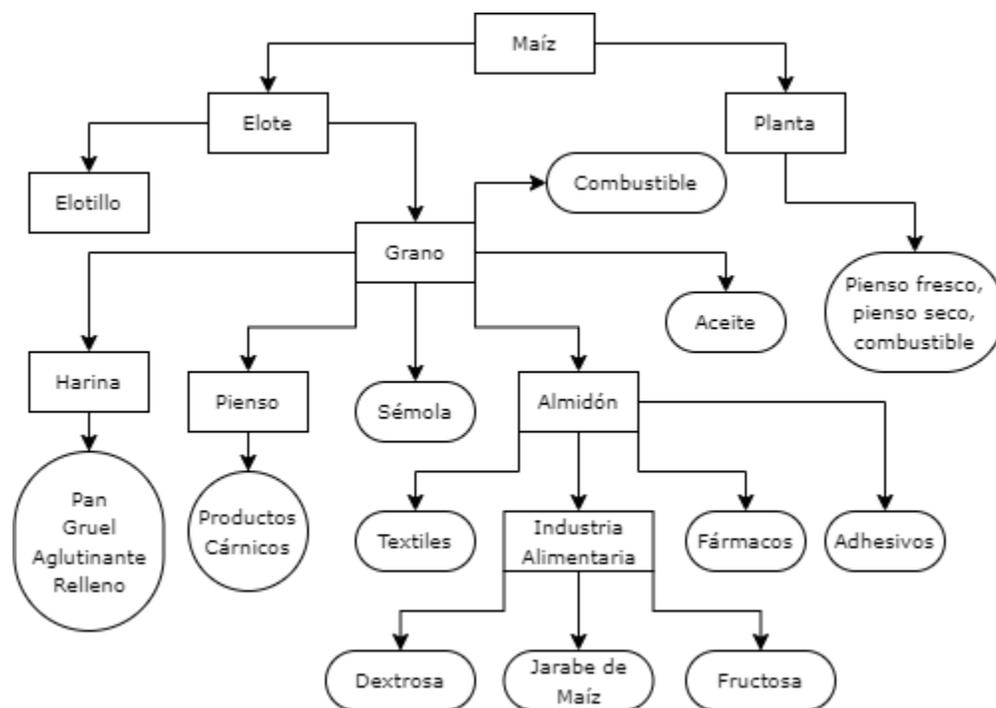


Figura 16. Diagrama de flujo de productos de maíz para consumo humano y de animales (Miah *et al.*, 2013).

Si bien el proceso para obtener biocombustibles a partir del almidón del grano de maíz es más eficiente; la cantidad de agroresiduos es una potencial fuente de cantidades enormes de combustible. Por ejemplo se reporta que, de aprovecharse completamente con este fin, a partir de subproductos de maíz procedentes de la producción de norteamérica se podrían generar más de 38 billones de litros de etanol al año (Ruan *et al.*, 2019).

Cabe mencionar que si bien el uso de biocombustibles tiene un impacto ambiental menor al de los combustibles fósiles; la quema de productos elaborados a partir de materiales que de otra manera serían composta puede resultar en un aumento neto en la generación de gases invernadero, comparado con la quema de combustibles fósiles (Jenkins, 2014).

Entre las aplicaciones del maíz se encuentra la producción de materiales plásticos. Al introducir las fibras de tallos, olote o totomoxtle de maíz en las matrices de ciertos plásticos es posible reemplazar parte de la mezcla con componentes de origen vegetal sin que este tenga un impacto negativo sobre las propiedades del material. Inclusive en ciertos casos se puede observar que incluir estas fibras aumenta la estabilidad térmica e influye de manera favorable sobre las propiedades reológicas de los polímeros (Mohite *et al.*, 2022).

Los distintos componentes de los agroresiduos de maíz también pueden ser utilizados para obtener productos de alto valor comercial. Además de ser parte de la composición de materiales plásticos, ciertos componentes del maíz se pueden utilizar para producir biopolímeros. Compuestos como el polilactato o la carboximetilcelulosa se pueden obtener mediante el procesamiento de la biomasa residual de maíz (Rahman *et al.*, 2020).

Las diversas partes no comestibles del maíz también son ricas en compuestos bioactivos, de hecho estos se suelen encontrar en concentraciones más altas que en el grano. En particular la seda o estigma de maíz tiene una alta concentración de ácidos clorogénicos. Si bien este tejido no se obtiene en altos volúmenes, a partir de este se pueden obtener hasta 100 mg equivalentes de ácido clorogénico por gramo de seda de maíz (Žilić *et al.*, 2016).

### 3.2.5. Orote

El orote, también conocido como coronta o raquis, es un tejido fibroso de forma cilíndrica o cónica que se encuentra en el centro de la mazorca de maíz. Los granos de maíz se desarrollan en hileras que brotan del orote conforme se desarrolla la mazorca. El orote está conformado por tres capas: Un núcleo poroso, llamado médula o *pith*; un anillo leñoso, que recubre la médula y contribuye a la mayor parte del peso seco total del orote; y la gluma, un tejido relativamente suave que protege los granos inmaduros durante las primeras etapas de desarrollo de la mazorca (Zou *et al.*, 2021).

La composición del orote varía entre las distintas partes, en general los tejidos del orote están conformados principalmente por hemicelulosa, celulosa y lignina. Entre los microcomponentes se encuentran ácidos hidroxicinámicos como el ácido ferúlico, ácido clorogénico y el ácido cumárico. El orote entero se suele utilizar tradicionalmente como pienso o como combustible, ya sea directamente o mediante la producción de bioenergéticos; así como componente de relleno en diversos materiales. Por ejemplo, forma parte de la formulación de ciertas maderas comprimidas y de materiales plásticos compuestos.

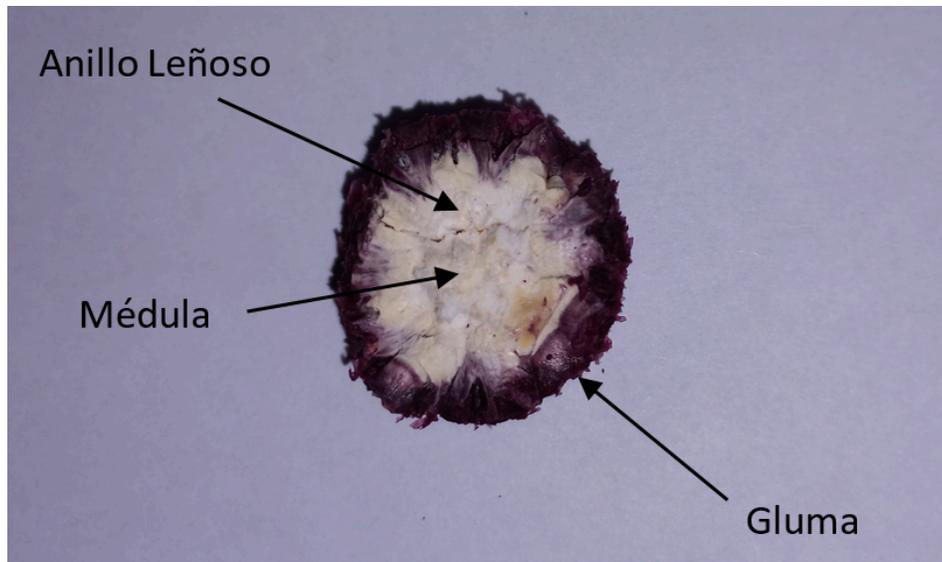


Figura 17. Morfología del olote de maíz.

Su inclusión resulta en un material con propiedades mecánicas deseables, como puede ser mayor fuerza tensil (Pratheep *et al.*, 2020). Las ligninas contenidas en el olote se utilizan en la producción de resinas plásticas, principalmente en la producción de poliuretano (Patel *et al.*, 2023).

La médula de olote, debido a su alta porosidad es idónea para la elaboración de carbón activado el cual gracias a sus propiedades adsorbentes puede utilizarse en diversas aplicaciones como la purificación de biogas (Surra *et al.*, 2022), tratamiento de aguas residuales (Christica *et al.*, 2018), entre otros. La médula contiene una alta concentración de ácidos hidroxicinámicos.

La mayor parte de los ácidos hidroxicinámicos están ligados a la fracción de lignina que compone la fibra de olote, siendo necesario un proceso de hidrólisis alcalina para obtenerlos en su forma libre. (Takada *et al.*, 2018). Guillén Sánchez *et al.* (2023) diseñaron una metodología que permite extraer más de 90 mg de compuestos fenólicos totales equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra de olote de maíz criollo peruano.

Tabla 2. Composición de las distintas fracciones de olote de maíz (Takada *et al.*, 2018).

Tejido	Composición (% de peso seco total)						
	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina	Almidón	Fenoles	Proteína	Cenizas
Gluma	36.3	41.4	18.8	0.3	0.5	2.3	3.1
Anillo Leñoso	31.6	46.9	15.7	0.3	1.0	2.1	1.4
Médula	34.8	39.9	17.3	2.1	3.5	2.4	2.4

Además, se han desarrollado distintas técnicas y protocolos a partir de los cuales se puede obtener compuestos de alto valor a partir del olote. Por ejemplo, es posible obtener hasta 14 mg de ácido ferúlico y 30 mg de ácido cumárico por gramo de olote al aplicarle un tratamiento alcalino durante seis horas (Torre *et al.*, 2008).

El anillo leñoso es rico en xilanos, los cuales se pueden utilizar como sustrato para biorreactores para la producción de prebióticos, probióticos o productos de fermentación (Patel y Shukla, 2017). Los xilanos presentes en el anillo leñoso del olote de maíz son una de las materias primas más importantes para la obtención de furanos, y en particular la producción de furfural (Zhang *et al.*, 2017).

Al someter al olote a un proceso de hidrólisis ácida, es posible obtener cantidades considerables de este compuesto orgánico. El furfural es un compuesto de alto valor económico debido a su utilidad como precursor en la elaboración de solventes, resinas, etc. En el caso del olote, es posible la obtención secuencial de etanol y furfural, mediante procesos de hidrólisis selectiva (Qiao *et al.*, 2022).

En el caso de las variedades cuyos olotes presentan pigmentación, sólo la gluma cuenta con cantidades significativas de pigmento. En general, la gluma de olote es el tejido de maíz donde se observa una mayor concentración de colorantes, seguido por la seda y las hojas de maíz (Paulsmeyer *et al.*, 2022).

Tabla 3. Compuestos bioactivos principales en olotes de maíz morado cuantificados mediante HPLC. (González Camacho, 2022)

Componentes Mayoritarios	Tipo de compuesto bioactivo (mg/g de muestra seca)		
	Antocianinas	Flavonoides	Ácidos fenólicos libres
Componente Principal	Cianidina-3-(6''-malonil) glucósido (1.727)	Catequina (2.887)	Ácido clorogénico (1.223)
Componente secundario	Cianidina-3-glucósido (1.528)	Epicatequina (1.739)	Ácido ferúlico (0.712)
Componente terciario	Peonidina-3-glucósido (0.492)	Rutina (0.732)	Ácido gálico (0.256)

Al igual que con el resto de los tejidos de maíces rojos, morados y azules, las antocianinas mayoritarias en la gluma de olote son la cianidina-3-(6''-malonil)glucósido y la cianidina-3-glucósido. También se encuentran peonidinas y petunidinas, así como derivados dimalonil o succinil de estas antocianinas (Suriano *et al.*, 2021).

Los olotes pigmentados, y en especial el olote morado; ha sido objeto de estudio por su potencial como fuente de antocianinas. Se han evaluado distintas metodologías y condiciones para extraer antocianinas a partir del olote de maíces pigmentados, obteniendo entre 0.3 y 39 mg de antocianinas totales por gramo de olote seco (Navarro *et al.*, 2018).

Las antocianinas obtenidas a partir de olotes pigmentados se utilizan para la elaboración de colorantes para la elaboración de cosméticos y alimentos, estos colorantes son de alto valor no solo por su poder pigmentante si no por su alto potencial antioxidante.

### 3.3. Condiciones Geográficas del Centro de México

#### 3.3.1. Generalidades Geográficas de México

La geografía de México es altamente variada gracias a su extensión y ubicación geográfica, específicamente a su latitud y a la presencia del Océano Pacífico al oeste y sur del país así como el Golfo de México al este. En México se encuentran tres clases de clima diferentes: el clima A o cálido, el clima B o húmedo y el clima C o templado (García, 2004).

La gran diversidad de climas en México se debe en gran parte a su topología. Las cinco sierras madre de México (Oriental, Occidental, del Sur, de Chiapas y de Oaxaca) que cubren la mayor parte del país son responsables de los climas templados que las rodean debido al efecto del aumento de altitud (Vidal Zepeda, 2005). Por otro lado, la Sierra Madre Oriental es responsable del clima seco del norte del país, ya que esta limita el paso de corrientes de aire húmedo provenientes del Golfo de México (SEP, 2022).

El altiplano o mesa central es la región geográfica localizada entre las coordenadas 22° N, 102° W y 19° N, 97° W, superficie que corresponde a la territorio enmarcado por la Sierra Madre Occidental al oeste, la Sierra Madre Oriental al este, el eje volcánico al sur y las sierras de Zacatecas, Guanajuato y Querétaro al norte (Vidal Zepeda, 2005).

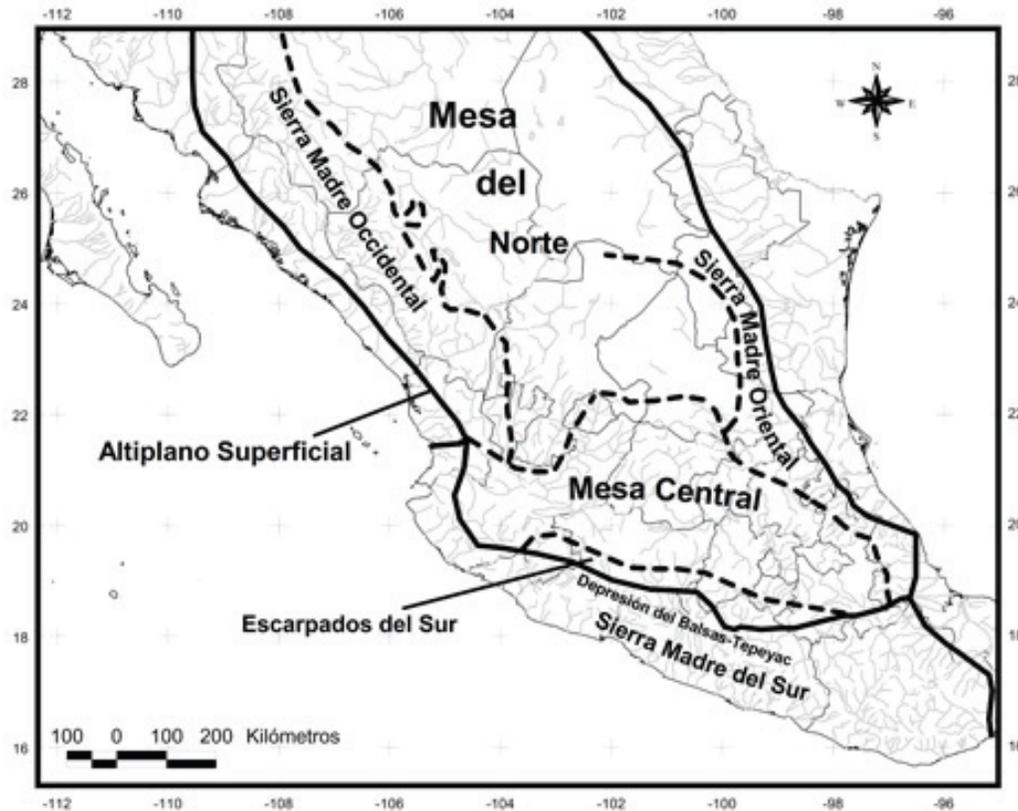


Figura 18. Mapa del Territorio Mexicano, la línea sólida delimita la región del altiplano mexicano, la línea punteada representa las cordilleras que definen a la mesa central. (Domínguez Domínguez y Pérez Ponce de León, 2009).

Esta región abarca partes de los estados de Jalisco, Querétaro, Estado de México, Morelos, Puebla, Hidalgo y Michoacán, además de contener a la Ciudad de México y el estado de Tlaxcala (Domínguez Domínguez y Pérez Ponce de León, 2009). La altitud de la mesa central va desde los 900 m sobre el nivel del mar en el valle de Santiago ubicado en el oeste, hasta los 5400 m sobre el nivel del mar del pico del volcán Popocatépetl.

El territorio que abarca la mesa central de México está conformado por las laderas interiores de las cordilleras montañosas que limitan esta zona así como los diversos altiplanos y valles enmarcados por estas.

La mesa central incluye altiplanos a altitudes mayores a los 2000 m sobre el nivel del mar como la llanura de San Juan, las cuencas de México, Cuitzeo y Pátzcuaro y el valle de Toluca; y los valles y lagos de altitud menor a los 2000 m sobre el nivel del mar como los valles de Tulancingo, Tequisquiapan, San Juan del Río y Atomajac; así como la región del Bajío y el terreno que rodea el lago de Chapala (López de Llergo, 2003).

La región cuenta con seis climas distintos de acuerdo al sistema de clasificación de Köppen modificado, utilizado por el Instituto de Geografía y Estadística (INEGI). El primer tipo de clima es el clima cálido, el cual incluye regiones donde la temperatura media del mes más frío es mayor a los 18 °C.



Figura 19. Clima cálido subhúmedo en la Reserva de la Biósfera de Sian Ka'an, Quintana Roo (Fotografía de Martha xucunostli, Wikimedia Commons).

Dentro de los climas cálidos se encuentra el clima cálido húmedo y el clima cálido subhúmedo, se considera una región de clima húmedo aquella en la que la precipitación percibida en el mes más seco del año es superior a los 60 mm de lluvia. De otra manera se clasifica como clima subhúmedo (García, 2005).

Los climas áridos y semiáridos dependen de la relación entre la precipitación media anual (PMA) y el coeficiente de precipitación límite el cual dependerá de la temperatura media anual (TMA) de la región.



Figura 20. Clima semiseco en el desierto de Chihuahua  
(Fotografía de Adbar, Wikimedia Commons)

Los climas templados son aquellos en los que la temperatura máxima del mes más frío es mayor a los 10 °C y la temperatura mínima del mes más caliente es inferior a los 18 °C. El clima templado subhúmedo se define como aquel en el que la percepción de lluvia media en el mes más seco es menor a los 40 mm, cuando la precipitación percibida está por encima de este límite se considera un clima templado húmedo.



Figura 21. Clima templado subhúmedo en el Parque Nacional Insurgente Miguel Hidalgo y Costilla, Estado de México (Fotografía de Tim & Annette, Wikimedia Commons)

Por último, en México también hay clima polar, estos se definen como aquellas regiones en las que la temperatura del mes más cálido es inferior a los 10 °C. Se divide entre polar de alta montaña, tundra y hielo perpetuo. En México solo se observa el clima polar de alta montaña, caracterizado por una altura superior a los 2000 m sobre el nivel del mar (Finlayson, 2014; García, 2005).



Figura 22. Clima polar de alta montaña en la cima del volcán Citlaltépetl, Puebla (Fotografía de Ralf Roletschek, Wikimedia Commons)

### 3.3.2. Condiciones Geográficas de la Mesa Central

Para fines de este estudio se hará énfasis en las condiciones geográficas de la región oriental de la mesa central, la cual incluye a las entidades Ciudad de México, Estado de México, Puebla y Tlaxcala; estados que coinciden con los orígenes de las variedades de olote de maíz morado evaluadas. En esta región los meses más lluviosos son de junio a septiembre y la temporada más cálida va de abril a junio independientemente del clima local. El clima templado semihúmedo, presente en prácticamente toda la Ciudad de México y Tlaxcala así como en el centro y norte del Estado de México y el centro de Puebla presenta una temperatura media anual que oscila entre los 15 y 17°C y una percepción de lluvia anual de entre 600 y 1200 mm de precipitación.

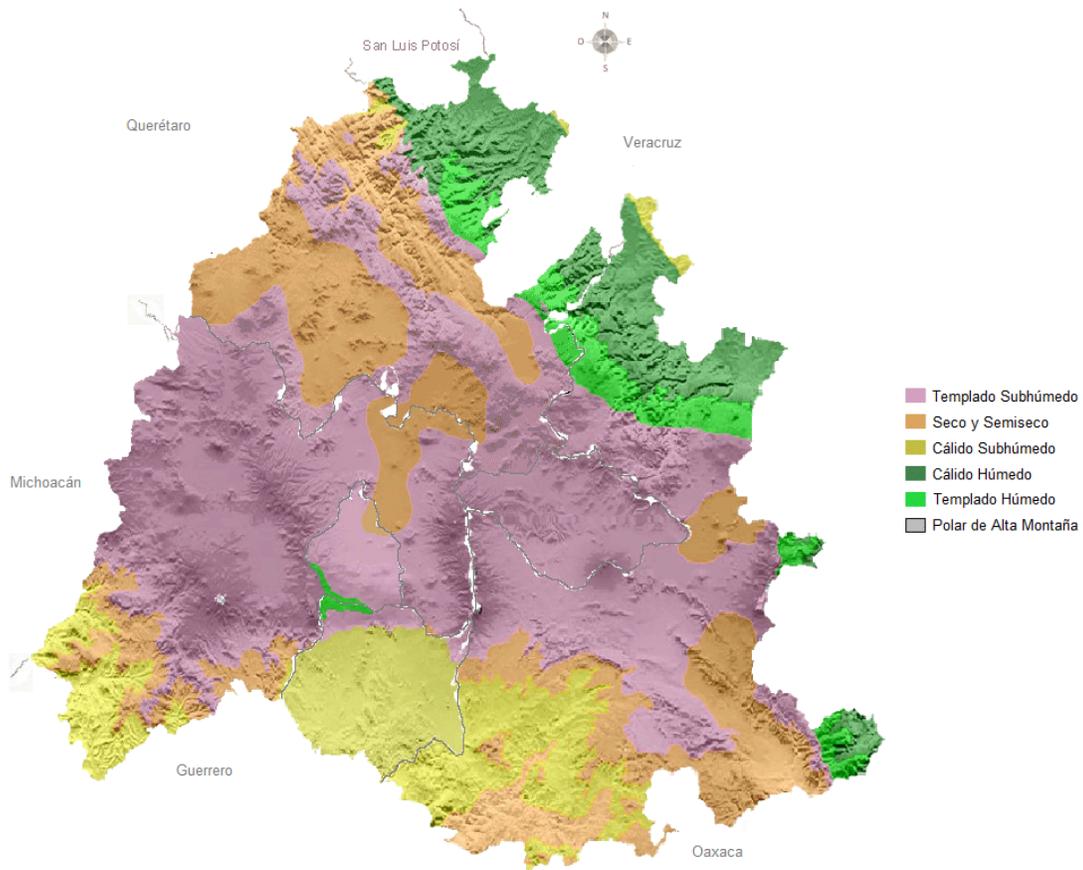


Figura 23. Mapa climatológico del centro de México, modificado de INEGI, s.f.

En las regiones de clima seco y semiseco como el oeste de Hidalgo, norte del estado de México o el sureste de Puebla la temperatura media anual es de entre 14 y 17°C se perciben de 500 a 600 mm de lluvia. Por otro lado se observan climas cálidos en las regiones norte de Hidalgo y Puebla al igual que el suroeste del Estado de México y Puebla. Las temperaturas medias anuales en estas regiones oscilan entre los 24 y 26 °C y perciben entre 900 y 1350 mm de lluvia (INEGI, 2021a; 2021b, 2021c, 2021d, 2021e).

En las regiones de México ajenas a la mesa central, los suelos de mayor incidencia son aquellos cuyas características limitan el desarrollo de actividades agrícolas.

Suelos como los leptosoles (suelo delgado), los calcisoles (suelo calizo), entre otros; no son aptos para la agricultura debido al carácter accidentado del terreno en el que se suelen encontrar, a la baja fertilidad ocasionada por su composición, a su baja capacidad para retener humedad o a su baja profundidad (SEMARNAT, 2002). Por otro lado, en las entidades que corresponden al este de la mesa central los suelos suelen ser de mayor utilidad para actividades agrícolas. Los suelos más comunes en esta zona son los suelos de tipo andosol y de tipo feozem.

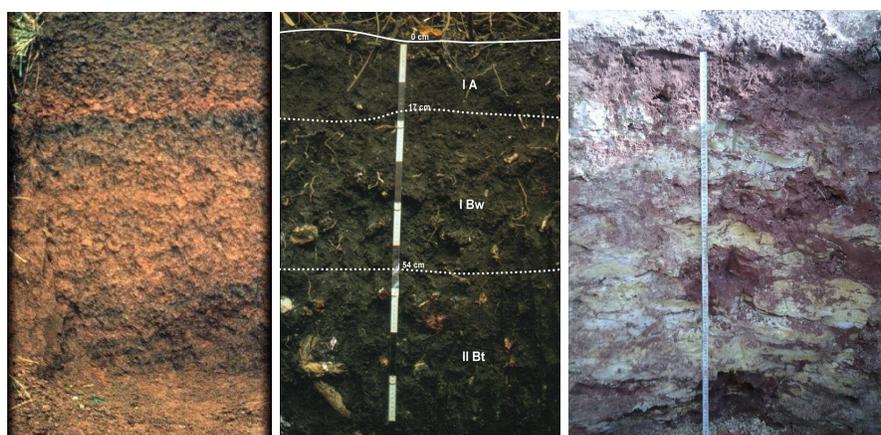


Figura 24. Ejemplos de suelos comunes en la mesa central, de izquierda a derecha: Andosol, feozem, leptosol (Fotografías de Jan Nyssen, Wikimedia Commons)

El suelo de tipo andosol es el más común en esta región del país, este se encuentra en áreas con actividad volcánica, se encuentran cerca de los volcanes del valle de México y son el terreno mayoritario en el sur de la Ciudad de México y el oeste y centro del Estado de México (INEGI, 2021a; 2021c).

Son suelos suaves y lodosos que cuentan con una alta capacidad de retención de agua y facilitan el enraizamiento, son ricos en minerales y silicatos ya que están compuestos parcialmente por ceniza volcánica.

Son el tipo de suelo con la mayor cantidad de carbono orgánico por lo que suelen ser bastante fértiles, sin embargo son propensos a la erosión y por su textura su uso en terreno inclinado, como el que se observa en las laderas del valle de México, es complicado (Kögel-Knabner y Amelung, 2014).

El suelo de tipo feozem es de coloración parda y oscura. Es común en áreas templadas subhúmedas y se encuentra principalmente en el sur de Hidalgo, el norte y noreste del Estado de México y el norte de Tlaxcala (INEGI, 2021b; 2021c, 2021e).

El suelo feozem es considerablemente fértil gracias a su alto contenido de minerales y de carbono por lo que comúnmente se utiliza para la producción de granos; pero es altamente susceptible a la erosión la cual reduce la fertilidad del suelo al retirar las capas superiores de suelo ricas en nutrientes (SEMARNAT, s.f.).

### 3.4. Extracción de Compuestos Naturales

#### 3.4.1. Extractos Naturales

Desde los inicios de la civilización se han utilizado una gran variedad de plantas, hongos e incluso ciertos animales para una infinidad de aplicaciones (Fongang *et al.* 2021). Hoy en día gracias al desarrollo tecnológico es posible elaborar compuestos de origen natural mediante otros medios, como en el caso de muchos fármacos, aditivos alimentarios y agentes nutracéuticos como el ácido salicílico del sauce, la vainillina de la vainilla o ácido ascórbico de diversas frutas.



Figura 25. Fuentes de aditivos alimentarios de alto valor. De izquierda a derecha: Vainilla, grana cochinilla, maíz morado. (Imágenes de Adobe Stock)

En algunos casos es viable elaborar estos compuestos de interés mediante rutas de síntesis orgánica como ocurre con los compuestos mencionados anteriormente. Sin embargo, comúnmente no existe un proceso de síntesis orgánica, comercialmente o no, viable para obtener estos componentes. Cuando esto ocurre es necesario cultivar el o las fuentes naturales que generan el producto de interés mediante sus procesos de biosíntesis innatos y a partir de estos obtenerlos mediante un proceso de extracción.

El desarrollo de técnicas, metodologías y procesos para la extracción de compuestos bioactivos a partir de fuentes naturales es de gran interés para la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos. En el caso de esta última, se debe a que durante los últimos años se ha desarrollado una demanda por alimentos funcionales, es decir se busca elaborar alimentos que contengan compuestos bioactivos y cuyo consumo tenga un efecto benéfico sobre el organismo (Kurek *et al.*, 2022).

Una de las formas en las que se puede preparar un alimento funcional es al agregar compuestos bioactivos o bien, al agregar un concentrado de algún producto que contenga compuestos bioactivos. Por lo regular estos componentes se encuentran en concentraciones relativamente bajas.

Se prefiere utilizar componentes de mayor pureza para elaborar alimentos funcionales; ya que los concentrados suelen alterar significativamente las propiedades sensoriales del producto de una manera negativa.

Además, es vital que la elaboración del extracto no requiera del uso de sustancias no aptas para el consumo humano, como pueden ser ciertos solventes orgánicos. Es necesario que el proceso mantenga la degradación o transformación de los componentes activos al mínimo. De otra manera se vería reducida la concentración y/o el efecto benéfico de los componentes de interés del extracto (Sasidharan *et al.*, 2010).

Ya que cada compuesto bioactivo así como sus fuentes requieren de un tratamiento específico para su extracción; se han desarrollado distintas formas y métodos para elaborar extractos de compuestos bioactivos a partir de plantas.

### 3.4.2. Técnicas de Extracción de Compuestos Naturales

La técnica o técnicas de extracción idónea para elaborar un extracto dependerá principalmente de las características del compuesto o compuestos bioactivos a extraer.

El método tradicional para realizar extracciones líquido-sólido es el método de maceración el cual consiste en pulverizar la materia prima de la cual se desea extraer el compuesto bioactivo para posteriormente suspender las partículas en un agente extractante, por lo regular un solvente orgánico ya sea en frío o bajo calentamiento.

Las ventajas de este método son su alta simplicidad y que no requiere de ningún equipo especializado, las desventajas incluyen que requieren de un tiempo de tratamiento prolongado, requieren de altas cantidades de solventes orgánicos y que se suelen obtener rendimientos menores a los observados con metodologías que utilizan tecnologías emergentes debido a degradación inducida por el tratamiento térmico (Banerjee *et al.*, 2017).

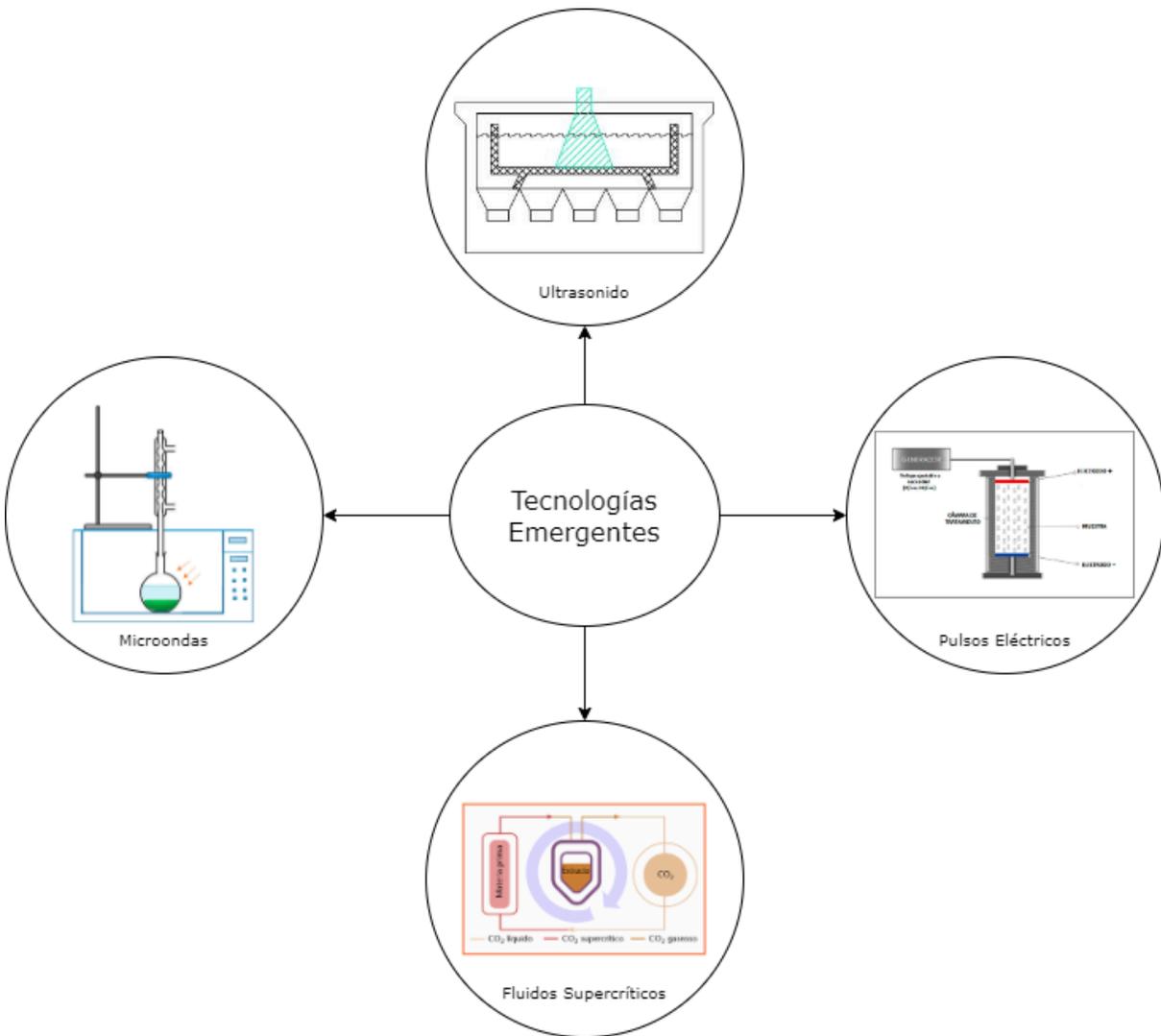


Figura 26. Ejemplos de tecnologías emergentes para la extracción de compuestos de alto valor.

Cuadro 1. Tecnologías Emergentes para la Extracción de Compuestos Bioactivos (Azmir *et al.*, 2013; Brombenger *et al.*, 2017; Lemes *et al.*, 2021; Medina Torres *et al.*, 2017; Patra *et al.*, 2022; Piasecka *et al.*, 2021).

Tecnología	Fundamento	Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
Fluido supercrítico	Utiliza gases como el CO <sub>2</sub> sobre su punto crítico para extraer sustancias no polares eficientemente, gracias al alto poder de difusión del fluido.	No requiere de calentamiento intenso, eficiencia de extracción alta y tiempo de extracción notablemente corto.	Usar presiones muy altas puede implicar riesgos de operación, difícilmente extrae sustancias polares sin modificadores (e. g. etanol).	Extracción de naringina de cáscaras de toronja ( <i>Citrus paradisi</i> ), catequina y epicatequina de semilla de uva ( <i>Vitis vinifera</i> ) Chardonnay.
Pulsos de Campo Eléctrico	El campo eléctrico inducido aumenta drásticamente la permeabilidad de las membranas celulares, lo que favorece la extracción de compuestos polares.	Aumenta la eficiencia de extracción sin inducir un aumento en la temperatura, es apta para ser usada como pretratamiento para complementar otras técnicas.	Induce la formación de especies reactivas de oxígeno en el extracto los cuales pueden degradar compuestos bioactivos con potencial antioxidante.	Extracción de isoflavonas de frijol de soya ( <i>Glycine max</i> ), antocianinas de piel de uva Merlot, polifenoles de piel de mango ( <i>Mangifera indica</i> ).
Microondas	Se aplica energía electromagnética de 600 MHz a 600 GHz sobre la muestra, lo que calienta el medio y puede romper las membranas celulares.	No requiere el uso de solventes orgánicos, calienta la muestra de manera uniforme y con alta reproducibilidad.	Su uso requiere aumentos de temperatura, por lo que no se recomienda para extraer productos termolábiles.	Extracción de betalaínas de pitahaya ( <i>Selenicereus undatus</i> ), pectina de cáscara de maracuyá ( <i>Passiflora edulis</i> ).
Ultrasonido	Utiliza ondas sónicas superiores a los 20 KHz que inducen cavitación en el medio, lo que rompe membranas celulares	Se puede realizar a condiciones estándar, de fácil manejo, alta reproducibilidad.	Requiere el uso de agua, puede inducir la formación de especies reactivas de oxígeno al utilizar frecuencias muy altas.	Flavonoides de cáscara de naranja ( <i>Citrus sinensis</i> ), compuestos fenólicos de moringa ( <i>Moringa oleifera</i> ).
Enzimas	Mediante el uso de enzimas catalíticas se debilitan las fibras del tejido vegetal, favoreciendo la difusión de los compuestos activos hacia el solvente.	De fácil manejo, reducen tiempos de extracción y aumentan el rendimiento. Se pueden utilizar en conjunción con otras técnicas.	Requieren condiciones de temperatura y pH controladas, son de alto costo y pueden requerir tiempos de tratamiento prolongados.	Compuestos fenólicos de bagazo de frambuesa ( <i>Rubus idaeus</i> ), compuestos fenólicos de piel de naranja, compuestos fenólicos de bagazo de uva.

Existen distintas metodologías utilizadas comúnmente que buscan eliminar una o más de estas limitantes del método como la extracción Soxhlet la cual consiste en la extracción de los compuestos bioactivos mediante un percolado en el que el solvente recircula continuamente, las altas temperaturas requeridas por el proceso aumentan el rendimiento, sin embargo pueden inducir la degradación térmica de los compuestos a extraer (Santos y Santana, 2022).

Hoy en día existen diversas técnicas de extracción que buscan aplicar tecnologías emergentes con el fin de obtener compuestos bioactivos con un rendimiento superior, minimizando la degradación de los compuestos y reduciendo drásticamente los tiempos de extracción.

Técnicas como la extracción mediante CO<sub>2</sub> supercrítico, la extracción asistida por ultrasonido, extracción asistida por microondas o la extracción asistida por pulsos eléctricos son las técnicas de extracción emergentes más evaluadas (Santos y Santana, 2022).

### 3.4.3. Extracción Asistida por Ultrasonido

La extracción asistida por ultrasonido consiste en una técnica de extracción líquido-sólido en la cual la aplicación de ondas ultrasónicas favorece significativamente la extracción. En específico se observa un aumento significativo en el rendimiento de extracción comparado con la maceración tradicional o bien; en una reducción notable en el tiempo de tratamiento requerido para obtener un extracto líquido de concentración similar (Kuram *et al.*, 2021).

En la literatura se pueden encontrar una gran variedad de aplicaciones de esta metodología de extracción para la extracción de fitoquímicos, principalmente se prefiere para extraer compuestos bioactivos lábiles ya que por este medio se pueden realizar extracciones a temperaturas relativamente bajas y con un tiempo de tratamiento corto.

El fundamento detrás de la extracción asistida por ultrasonido consiste en que, al aplicar ondas ultrasónicas de una frecuencia superior a los 20 kHz, se forman gradientes de presión dentro del medio lo cual induce la formación de burbujas de cavitación, es decir, la formación de burbujas microscópicas de vapor (Kuram *et al.*, 2021).

Estas burbujas colapsan poco después de formarse lo que provoca una onda de choque que puede perturbar e incluso romper la pared celular de los tejidos vegetales que contienen los compuestos bioactivos, liberando estos componentes en el medio de extracción (Zahari *et al.*, 2020).

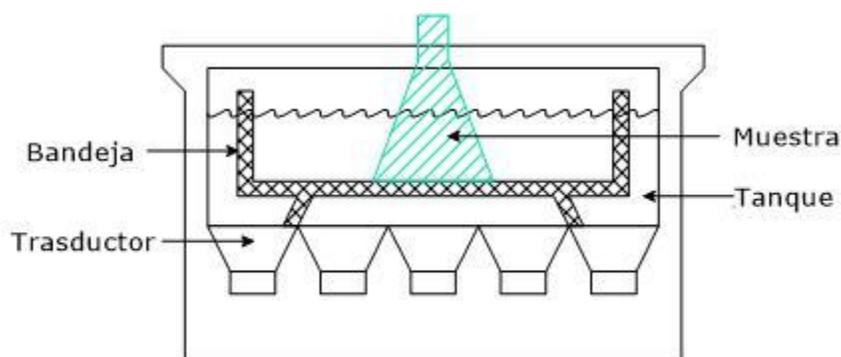


Figura 27. Diagrama de un baño ultrasónico.

La extracción asistida por ultrasonido se puede llevar a cabo mediante el uso de uno de dos equipos: con un baño ultrasónico o con una sonda ultrasónica, también conocida como sonicador u homogeneizador ultrasónico.

El primero consiste en un tanque de agua en el cual se colocan las muestras para el tratamiento y una serie de transductores piezoeléctricos colocados debajo del tanque generan las ondas ultrasónicas. Las desventajas del baño ultrasónico incluyen que estos suelen ser de baja potencia y que, ya que las ondas de sonido no se aplican de manera uniforme en el tanque, el proceso de extracción mediante baño ultrasónico puede ser de baja reproducibilidad al usar equipos diferentes (Kumar *et al.*, 2021).

Las ventajas del uso de baños ultrasónicos incluyen que su operación y manejo es sencillo, son equipos más económicos (Kuram *et al.*, 2021), y que el proceso suele ser de alta reproducibilidad entre réplicas ya que se llevan a cabo bajo condiciones de presión y temperatura ambientales.

Además, el que los baños sean de baja potencia los hace idóneos para la elaboración de productos lábiles, ya que al exponer un extracto a ondas ultrasónicas de alta potencia ( $>700\text{ W}$ ) o de frecuencias superiores a los 380 MHz (Medina Torres *et al.*, 2017).

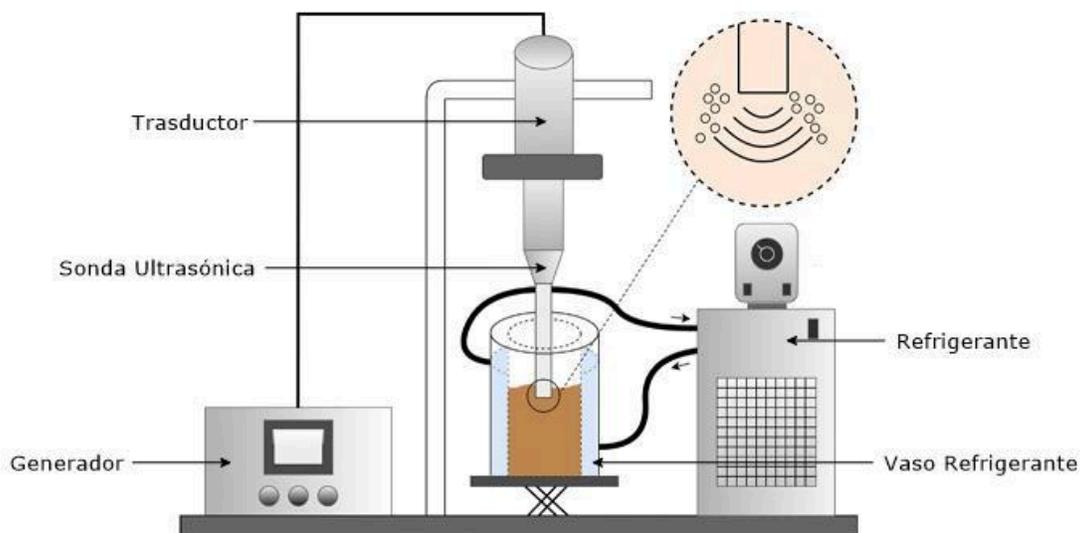


Figura 28. Diagrama de una sonda ultrasónica (Editado a partir de Wen *et al.*, 2021).

Por otro lado, la sonda ultrasónica consiste en un transductor piezoeléctrico conectado a un dedo o cuerno, el cual administra la energía sónica directamente sobre la muestra (Zahari *et al.*, 2020). Las ventajas principales de este método incluyen que aplicar las ondas ultrasónicas sobre la muestra es más eficiente energéticamente y que los tiempos de tratamiento pueden ser aún más cortos que los que se observan con el baño ultrasónico.

Además la sonda administra la energía de manera uniforme en toda la muestra; por lo que el proceso de extracción suele contar con una reproducibilidad superior a la observada en extracciones realizadas mediante baños ultrasónicos (Medina Torres *et al.*, 2017).

Entre las desventajas del uso de sondas ultrasónicas se encuentra que, debido a las altas frecuencias en las que se utilizan, se induce la formación de radicales libres los cuales degradan los compuestos bioactivos de interés, en especial aquellos con alta capacidad antioxidante (Kumar *et al.*, 2020). El uso de sondas ultrasónicas es más complicado, y llevar a cabo procesos a altas amplitudes o durante tiempos prolongados mayores a cinco minutos puede deteriorar el cuerno o dedo de la sonda (Picó, 2013).

### 3.5 Crioconcentración

La obtención y aislamiento de compuestos bioactivos de alta pureza a partir de extractos de productos naturales es una de las tareas más difíciles en la industria de alimentos, cosmética y farmacéutica. Sin embargo, para las primeras dos aplicaciones es viable utilizar concentrados sin refinar de estos componentes.

La elaboración de concentrados de extractos naturales es un proceso de interés para las industrias de alimentos ya que su uso implica menores costos de transporte y almacenamiento, además de las posibles aplicaciones que no serían viables al utilizar extractos crudos (Bastías Montes *et al.*, 2021).

Hoy en día se produce una gran variedad de concentrados de frutas y hortalizas en la industria de alimentos; en gran parte gracias a la demanda por alimentos funcionales, como lo son productos cuya formulación incluye concentrados de bayas o raíces debido a sus propiedades nutracéuticas.

Existen tres métodos para concentrar un extracto: evaporación, filtración de membrana y congelación (Bastías Montes *et al.*, 2021). Debido a la naturaleza termolábil de la mayoría de los compuestos bioactivos disponibles en productos vegetales; concentrar un extracto natural que contenga estos componentes o bien, separar estos componentes de un solvente puede representar un reto.

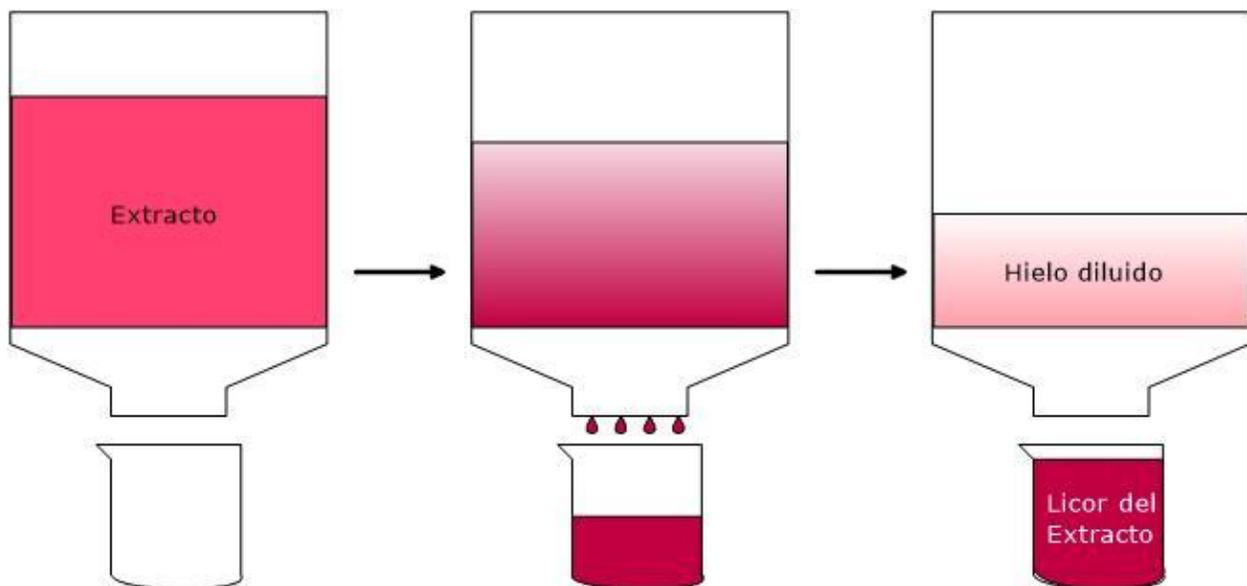


Figura 29. Diagrama de un proceso de crioconcentración pasiva.

Si bien hay técnicas como el liofilizado, la ósmosis inversa o el secado asistido por vacío que logran hacer esto sin un tratamiento térmico intenso; estos procesos implican costos muy elevados por lo que están reservados para la obtención de productos de alto valor agregado o cuando se elaboran en volúmenes considerables (Albergamo *et al.*, 2020).

La crioconcentración o concentración por congelación es una técnica de concentración que no requiere de calentamiento y permite concentrar un extracto acuoso de manera sencilla y con un costo relativamente bajo. Consiste en congelar un extracto y antes de que este se funda completamente separar la fracción de hielo del extracto líquido o licor de crioconcentrado.

Al dejar que este se funda parcialmente se obtiene una fracción de hielo relativamente puro y una fracción líquida de concentración mayor a la inicial. De esta manera se puede retirar parte del agua sin calentar un extracto y por ende, sin afectar las propiedades nutracéuticas y sensoriales de este (Zielinski *et al.*, 2018).

La crioconcentración se puede realizar de distintas maneras, la manera más sencilla es la crioconcentración pasiva. La crioconcentración pasiva o crioconcentración en bloque consiste en dejar reposar el extracto congelado a temperatura ambiente, permitiendo que este se derrita paulatinamente e ir recolectando el extracto líquido concentrado.

La ventaja principal de este método es que es la manera más sencilla de concentrar un extracto sin calentamiento, ya que no requiere de ningún material o equipo una vez que se obtiene el extracto congelado.

Dependiendo de las cantidades de extracto a concentrar, el proceso de crioconcentración puede tomar horas; sin embargo gracias a la simplicidad de la técnica se pueden crioconcentrar varios lotes de un extracto de manera simultánea. Otras variantes de la técnica de crioconcentración incluyen métodos que buscan acelerar la separación de las fracciones; como la fusión asistida por microondas o la crioconcentración por centrifugación.

O bien técnicas que permitan la formación de cristales de hielo de mayor tamaño, lo que aumenta la diferencia de concentración de los compuestos de interés entre las dos fracciones; como puede ocurrir al aplicar ultracongelación, con intercambiadores térmicos de superficie raspada (Aider y de Halleux, 2008) o mediante crioconcentración por suspensión, la cual consiste en inducir la cristalización mediante nucleación para así obtener una buena separación entre el concentrado o licor y la fracción de hielo (Aider y de Halleux, 2009).

Gracias a la capacidad de este método para concentrar un extracto sin alterar sus propiedades nutrimentales o sensoriales se han utilizado distintas técnicas de crioconcentración para elaborar una gran variedad de concentrados de extractos naturales de origen vegetal e incluso para ciertos productos lácteos.

Se ha aplicado esta técnica para obtener compuestos bioactivos a partir de aguas residuales de procesos industriales como el agua de uva obtenida en el proceso de vinificación; concentrar jugos de frutas como la manzana, naranja, toronja entre otros; así como la elaboración pastas o purés de frutas como el tomate o la piña (Aider y de Halleux, 2009).

## 4. Hipótesis

Se espera que al menos una de las variedades de olores de maíz morado cuente con una concentración de antocianinas cercana a un 40% más que el promedio de las variedades a evaluar, y que a partir de esta se logre obtener un colorante apto para su uso en alimentos; elaborado a partir de un extracto de olote de maíz morado mediante la técnica extracción asistida por ultrasonido de alta potencia.

## 5. Objetivos

### 5.1. Objetivo General

La elaboración de un extracto concentrado de antocianinas mediante la tecnología de ultrasonido de alta potencia, a partir de olores de maíz morado (*Zea mays* L.) provenientes del centro de México para evaluar su potencial aplicación como colorante en un alimento.

### 5.2. Objetivos Particulares

- Evaluar el contenido de compuestos bioactivos en olores de maíz morado provenientes del centro de México
- Identificar la variedad o variedades de olores de maíz morado con mayor contenido de antocianinas totales.
- Diseñar y optimizar una metodología para la elaboración de extractos de antocianinas de olores de maíz morado aptos para su uso en alimentos, mediante la extracción asistida por ultrasonido de alta potencia.

- Elaborar aislados de antocianinas de olotes de maíz morado para su caracterización mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, por sus siglas en inglés).
- Elaborar un concentrado de antocianinas de olote de maíz morado apto para su uso en alimentos.
- Elaborar y evaluar la estabilidad de un colorante elaborado a partir de antocianinas de olotes de maíz morado.
- Preparar un producto alimenticio como ejemplo de una posible aplicación del colorante elaborado a partir de antocianinas de olotes de maíz morado.

## 6. Equipos y Materiales

### Instrumental

- Vasos de precipitado de 50, 400, 600 y 1000 mL.
- Matraces Erlenmeyer de 25, 50, 250, 500 y 1000 mL
- Matraces de filtración rápida de 25, 50, y 500 mL
- Matraces bola de 25, 50 y 500 mL
- Pipetas graduadas de 5 y 10 mL
- Pipetas volumétricas de 5 y 10 mL
- Probetas graduadas de 10, 50, 100, 250 y 500 mL
- Rallador de cocina
- Cepillo de acero inoxidable
- Tamiz de N° 40 (0.420 mm de apertura)
- Embudo Hirsch
- Embudo Büchner
- Papel filtro
- Celita

- Espátula
- Agitador de vidrio
- Agitador magnético
- Cubetas de espectrofotómetro de plástico de 1 mL
- Cubetas de espectrofotómetro de cuarzo de 2 mL
- Micropipetador Eppendorf de 100 y 1000  $\mu\text{L}$
- Puntas de micropipeta de 100 y 1000  $\mu\text{L}$
- Tubos de ensayo de 12 x 75, 13 x 100 y 16 x 150 mm
- Botellas Duran de 50 mL
- Botellas de polietileno de 1000 mL
- Filtros de membrana de PES de 0.22  $\mu\text{m}$
- Frascos para Liofilizadora Labconco de 600 mL
- Material de Filtración de Membrana Millipore

## Reactivos

- Etanol 96% (Conquimex)
- Metanol (Meyer)
- Acetato de Etilo (Conquimex)
- Hexano (Conquimex)
- Acetonitrilo grado HPLC (Honeywell)
- Ácido fórmico 88% (Mallinckrodt), HPLC (Sigma Aldrich)
- Ácido acético (Sigma Aldrich)
- Ácido cítrico
- Ácido clorhídrico 34% (Sigma Aldrich)
- Cloruro de potasio (Baker)
- Hidróxido de sodio Q. P. (Conquimex)
- Nitrito de sodio 98.5% (Mallinckrodt)
- Cloruro de aluminio anhidro (Sigma)

- Reactivo de Folin-Ciocalteu 2 N (Sigma Aldrich)
- Carbonato de sodio (Baker)
- Cloruro Férrico 98.7% (Mallinckrodt)
- Catequina 98% (Sigma Aldrich)
- Ácido gálico (Baker)
- Resina Adsorbente Amberlite XAD-7HP (Sigma Aldrich)
- Dextrina
- Ácido oxálico 99.7% (Baker)

## Equipo

- Estufa de cultivo
- Molino de café Mr. Coffee
- Balanza analítica Ohaus
- Potenciómetro Cole Palmer AB15 (Electrodo Accumet 13-620-285)
- Baño ultrasónico Cole-Palmer 8892 100 W, 42 KHz
- Sonda ultrasónica QSonica Q500 (Cuerno 220B de ½ pulg.)
- Espectrofotómetro CBG-Cintra
- Rotavapor Büchi R-215
- Agitador orbital Lab-Line
- Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución Waters (Autoinyector Waters 2707, Bomba de HPLC Waters 1525, Detector de Absorbancia UV-Vis Waters 2487, Desgasificador In-Line Waters AF)
- Columna Hypersil ODS GOLD (250 x 4.5 mm, 5 µm)
- Refrigerador
- Ultracongelador Harris
- Liofilizadora Labconco FreeZone 4.5

## 7. Metodología

### 7.1. Diseño Experimental

Este proyecto se llevó a cabo en cuatro etapas. La primera consistió en la preparación de las muestras de las distintas variedades de olate de maíz morado a evaluar; para encontrar diferencias significativas en el contenido de compuestos bioactivos y en especial de antocianinas totales. Esto se realizó con el fin de seleccionar la variedad o variedades con un contenido significativamente mayor de antocianinas totales, para con estas realizar los procesos subsecuentes.

La segunda consistió en el desarrollo y optimización de la metodología de extracción asistida por sonda ultrasónica para la elaboración de colorantes aptos para su uso en alimentos. Se hicieron pruebas con distintos tiempos de extracción con el fin de encontrar el tiempo mínimo de proceso que permite obtener la mayor cantidad de antocianinas de olate de maíz morado. Además, se realizaron pruebas con distintos agentes extractantes cuyo uso está permitido en alimentos, buscando identificar el o los solventes que demostraran un rendimiento superior.

La tercera consistió en la elaboración de extractos a mayor escala con la metodología y agentes extractantes seleccionados. Se prepararon cantidades significativas de concentrados de olate de maíz morado ricos en antocianinas con los cuales se podrán usar como colorantes para alimentos. Además, se obtuvieron antocianinas purificadas de olate de maíz morado con el fin de caracterizarlas mediante HPLC.

La última etapa consiste en la elaboración de colorantes a partir de concentrados de olote de maíz morado ricos en antocianinas. Se elaboraron una serie de encapsulados con mezclas de dextrina y harina de amaranto como agentes encapsulantes. Se realizaron pruebas de estabilidad aceleradas a diferentes niveles de pH de los encapsulados elaborados así como del concentrado acuoso, con el fin de determinar si hay diferencia significativa en la estabilidad de los encapsulados. Por último se utilizaron estos colorantes para elaborar un alimento como muestra de una potencial aplicación del colorante.



Figura 30. Esquema de bloques de la estrategia experimental.

## 7.2. Preparación de Muestras y Extractos

Las muestras de maíz morado se colocaron en un horno de secado a 60 °C durante no menos de 48 horas. Una vez que las muestras de olote estuvieran secas, se desgranó y se exfolió cada olote utilizando un cepillo de acero inoxidable.

Después de retirar la capa superior del olote con el cepillado se talló con un rallador de cocina, retirando así la mayor cantidad de gluma del raquis. Las dos fracciones del exfoliado de cada variedad se juntaron, se molió el exfoliado en un molino de café y se hicieron pasar por un tamiz de 0.420 mm; obteniendo un polvo de gluma de olote de maíz morado que representa cerca del 20% del peso seco total del olote. Los polvos de las distintas muestras de gluma de olote de maíz morado se reservaron en un lugar oscuro, fresco y seco hasta su eventual uso.



Figura 31. Mazorca y olote de maíz morado, variedad Tlalpan.

Para determinar la selección de variedades se elaboraron extractos metanólicos en pequeña escala. Se pesó  $0.5000 \pm 0.0500$  g de polvo de gluma de olote y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 25 mL; posteriormente se le agregaron 10 mL de una solución de metanol al 80% acidificada al 1% con ácido acético glacial. Las mezclas se sometieron a extracción asistida por baño ultrasónico a 30 °C durante 30 minutos. Finalizando el tratamiento el extracto metanólico se filtró a través de papel filtro y celita.

Para definir la metodología para la extracción asistida por ultrasonido de alta potencia se prepararon extractos de la siguiente manera: Se pesó  $2.0000 \pm 0.1000$  g de polvo de gluma de olote y se colocaron en una botella Duran de 50 mL; se le agregaron 40 mL del solvente a evaluar y se sometieron a extracción mediante sonda ultrasónica. Los extractos se filtraron a través de papel filtro y celita. En el caso de la evaluación de agentes extractantes el residuo sólido se sometió a un segundo ciclo de extracción.

### 7.3. Preparación de Aislados de Antocianinas

Para la obtención de aislados de antocianinas de olote de maíz morado para su caracterización mediante HPLC se realizó lo siguiente: Se pesó  $8.00 \pm 0.01$  g de gluma de olote de maíz morado pulverizado y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Se le agregó 160 mL de extractante metanólico acidificado con ácido acético y se sometió a extracción mediante baño ultrasónico a  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos. El extracto se filtró a través de papel filtro y celita, se vertió en un matraz bola de 500 mL y se evaporó el metanol del extracto con ayuda de un rotavapor.

El concentrado acuoso se lavó con hexano y acetato de etilo. Se vertió el concentrado lavado en un matraz Erlenmeyer de 500 mL y se le agregó aproximadamente 200 mL de agua; se le agregó la resina adsorbente gradualmente, mezclando constantemente, hasta que el sobrenadante tuviera un color rosa tenue. Se dejó reposar la mezcla en refrigeración durante 12 horas.

Se separó la resina del sobrenadante con un papel filtro; se le aplicaron lavados con agua destilada, mezclando suavemente, hasta que el agua de lavado fuera incolora. Se preparó una solución metanólica de ácido clorhídrico al 0.1% y se lavó la resina adsorbente con esta solución, separando así las antocianinas de olate de maíz morado de la resina hasta que la resina fuera de un color rosa tenue. La solución metanólica de antocianinas obtenida se llevó a sequedad con ayuda de un rotavapor y se almacenaron los cristales obtenidos bajo refrigeración.

#### 7.4. Crioconcentración

Para la preparación de extractos acuosos para la elaboración de colorantes se mezclaron 10.00 g  $\pm$  1.00 g de gluma de olate de maíz morado pulverizado con 250 mL de una solución de ácido cítrico al 1% o bien, con 250 mL de HCl al 0.2%. La mezcla obtenida se sometió a extracción asistida por ultrasonido de alta potencia a una amplitud de 50 durante 30 segundos, se filtró a través de papel filtro y se realizó un segundo ciclo de extracción con el residuo obtenido. Las dos fracciones se mezclaron en una botella de polietileno de 1000 mL y se almacenaron en ultracongelación durante 12 horas.

El extracto congelado se dejó fundir a temperatura ambiente, recolectando el licor de crioconcentrado en vasos de precipitado de 300 mL. La fracción de hielo resultante se fundió en un baño de agua a 30 °C. Se midió el volumen del licor obtenido y se sometió a un segundo y tercer ciclo de crioconcentración mientras que las fracciones de hielo se reservaron bajo refrigeración para su posterior recuperación.



Figura 32. Crioconcentración pasiva de extractos acuosos de totomoxtle de maíz morado.

## 7.5. Determinación de Antocianinas Totales

Las antocianinas totales se cuantifican siguiendo el método colorimétrico de pH diferencial, modificado a partir del método utilizado por Giusti y Wrolstad (2001) para determinar antocianinas totales. Se prepararon dos soluciones amortiguadoras: la primera de cloruros, 0.025 M de  $\text{pH} = 1.00 \pm 0.05$ ; y la segunda de acetatos, 0.4 M de  $\text{pH} = 4.50 \pm 0.05$ . En un tubo de ensayo se agregó 100  $\mu\text{L}$  de una dilución del extracto a evaluar y se mezcló con 900  $\mu\text{L}$  de solución amortiguadora de cloruros  $\text{pH} = 1$ .

Se tomó medida de la absorbancia de esta mezcla a una longitud de onda de 510 nm, ajustando la dilución hasta obtener una absorbancia de entre 0.2 y 1.2. A partir de la dilución seleccionada se prepararon dos mezclas, con 100  $\mu\text{L}$  de dilución y 900  $\mu\text{L}$  de cada solución amortiguadora.

Se determinó la absorbancia de la dilución preparada en ambas soluciones amortiguadoras a dos longitudes de onda, 510 nm y 700 nm. El contenido de antocianinas totales se estima a partir de la Ley de Lambert-Beer:

$$Abs = \epsilon l C$$

Donde *Abs* es la absorbancia de la muestra,  $\epsilon$  es la absortividad molar, para la C3G en agua a pH = 1  $\epsilon = (26900 \frac{mol}{L \cdot cm})$ , *l* es la longitud de la celda espectrofotométrica (1 cm) y *C* es la concentración de la muestra en mol/L. Sabiendo esto se estimó el contenido de antocianinas totales como equivalentes de C3G mediante la siguiente ecuación:

$$C_{antocianinas} = Abs_c \cdot \frac{10 \cdot 449.2 \frac{g}{mol}}{(26900 \frac{mol}{L \cdot cm})(1 \text{ cm})}$$

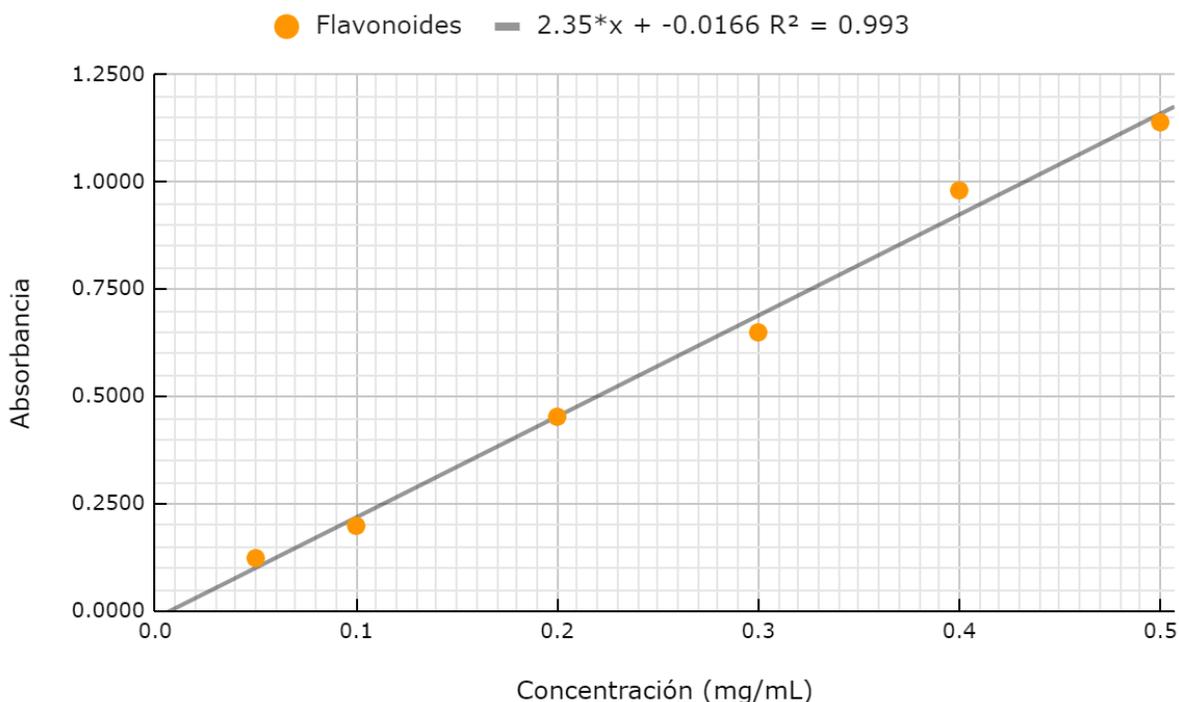
La absorbancia corregida se obtuvo a partir de la siguiente ecuación:

$$Abs_c = (Abs_{510 \text{ nm}} - Abs_{700 \text{ nm}})_{pH=1} - (Abs_{510 \text{ nm}} - Abs_{700 \text{ nm}})_{pH=4.5}$$

## 7.6. Determinación de Flavonoides Totales

La determinación de flavonoides totales se llevó a cabo mediante el método colorimétrico con cloruro de aluminio, utilizado por Torres Alcalá (2021). Se agregó 1000  $\mu$ L de una dilución del extracto a un tubo de ensayo de 16 x 175 mm, se mezcló con 1400  $\mu$ L de agua destilada y 300  $\mu$ L de una solución de NaNO<sub>2</sub> al 5% y se dejó reposar durante cinco minutos. Pasado este tiempo se le agregaron 300  $\mu$ L de una solución de AlCl<sub>3</sub> al 10%, 2 mL de hidróxido de sodio 1 M y 5 mL de agua destilada. Se evaluó la absorbancia de la mezcla obtenida a una longitud de onda de 415 nm.

Para obtener el contenido de flavonoides totales en el extracto se compararon los valores de absorbancia con una curva patrón de 0.05 a 0.50 mg/mL elaborada con catequina como estándar.

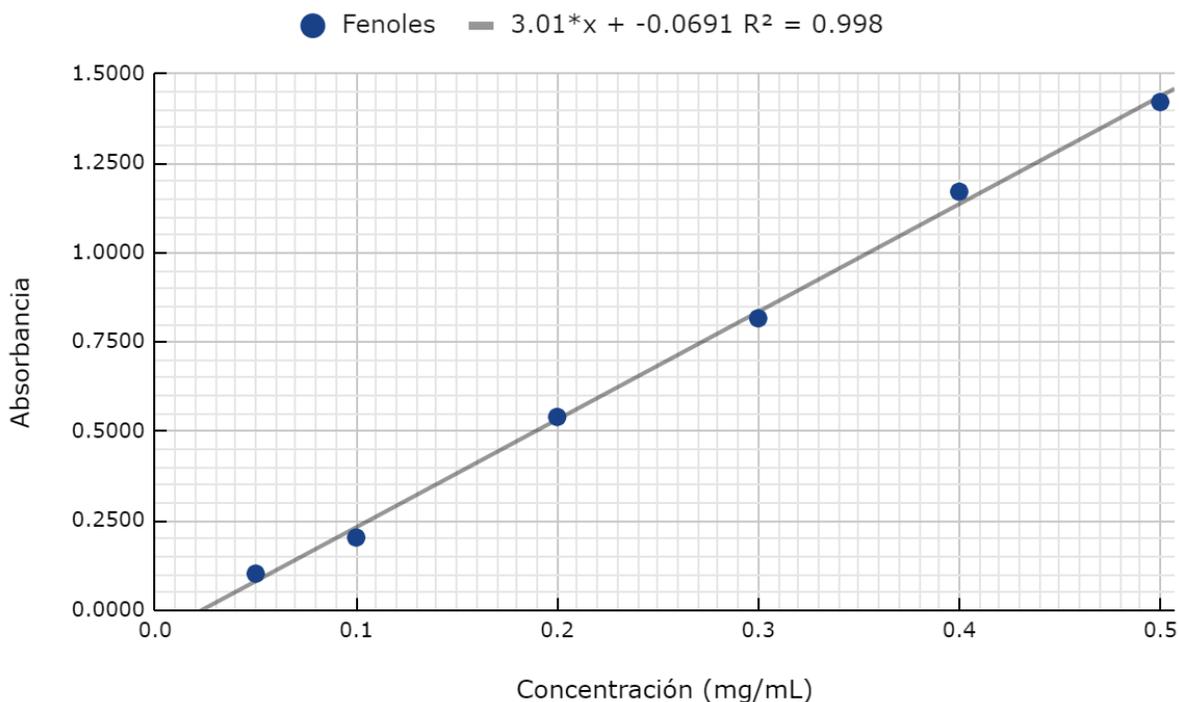


Gráfica 1. Curva patrón de catequina para la determinación de flavonoides totales.

## 7.7. Determinación de Fenoles Totales

La determinación de fenoles totales se realizó siguiendo el método de Folin-Ciocalteu, de acuerdo con lo descrito por Fernández Aulis (2014). Se mezcló 100  $\mu$ L de una dilución del extracto en un tubo de ensayo de 13 x 100 con 2 mL de carbonato de sodio al 2% y se dejó reposar durante dos minutos. Pasado este tiempo se le agregaron 100  $\mu$ L de una solución 1:1 de reactivo de Folin-Ciocalteu en agua, se mezcló y se dejó reposar 30 minutos en un lugar oscuro. Se evaluó la absorbancia de la mezcla de reacción a una longitud de onda de 760 nm.

Para obtener el contenido de fenoles totales en el extracto se comparó el resultado con una curva patrón de 0.05 a 0.50 mg/mL de ácido gálico como estándar.



Gráfica 2. Curva patrón de ácido gálico para la determinación de fenoles totales.

## 7.8. Caracterización por Cromatografía Líquida de Alta Resolución

Se siguió una metodología modificada a partir de la utilizada por Fernández Aulis (2014). Se disolvió una cantidad mínima de antocianinas de olote de maíz morado en 1.5 mL de metanol y se pasaron a través de un filtro de membrana, las soluciones de antocianinas se inyectaron en el cromatógrafo de líquidos, se utilizó un gradiente de una solución de acetonitrilo en agua al 90% acidificado con ácido fórmico al 1% (solución A) y acetonitrilo (solución B). Se utilizó un flujo de 1 mL por minuto y se aplicó el siguiente gradiente: 0 - 45 minutos, 97% A y 3% B; 45 - 46 minutos, 45% A y 25% B; 46 - 47 minutos, 70% A y 30% B; 47 - 55 minutos, 97% A y 3% B.

## 7.9. Determinación de Acidez Titulable

Se preparó una solución 0.1 N de hidróxido de sodio y se estandarizó con una solución patrón de ácido oxálico. Se tomó una alícuota de 20 mL de extracto, se vertió en un vaso de precipitado de 250 mL y se le adicionaron 30 mL de agua destilada. Se realizó una titulación potenciométrica bajo agitación constante, utilizando la solución de hidróxido de sodio como titulante.

## 7.10. Preparación de Encapsulados de Antocianinas

Se prepararon mezclas de dextrina y harina de amaranto en proporciones 1:4, 1:1 y 4:1. Posteriormente se suspendió el agente encapsulante a utilizar en un extracto acuoso de olote de maíz morado, en una proporción de 40 gramos de encapsulante por gramo de antocianinas totales. El extracto líquido con agente encapsulante se congeló y liofilizó, obteniendo así un encapsulado de antocianinas en polvo.

## 7.11. Pruebas de Estabilidad

Se prepararon tres soluciones amortiguadoras de citratos y se ajustó el pH de estas con un potenciómetro a un pH de  $3.00 \pm 0.05$ ,  $4.50 \pm 0.05$ , y  $6.00 \pm 0.05$ . Se prepararon soluciones de los distintos colorantes a evaluar en cada una de las soluciones amortiguadoras con una concentración teórica de antocianinas totales de 0.05 mg/mL. Se agregó 3.2 mL de solución a un tubo de ensayo de 13 x 100 con tapón de rosca y se colocaron en un baño de agua. Se cuantificó el contenido de antocianinas totales de cada una de las soluciones al inicio y en intervalos de 15 minutos durante 90 minutos. Esto se realizó a tres distintas temperaturas: 40, 60 y 80 °C.

## 7.12. Análisis Estadístico

Todas las cuantificaciones se realizaron por triplicado. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos para encontrar diferencias significativas en la concentración de compuestos bioactivos entre las distintas variedades de olate. Para determinar si las distintas variedades de olate contaban con un contenido de compuestos bioactivos significativamente superior al resto se aplicó una prueba de Tukey. Todas las pruebas estadísticas se realizaron considerando un nivel de significancia de 0.05.

## 8. Análisis de Resultados y Discusión

### 8.1. Determinación de Compuestos Bioactivos en Variedades de Orote de Maíz Morado

Para poder obtener extractos de orote de maíz morado a partir de los cuales se elaboraría un colorante, se consideró que utilizar la o las fuentes con el mayor contenido de antocianinas totales sería lo ideal. Debido a esto la primera etapa consistió en cuantificar el contenido de compuestos bioactivos en distintas variedades de oroles de maíz morado.

Tabla 2. Condiciones Geográficas de las comunidades de las cuales se obtuvieron las muestras de orote de maíz morado. (Inegi, 2021a; 2021c, 2021d, 2021e)

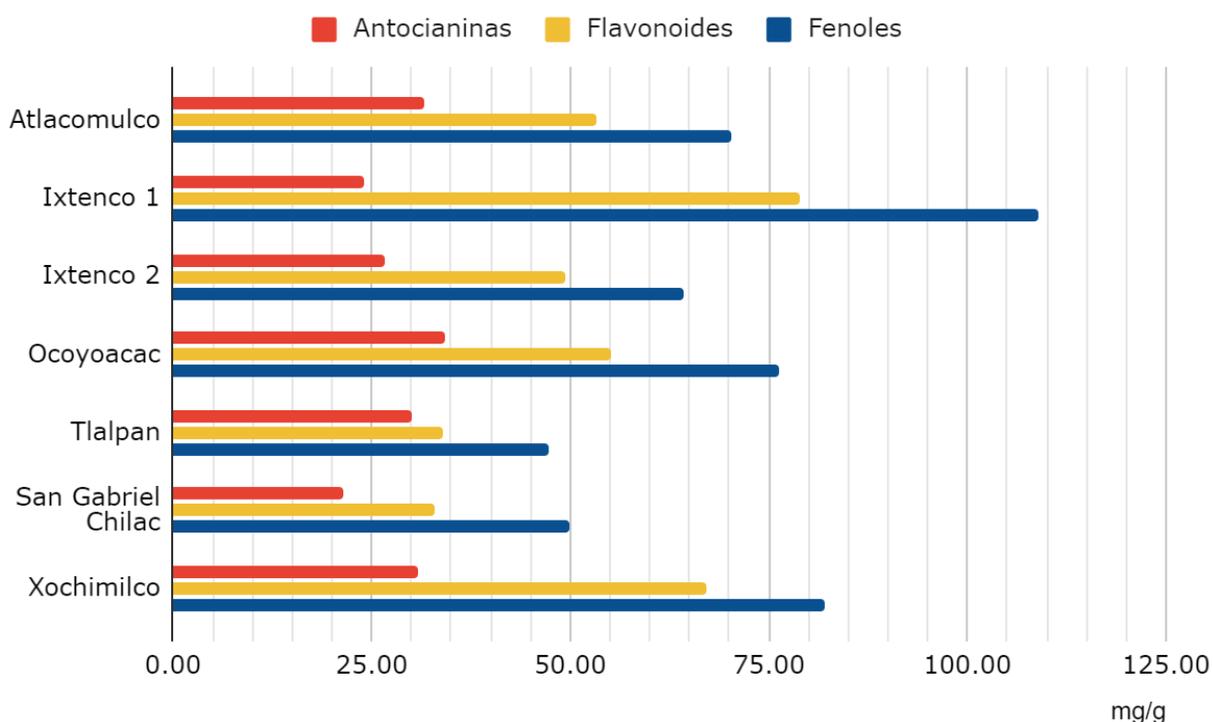
Comunidad	Clima	Altitud (m)	Precipitación anual media (mm)	Tipo de suelo predominante	Temperatura media anual (°C)
Atacomulco	Templado Subhúmedo	2573	800 - 1000	Feozem	12 - 14
Ixtenco	Templado Subhúmedo	2499	700 - 800	Feozem	12 - 14
Ocoyoacac	Semifrío Subhúmedo	2599	1200 - 1500	Andosol	10 - 12
Tlalpan	Templado Subhúmedo	2280	1000 - 1200	Andosol	14 - 16
San Gabriel Chilac	Seco Semicálido	608	400 - 500	Regosol	20 - 22
Xochimilco	Semifrío Subhúmedo	2237	700 - 800	Histosol	12 - 14

Se obtuvieron muestras de siete variedades de olate de maíz morado provenientes de seis comunidades del centro de México: Atacomulco, Estado de México; Ocoyoacac, Estado de México; Tlalpan, Ciudad de México; Xochimilco, Ciudad de México; San Gabriel Chilac, Puebla y dos variedades de Ixtenco, Tlaxcala.



Figura 33. Mapa del Centro de México, se encuentran resaltadas las comunidades de las cuales se obtuvieron las muestras de olate de maíz morado.

Después de evaluar el contenido de compuestos bioactivos en las distintas variedades se obtuvo lo siguiente:



Gráfica 3. Contenido de compuestos bioactivos en las variedades de olote de maíz morado evaluadas.

Estos componentes son deseables en un alimento por su potencial nutracéutico y por sus propiedades funcionales, ya que ambos son antioxidantes y en el caso de los flavonoides son copigmentantes; características que aumentan la estabilidad del color en caso de formar parte de un colorante a base de antocianinas.

### 8.1.1. Antocianinas Totales

Después de obtener los extractos metanólicos de las distintas variedades se evaluó el contenido de antocianinas totales mediante el método espectrofotométrico de pH diferencial. Debido a la coloración rojo intenso de los extractos fue necesario realizar diluciones 1:20 de cada uno de los extractos para realizar la cuantificación.

Se observó un contenido de antocianinas totales que oscila entre los 21 a los 34 mg/g de gluma de olote, la alta variabilidad entre las variedades es consistente con lo observado por otros autores al evaluar olotes de maíz morado de distintas regiones. Ccaycca *et al.* (2019) encontraron una diferencia notable entre tres variedades peruanas de olote de maíz morado criollo, con un contenido de antocianinas totales de 24 a 42 mg/g.

Por otro lado, Navarro Ocaña *et al.* (2019) recopilaron los resultados de diversos estudios en los que se realizaron extractos de olote de maíz morado a los cuales se les evaluó el contenido de antocianinas totales; en la literatura se encontró que el contenido de antocianinas totales en extractos metanólicos de olote de maíz morado va de 0.97 a 16.00 mg/g.

En general se obtuvieron valores ligeramente superiores a lo esperado comparado con lo reportado en la literatura. Principalmente, se comparó lo obtenido con lo reportado por Fernández Aulis (2012), quien utilizó olote de maíz morado de Ixtenco para evaluar distintas condiciones de extracción con el fin de optimizar un proceso de extracción asistido por baño ultrasónico.

Al preparar un extracto con una solución de metanol al 80% y acidificada con ácido acético al 1% y someterlo a sonicación durante 30 minutos, Fernández logró obtener un extracto de 21.67 mg de antocianinas totales por gramo de muestra.

Cabe mencionar que las cantidades de antocianinas totales en olotes de maíz morado reportadas por diversos autores pueden diferir debido a la raza y al método de preparación de la muestra. Ya que el centro de los raquis carece de pigmentación, no es posible comparar con certeza el rendimiento del proceso de extracción con lo reportado en la literatura en función del olote o elote entero. Si bien este parámetro puede estar ligado a la morfología del maíz, se puede estimar el contenido de antocianinas totales en el olote completo de acuerdo al rendimiento de exfoliado (21%) obtenido durante la preparación de las muestras.

Al aplicar el análisis estadístico, se encontraron diferencias significativas en el contenido de antocianinas totales de las variedades evaluadas. Las muestras provenientes de Atlacomulco, Ocoyoacac, Tlalpan y Xochimilco mostraron un contenido de antocianinas significativamente superior al resto, siendo la segunda la variedad con el mayor contenido de antocianinas. Por otro lado, la variedad proveniente de San Gabriel Chilac mostró el menor contenido de antocianinas totales. Aún así, esta variedad mostró un contenido de este compuesto bioactivo igual o superior que el de olotes de maíz morado evaluados por otros autores.

La variación en el contenido de antocianinas entre las variedades evaluadas de olote de maíz morado pueden deberse a varias causas: diferencias genéticas entre las variedades, diferencias en el tiempo de maduración y a las condiciones bajo las cuales se desarrolla la planta (Stănilă *et al.*, 2022).

En este último caso, se induce un aumento en la producción de antocianinas en respuesta a estrés inducido por factores extrínsecos como baja humedad, alta exposición a rayos UV, alta salinidad en el suelo y temperaturas bajas (Salvador Reyes y Clerici, 2020).

Todas las localidades de las cuales se obtuvieron los olotes de maíz morado, con excepción de San Gabriel Chilac, son localidades que se encuentran por encima de los 2000 metros sobre el nivel del mar y son de clima templado subhúmedo o semifrío subhúmedo.

La función principal de las antocianinas es proteger al tejido de la radiación UV y absorber la luz verde la cual puede inhibir la actividad fotosintética e inclusive dañar el tejido celular de la planta al ser expuesta en altas cantidades (Zhao *et al.*, 2022). A altitudes menores en general se observan menores cantidades de radiación UV, esto junto con la temperaturas más altas pudieron influir en el contenido menor de antocianinas en esta variedad, a pesar de provenir de la localidad más árida.

Lo observado difiere en parte con lo encontrado por Rabanal Atalaya y Medina Hoyos (2022), quienes evaluaron el contenido de antocianinas en los olotes de tres razas distintas de maíces morados cultivadas en tres regiones de Perú. Encontraron que para las tres razas, las variedades provenientes de Chala, una localidad de clima semiseco con una PMA de 900 mm de lluvia; tienen un contenido de antocianinas totales significativamente superior al de las otras dos localidades de clima húmedo.

### 8.1.2. Flavonoides Totales

A diferencia de lo que se observa en otras fuentes importantes de antocianinas (e.g. camote morado) que cuentan con altas cantidades de flavonoles como la quercetina o flavan-3-oles como la catequina, los flavonoides mayoritarios en los olotes de maíz morado son las propias antocianinas. Es importante conocer el contenido de flavonoides ya que aún si los otros subgrupos de flavonoides se encuentran en concentraciones relativamente bajas; estos tienen un efecto copigmentante y contribuyen indirectamente al potencial de estos extractos como colorantes.

Se observó un contenido de flavonoides totales de entre 33 a 79 mg equivalentes de catequina (EC) por gramo de gluma de olote, lo cual es considerablemente más alto que lo reportado en la literatura para olotes de maíz morado mexicano. Dávila Torres (2016) encontró que en olotes de maíz morado de Ixtenco se encuentran poco más de 12 mg equivalentes de catequina por gramo de gluma de olote morado.

Por otro lado, Monroy *et al.* (2016a) cuantificaron los flavonoides totales de un extracto elaborado con olote de maíz morado peruano; obteniendo 18.7 mg equivalentes de catequina por gramo de olote entero molido. Tomando en cuenta la consideración de que las antocianinas son el flavonoide principal en el olote y que estas, a su vez, se encuentran solo en la gluma, se puede inferir que la mayor parte de los flavonoides en el olotes se encuentran en la gluma.

A partir de todo lo anterior es posible decir que lo observado en este ensayo es consistente con lo observado por Monroy *et al.* (2016a), sabiendo que la fracción de gluma corresponde al 21% del peso total del olote.

Ya que los flavonoides mayoritarios en los maíces pigmentados son las antocianinas, es de esperar que el contenido de flavonoides totales no sea considerablemente superior que el de antocianinas totales. Este fenómeno se observa tanto en este ensayo como en lo reportado en la literatura, ya que en general se observa que el contenido de flavonoides totales es aproximadamente 50% mayor que el de antocianinas totales.

Entre las variedades evaluadas se encontró que la Ixtenco 1 cuenta con una cantidad significativamente mayor de flavonoides totales que el resto. Seguida de esta se encuentra la variedad Xochimilco la cual cuenta con más flavonoides que las variedades Atlacomulco, Ixtenco 2 y Ocoyoacac. Debido al mayor contenido de flavonoides totales es posible que, aún cuando esta variedad cuenta con una concentración menor de antocianinas, los extractos elaborados con esta variedad puedan mostrar un poder pigmentante y estabilidad del color superior gracias al efecto protector de estos componentes.

### 8.1.3. Fenoles Totales

Al igual que lo que ocurre con los flavonoides, ciertos compuestos fenólicos presentes en el olote de maíz morado como el ácido clorogénico, el ácido cumárico, el ácido gálico y el ácido ferúlico son copigmentantes de las antocianinas. Además, estos compuestos fenólicos cuentan con un alto potencial antioxidante, lo que resulta en una mayor estabilidad del color en un extracto de antocianinas en el cual estos componentes se encuentren en mayores concentraciones.

Se observó un contenido de fenoles totales que va de los 47 a los 109 mg equivalentes de ácido gálico (EGA) por gramo de gluma pulverizada. En general estos valores son consistentes con lo reportado en la literatura. Díaz García *et al.* (2021) obtuvieron un rendimiento de extracción de 70.33 mg EGA por gramo de olote morado peruano. Monroy *et al.* (2016b) elaboraron una serie de extractos de olote de maíz morado peruano mediante CO<sub>2</sub> supercrítico, obteniendo de 42 a 71 mg EGA por gramo de olote entero molido. A diferencia de los otros compuestos bioactivos evaluados, los fenoles están presentes en todas las partes del olote, siendo la médula del olote el tejido en el que estos se encuentran en mayores concentraciones.

Al igual que en el caso del contenido de flavonoides totales, la variedad Ixtenco 1 mostró un contenido de fenoles totales significativamente superior al resto, seguida por la variedad Xochimilco mientras que las variedades San Gabriel Chilac y Tlalpan mostraron un contenido menor de estos compuestos bioactivos.

Entre los maíces oriundos del centro de México, Dávila Torres (2016) encontró 28.84 mg EGA por gramo de olote, mientras que Fernández Aulis (2012) reporta 47.81 mg EGA por gramo de olote molido. En ambos casos se evaluaron oletes de maíz morado provenientes de Ixtenco. Esta variación coincide con lo observado en este ensayo, ya que se encontraron diferencias significativas en el contenido de fenoles totales entre las dos variedades provenientes de Ixtenco. En el caso de los compuestos fenólicos, al igual que muchos otros fitoquímicos, su producción se ve estimulada en respuesta a ciertos factores que inducen estrés en la planta.

Es posible que la variedad Ixtenco 1, a pesar de provenir de la misma localidad haya sido sometida a condiciones de desarrollo distintas a la que se expuso la variedad Ixtenco 2. Factores no geográficos como diferencias en la humedad debido al riego, una alta concentración de sales o metales pesados en el suelo, e incluso la presencia de insectos o microorganismos que afecten a la planta inducen un aumento en la producción de compuestos fenólicos (Patryusha, 2022).

Una concentración superior de compuestos fenólicos en el olote puede resultar en la obtención de un colorante con mayor poder pigmentante y/o de mayor estabilidad. Debido a la presencia de componentes como el ácido ferúlico, valínico y cumaríco, el uso de un extracto concentrado de olote de maíz morado con fines tecnológicos también resultará en la elaboración de un alimento funcional; gracias al potencial antioxidante, antitumoral y antihipertensivo de estos componentes (Loarca Piña *et al.*, 2019).

#### 8.1.4. Selección de Variedades

Considerando el contenido de antocianinas totales y dados los resultados obtenidos, se decidió utilizar las variedades Atlacomulco, Ocoyoacac, Tlalpan y Xochimilco indiscriminadamente para pruebas subsecuentes.

Si bien se decidió no usar esta variedad debido a su contenido de antocianinas totales relativamente bajo, debido a su alto contenido de flavonoides y fenoles totales; se recomendaría el uso de la variedad Ixtenco 1 para elaborar un extracto si el fin fuese obtener un extracto de mayor estabilidad o bien, si se desearan aislar estos componentes además de las antocianinas.

Tabla 3. Contenido de compuestos bioactivos en oletes de maíz morado de las distintas variedades evaluadas.

Variedad	Compuesto Bioactivo		
	Antocianinas Totales (mg C3G/g)	Flavonoides Totales (mg EC/g)	Fenoles Totales (mg EAG/g)
Atlacomulco	31.52 ± 0.58 <sup>(ab)</sup>	53.38 ± 3.60 <sup>(c)</sup>	70.32 ± 1.30 <sup>(cd)</sup>
Ixtenco 1	26.66 ± 2.10 <sup>(bc)</sup>	78.97 ± 3.65 <sup>(a)</sup>	108.88 ± 3.00 <sup>(a)</sup>
Ixtenco 2	23.99 ± 0.92 <sup>(c)</sup>	49.42 ± 2.80 <sup>(c)</sup>	64.32 ± 2.17 <sup>(d)</sup>
Ocoyoacac	34.16 ± 0.88 <sup>(a)</sup>	55.00 ± 0.22 <sup>(c)</sup>	76.19 ± 4.92 <sup>(bc)</sup>
San Gabriel Chilac	21.40 ± 0.67 <sup>(c)</sup>	33.06 ± 4.21 <sup>(d)</sup>	49.89 ± 4.84 <sup>(e)</sup>
Tlalpan	29.99 ± 4.03 <sup>(ab)</sup>	33.90 ± 2.20 <sup>(d)</sup>	47.28 ± 3.24 <sup>(e)</sup>
Xochimilco	30.83 ± 0.55 <sup>(ab)</sup>	67.15 ± 1.72 <sup>(b)</sup>	82.01 ± 2.61 <sup>(b)</sup>

## 8.2. Optimización de Metodología de Extracción Asistida por Ultrasonido de Alta Potencia

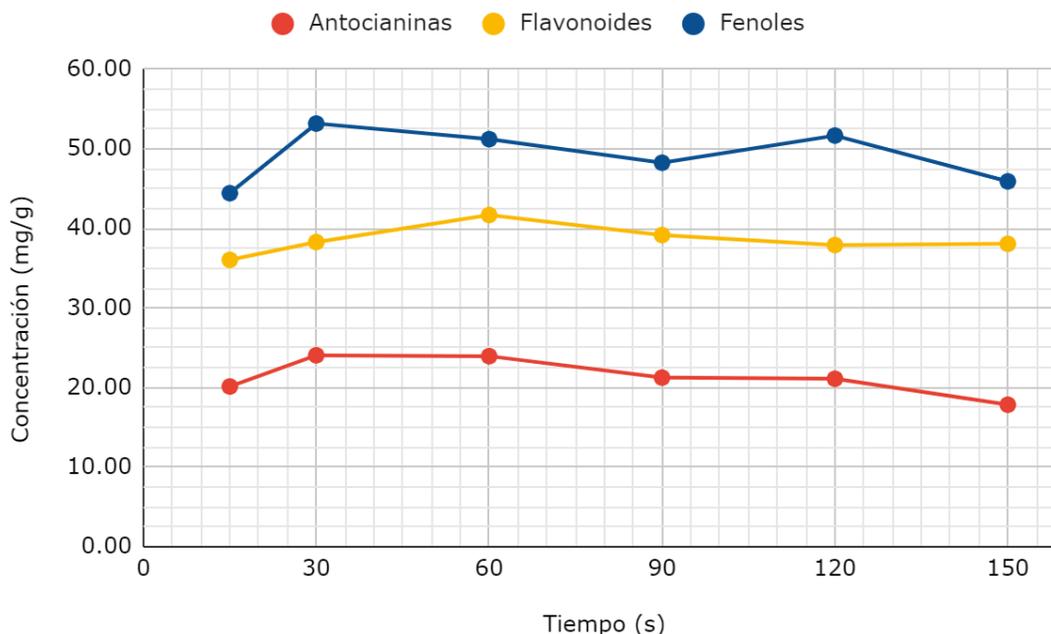
Para determinar las condiciones óptimas bajo las cuales se elaboraría un extracto de olete de maíz morado para la elaboración de un colorante apto para su uso en alimentos, se evaluaron dos parámetros: el tiempo de tratamiento y el agente extractante. Si bien Fernández Aulis (2012) comprobó que una solución de metanol al 80% acidificada con ácido acético, el metanol no es apto para su uso en alimentos; por lo que es necesario evaluar el desempeño de otros solventes que permitan la elaboración de un colorante apto para su uso en alimentos.

### 8.2.1. Tiempo de Tratamiento

El tiempo de extracción es uno de los factores principales en el rendimiento de extracción. Un tiempo de tratamiento demasiado corto no será capaz de extraer los componentes del olote de manera eficiente. Por otro lado, un tiempo de tratamiento prolongado puede inducir la degradación de los compuestos bioactivos debido al calentamiento excesivo o a la formación de radicales libres de oxígeno, además de implicar un mayor gasto energético.

Se evaluaron seis tiempos de tratamiento distintos: 15, 30, 60, 90, 120 y 150 segundos. Se decidió evaluar este intervalo de tiempo de tratamiento después de realizar las pruebas iniciales con la sonda ultrasónica. Se encontró que al aplicar 30 segundos de tratamiento se obtuvo un rendimiento de extracción ligeramente menor al observado anteriormente, al utilizar el baño ultrasónico.

Después de realizar las extracciones y al cuantificar el contenido de antocianinas, flavonoides y fenoles totales de los extractos obtenidos se encontró que 30 segundos es el tiempo mínimo en el cual se obtiene la mayor cantidad de antocianinas y fenoles totales, mientras que se obtiene un máximo de flavonoides totales tras 60 segundos de tratamiento.



Gráfica 2. Contenido de compuestos bioactivos obtenidos tras realizar extracciones asistidas por ultrasonido de alta potencia a distintos tiempos de tratamiento.

Tras 15 segundos de tratamiento solo es posible obtener cerca del 80% de las antocianinas extraíbles. Por otro lado, al aplicar un tratamiento de 90 segundos o más se observa un descenso en la concentración de antocianinas totales. Tras 150 segundos de tratamiento se observa una pérdida cercana al 30% comparado con el ensayo de 30 segundos. Si bien esto no se considera una pérdida importante, es notable que este descenso se observó al aplicar solo dos minutos de tratamiento adicional.

En el caso de que la tendencia observada se mantenga al aplicar tratamientos más prolongados, es posible que con tratamientos de duración superior a los 10 minutos se hubiese observado un comportamiento similar a lo descrito por Mane *et al.* (2015); quienes observaron un descenso de cerca del 75% en el contenido de antocianinas totales de un extracto de papa morada obtenido tras 120 minutos de tratamiento, comparado con el tiempo de tratamiento idóneo de 5 minutos.

El comportamiento observado también fue descrito por Fernández Aulis (2012) al realizar pruebas similares para definir el tiempo de tratamiento para optimizar un proceso de extracción asistido por baño ultrasónico.

En su ensayo encontró que al realizar el proceso de extracción en un lapso de 20 a 60 minutos es lo ideal. Fuera de este intervalo no se completa la extracción o hay una pérdida en el contenido de antocianinas, debido a la degradación oxidativa y térmica causadas por la sonicación prolongada.

Tabla 4. Contenido de compuestos bioactivos en olotes de maíz morado extraído mediante extracción asistida por ultrasonido de alta potencia.

Tiempo de Tratamiento	Compuesto Bioactivo		
	Antocianinas Totales (mg C3G/g)	Flavonoides Totales (mg EC/g)	Fenoles Totales (mg EAG/g)
15	20.14 ± 2.07	38.89 ± 1.78	44.44 ± 2.62
30	24.06 ± 0.86	38.29 ± 2.91	53.19 ± 2.21
60	23.95 ± 1.34	41.70 ± 1.94	51.23 ± 3.18
90	21.26 ± 2.91	39.17 ± 1.87	48.26 ± 2.47
120	21.11 ± 1.47	37.92 ± 4.30	51.68 ± 2.16
150	17.85 ± 2.95	38.07 ± 4.41	45.92 ± 3.34

El tiempo de tratamiento elegido es bajo comparado con las metodologías propuestas por otros autores para elaborar extractos mediante procesos asistidos por ultrasonido de alta potencia. Entre los factores que podrían provocar que el máximo de eficiencia de extracción se presente en un tiempo de proceso corto, se encuentran la escala a la que se realizó el tratamiento y el tamaño de partícula de la muestra.

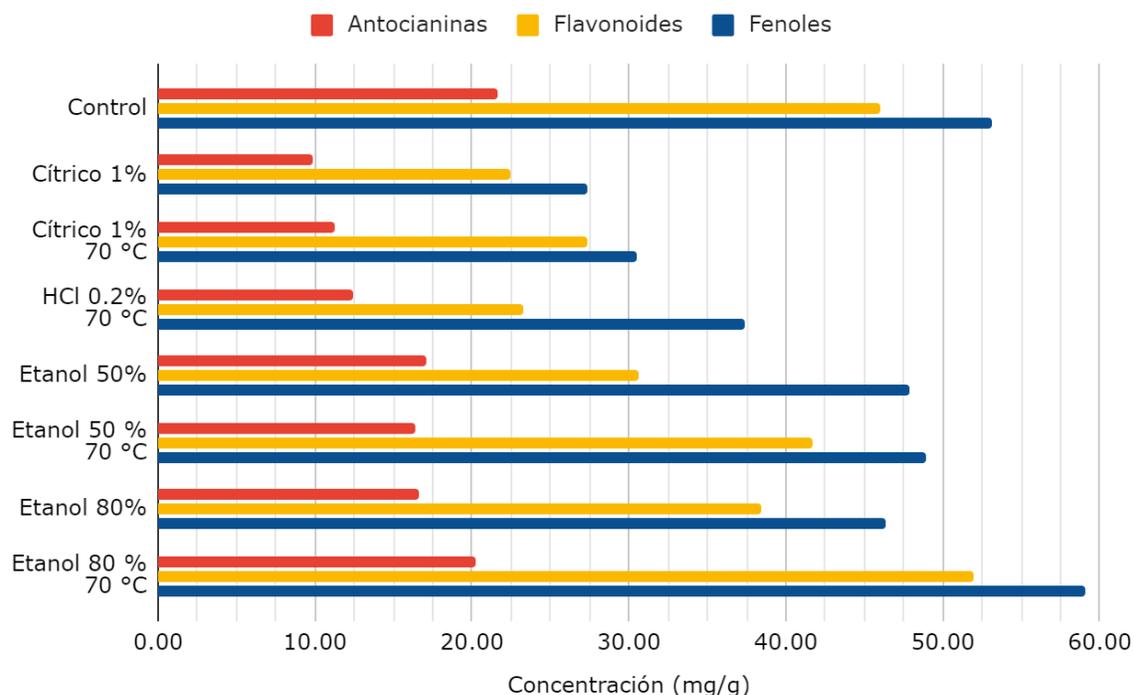
## 8.2.2. Agente Extractante

Después de determinar el tiempo idóneo de tratamiento, se realizaron pruebas con el fin de encontrar una alternativa a la solución de metanol 80% acidificada con ácido acético. El metanol debido a su alta toxicidad no es apto para su uso en la elaboración de productos para consumo humano, el ácido acético por otro lado es de aplicación limitada debido a sus propiedades sensoriales.

Considerando los hallazgos de Fernández Aulis (2012) sobre el rendimiento de extracción al utilizar distintos solventes; se decidió evaluar el rendimiento de extracción de soluciones etanólicas al 80% y 50%, acidificadas con ácido cítrico al 1%. Además de estas también se evaluó el rendimiento de soluciones acuosas de ácido cítrico al 1% y ácido clorhídrico al 0.2%; con el fin de comparar su efectividad frente a sus contrapartes alcohólicas y un control de la solución de metanol utilizada anteriormente. Por último, se evaluó si existe un aumento en el rendimiento al calentar el agente extractante a 70 °C previo al tratamiento ultrasónico frente a su uso a temperatura ambiente.

El objetivo principal de estas pruebas es encontrar aquel solvente o solventes que demuestren un desempeño igual al del metanol; o en su defecto, aquellos agentes extractantes que se le acerquen lo más posible. Aún en el caso en el que el rendimiento de extracción sea superior al utilizar solventes orgánicos, es deseable conocer el rendimiento de extracción al usar agua como agente extractante. Si bien el etanol está permitido en la elaboración de alimentos, sigue siendo un solvente orgánico cuyo uso implica un mayor impacto ambiental.

De ser posible, se preferirá utilizar agentes extractantes a base de agua ya que esta permite el uso de técnicas relativamente más sencillas y de menor impacto ambiental como la crioconcentración.



Gráfica 4. Contenido de compuestos bioactivos en olote de maíz morado extraído mediante el uso de distintos agentes extractantes.

Aún tras la aplicación de dos ciclos de extracción, no fue posible lograr un rendimiento de extracción de antocianinas igual o superior al observado al utilizar la solución acidificada de metanol.

Esto es consistente con lo reportado por Fernández Aulis (2012) quién encontró evidencia de que este solvente es más eficaz para extraer antocianinas que agentes extractantes de etanol, acetona o agua. Yang *et al.* (2007), por otro lado, describen que no hay una diferencia notable entre el uso del etanol y el metanol al elaborar extractos de antocianinas.

En general se observó un aumento ligero en el rendimiento de extracción de antocianinas después de calentar el agente extractante. El efecto del calentamiento es menor a lo reportado por otros autores, por ejemplo Gorriti *et al.* (2009) lograron un aumento en el rendimiento de 18 a 27 mg de antocianinas totales en extractos acuosos elaborados mediante maceración a temperatura ambiente y a 75 °C, respectivamente. Por otro lado, Barba *et al.* (2022) afirman que la temperatura de proceso es uno de los factores que influyen en mayor medida sobre la eficiencia de procesos de extracción asistidos por radiación infrarroja.

Tabla 5. Contenido de compuestos bioactivos en olotes de maíz morado extraído mediante el uso de distintos agentes extractantes.

Agente Extractante	Compuesto Bioactivo		
	Antocianinas Totales (mg C3G/g)	Flavonoides Totales (mg EC/g)	Fenoles Totales (mg EAG/g)
Metanol 80% Ácido Acético 1%	21.60 ± 1.70	46.01 ± 2.52	53.10 ± 1.81
Ácido Cítrico 1%	9.86 ± 0.60	22.72 ± 0.89	27.31 ± 0.85
Ácido Cítrico 1% (70 °C)	11.19 ± 0.89	27.47 ± 0.87	30.36 ± 0.97
Ácido Clorhídrico 0.2% (70 °C)	12.38 ± 0.87	23.26 ± 0.66	37.42 ± 2.82
Etanol 50%	17.06 ± 1.44	30.98 ± 1.00	47.80 ± 1.40
Etanol 50% (70 °C)	16.42 ± 1.31	41.94 ± 3.34	48.66 ± 3.34
Etanol 80%	16.63 ± 1.51	39.20 ± 1.57	46.77 ± 2.71
Etanol 80% (70°C)	20.23 ± 1.22	52.02 ± 2.18	58.40 ± 1.58

El mejor rendimiento obtenido entre los solventes alternativos fue el del etanol al 80% a 70 °C. Se obtuvieron 20.23 mg de antocianinas totales por gramo de olote pulverizado, comparado con los 21.60 mg/g obtenidos en la prueba con el solvente control, el cual representa un rendimiento relativo superior al 90%.

Lo observado difiere con lo reportado en la literatura, Liao *et al.* (2022) buscaron optimizar la metodología de extracción de antocianinas de cáscara de berenjena y descubrieron que al utilizar etanol al 50% se obtiene la mayor cantidad de antocianinas totales, sobre el uso de soluciones a distinta concentración.

Por otro lado, Lao y Giusti (2018) encontraron diferencias significativas en el contenido de antocianinas totales de olote de maíz morado de extractos elaborados con soluciones de etanol al 50% y 80%, siendo el primero el agente extractante más eficaz.

En cuanto al rendimiento de los extractos acuosos, se observó que el extracto elaborado con HCl al 0.2% logró un rendimiento de 12.38 mg/g de antocianinas totales; las cuales representan un rendimiento relativo cercano al 60%. Los resultados obtenidos son similares a lo reportado por Barba *et al.* (2022) quienes obtuvieron 11.5 mg de antocianinas totales por gramo de olote de maíz morado al optimizar un proceso de extracción asistido por infrarrojo.

Si bien hay una diferencia notable entre el rendimiento de extracción entre los extractos etanólicos y los acuosos, se considera que el rendimiento menor no es contrapeso suficiente frente a las ventajas de usar un agente extractante libre de solventes orgánicos.

Principalmente, se consideró la posibilidad de usar la técnica de crioconcentración para obtener concentrados líquidos ricos en antocianinas sin la necesidad de aplicar calentamiento para remover los solventes orgánicos. La solución de HCl al 0.2% demostró ser ligeramente más eficiente que la solución de ácido cítrico al 1%; sin embargo existen ciertas ventajas asociadas con el uso de ácido cítrico.

Las antocianinas se pueden hidrolizar en condiciones fuertemente ácidas, si bien el ácido clorhídrico se encuentra en una concentración mucho menor que el ácido cítrico y el pH de estas soluciones es similar, es posible que el ácido fuerte sea capaz de degradar las antocianinas de un extracto durante un tiempo prolongado. Por otro lado, el ácido cítrico cuenta con propiedades sensoriales que podrían no ser deseables en ciertos alimentos y, debido a las concentraciones usadas, forma la mayor parte del peso seco de un extracto.

Considerando esto, se decidió utilizar ambas soluciones para la elaboración de extractos para su uso como colorantes. Específicamente se decidió utilizar soluciones de ácido cítrico al 1% para la elaboración de colorantes en solución mientras que se utilizaron soluciones de HCl al 0.2% para la elaboración de encapsulados de antocianinas.

### 8.3. Elaboración de Concentrados y Aislados de Antocianinas de Orote de Maíz Morado

Se elaboraron una serie de concentrados acuosos de orote de maíz morado con el fin de utilizarlos como colorantes en alimentos, se prepararon una serie de aislados de antocianinas de orote de maíz morado de algunas de las variedades seleccionadas, para realizar su caracterización mediante HPLC.

### 8.3.1. Caracterización de Aislados de Antocianinas Mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficacia

La estabilidad de las antocianinas está fuertemente relacionada con el grado de acilación y glicosilación, en general aquellas antocianinas que cuenten con mayor grado de sustitución serán más estables.

Debido a esto, es importante evaluar el perfil de antocianinas de las muestras de olote de maíz morado seleccionadas, ya que de encontrarse diferencias notables en el perfil de antocianinas, se preferiría aquella o aquellas que presenten un mayor contenido de antocianinas altamente aciladas.

La pureza de los aislados obtenidos oscila entre el 20 y 40%, la pureza relativamente baja de los aislados se puede deber a la presencia de otros componentes debido a la falta de selectividad de la resina, la cual se solucionaría al realizar un proceso adicional de purificación como puede ser la separación en columna o mediante HPLC preparativo.

Por otro lado, las antocianinas en su forma pura son altamente higroscópicas y tienden a formar complejos, es probable que el principal contribuyente a la baja pureza de los aislados obtenidos corresponda a agua estructural.

Se obtuvieron aislados de cuatro variedades distintas: Atlacomulco, Ixtenco 2, Ocoyoacac y Tlalpan y se obtuvieron los cromatogramas que se presentan a continuación.

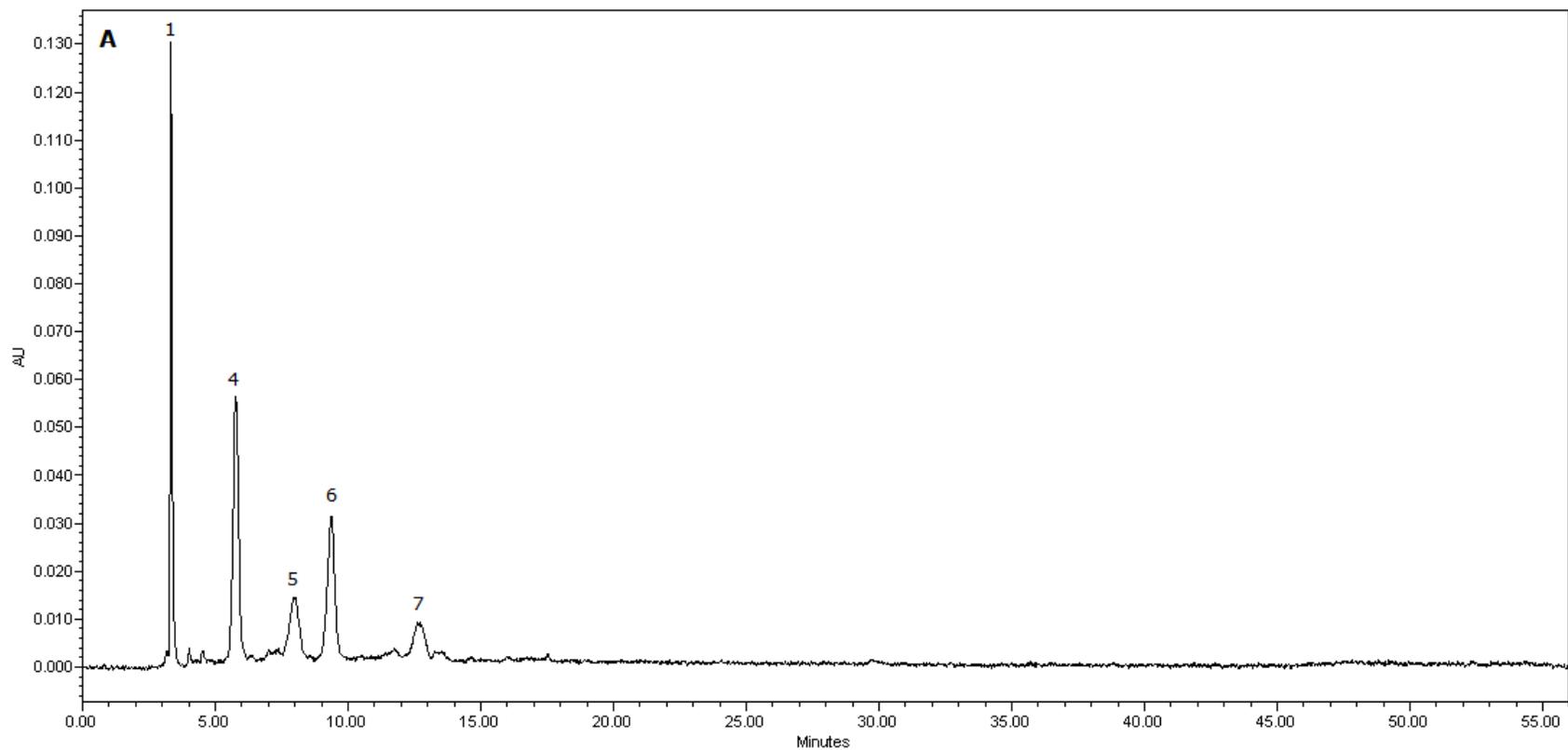


Figura 34. Cromatograma obtenido mediante HPLC de aislado de antocianina de olote de maíz morado variedad Atlacomulco.

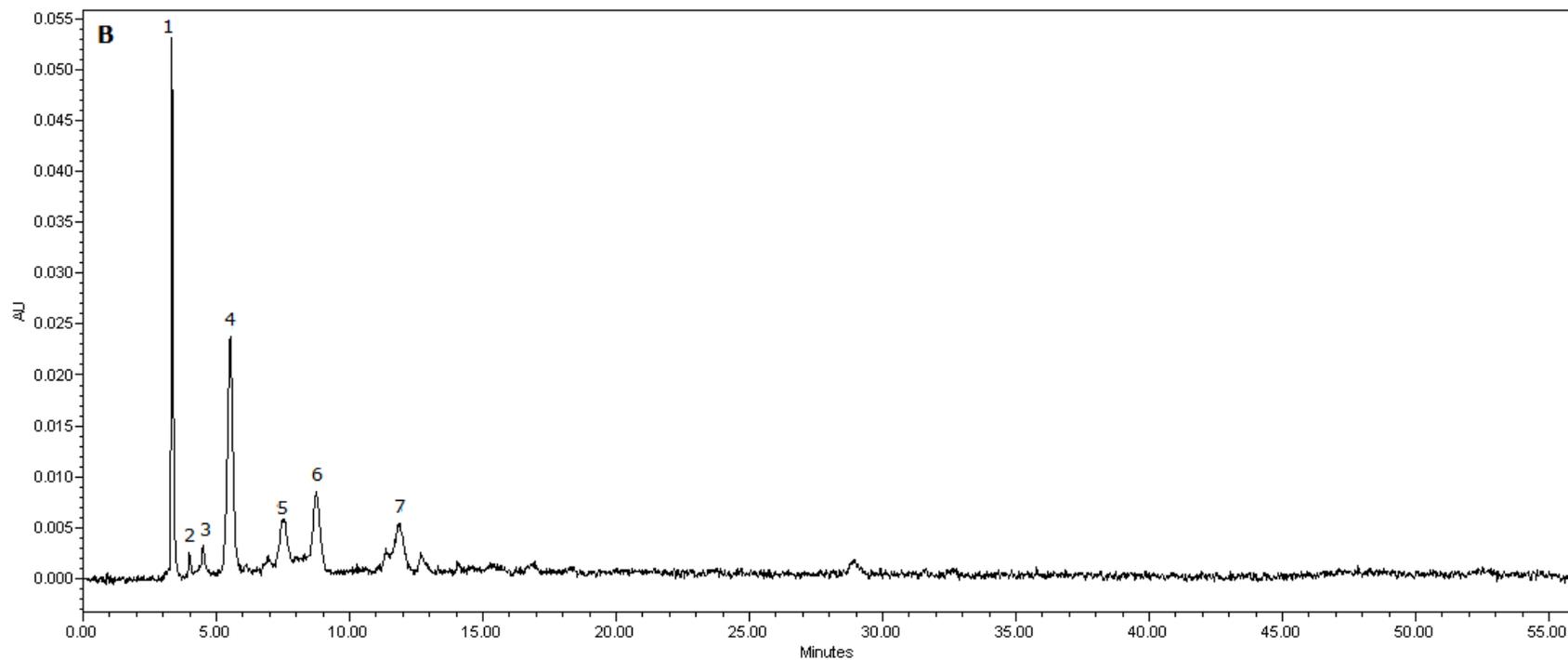


Figura 35. Cromatograma obtenido mediante HPLC de aislado de antocianina de olote de maíz morado variedad Ixtenco 2.

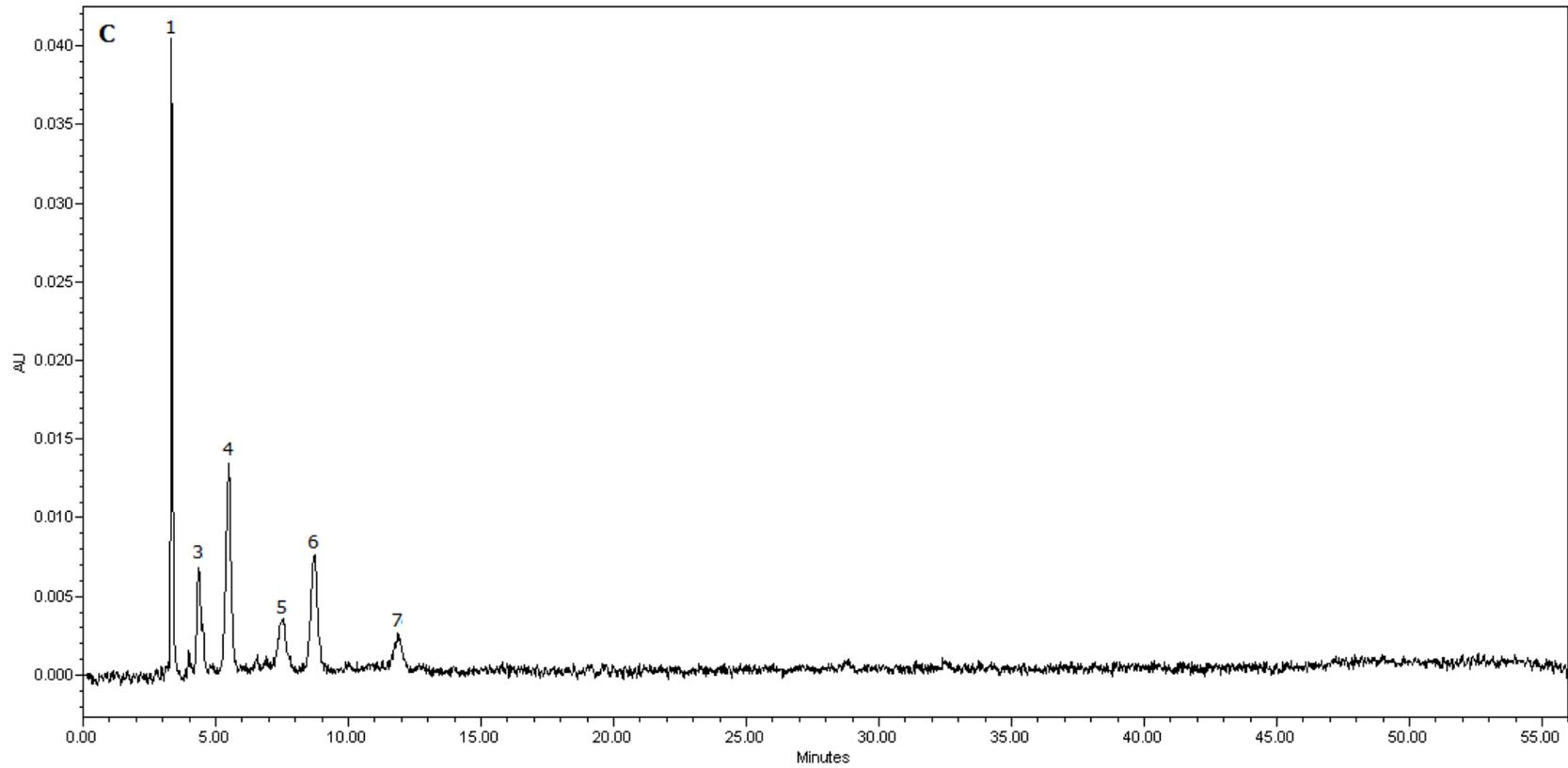


Figura 36. Cromatograma obtenido mediante HPLC de aislado de antocianina de olote de maíz morado variedad Ocoyoacac.

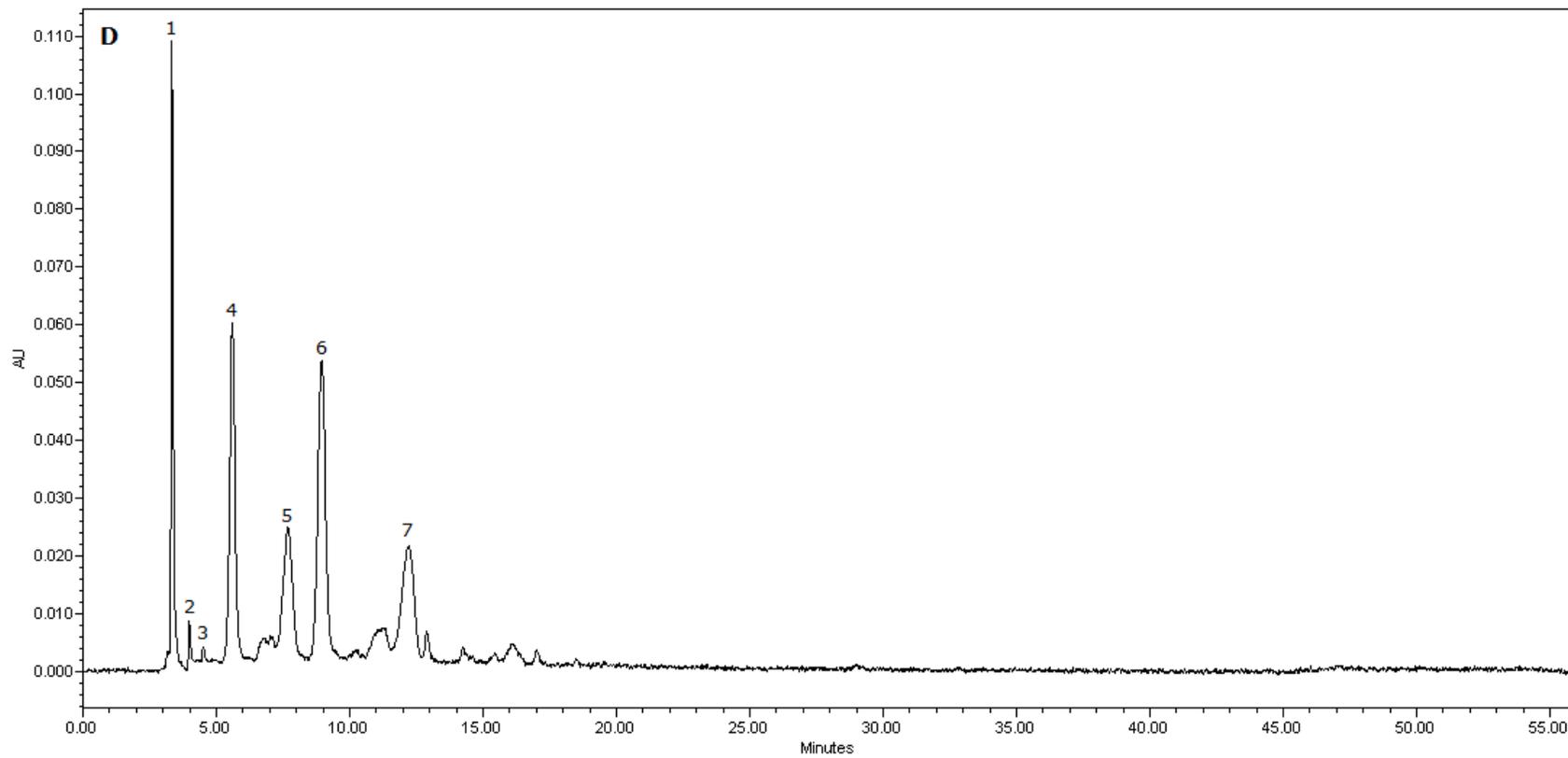


Figura 37. Cromatograma obtenido mediante HPLC de aislado de antocianina de olote de maíz morado variedad Tlalpan.

Tabla 6. Componentes mayoritarios en aislados de antocianinas de olote de maíz morado (Aguilar Hernández *et al*, 2020; Dávila Pérez, 2016; de Pascual Teresa *et al.*, 2002).

Pico	Tiempo de Retención (min)	Componente
1	3.5	Cianidina-3-glucósido
2	4.0	Pelargonidina-3-glucósido
3	4.5	Peonidina-3-glucósido
4	6.0	Cianidina-3(6''-malonil)glucósido
5	7.0	Peonidina-3(6''-malonil)glucósido
6	8.0	Cianidina-3(3'',6''-dimalonil)glucósido
7	12.0	Cianidina-3-succinil-glucósido

El perfil de antocianinas de las cuatro variedades evaluadas es muy similar entre sí, para todas las variedades se encontró que la cianidina-3-glucósido y la cianidina-3(6''-malonil)glucósido son las antocianinas que se encuentran en mayor proporción. Existen pequeñas diferencias entre la intensidad de la señal asociada a ciertas antocianinas entre las distintas variedades. Por ejemplo el pico asociado a la cianidina-3(3'',6''-dimalonil)glucósido es más intenso en la variedad Tlalpan, y se acerca a la señal asociada a la cianidina-3(6''-malonil)glucósido. Mientras, la variedad Ocoyoacac mostró un mayor contenido de peonidina-3-glucósido, siendo la única variedad en la que la señal asociada con esta antocianina fue más intensa que la producida por su contraparte 6''-malonil.

Al no ser posible comparar los resultados obtenidos frente a estándares purificados de antocianinas con los cuales se podría haber realizado una curva patrón, no fue posible cuantificar las distintas antocianinas en cada una de las variedades.

Si bien la absorptividad de las distintas antocianinas difiere y por ende, comparar las absorbancias registradas entre sí no permite hacer afirmaciones precisas; al evaluar los cromatogramas se puede afirmar con cierta seguridad que con excepción de la variedad Tlalpan, la cianidina-3-glucósido conforma la mayor parte de las antocianinas totales detectadas.

Esto difiere con lo reportado por autores quienes evaluaron olotos de maíz morado provenientes del centro de México, Dávila Torres (2016) menciona que la cianidina-3-(6''-malonil)-glucósido es la antocianina mayoritaria en extractos metanólicos de oloote de maíz morado de Ixtenco mientras que Fernández Aulis *et al.* (2017) afirman lo mismo para olotos pigmentados de maíz cacahuacintle de esta misma localidad. Por otro lado, tanto Yang y Zhai (2010) como de Pascual Teresa *et al.* (2002) encontraron que la cianidina-3-glucósido es la antocianina mayoritaria en olotos de maíz morado provenientes de China y Perú respectivamente.

Para fines de aplicación, se prefiere el uso de antocianinas aciladas, ya que éstas resultan en una mayor estabilidad del color. Una mayor proporción de antocianinas aciladas en un extracto de antocianinas resulta en un colorante de mayor estabilidad (de Pascual Teresa *et al.*, 2002).

Sin embargo, ya que no fue posible determinar con certeza las proporciones de las distintas antocianinas en cada una de las variedades; no es posible afirmar con seguridad que el uso de la variedad Tlalpan resultaría en un colorante más estable, asumiendo que la variedad Tlalpan sea aquella con una mayor proporción de antocianinas aciladas.

### 8.3.2. Crioconcentración

Se realizó la crioconcentración de los extractos acuosos con el fin de obtener soluciones con una concentración de antocianinas totales similar a aquellas obtenidas al utilizar una solución metanólica acidificada.

Se consideró una concentración de antocianinas totales igual o superior a los 0.50 mg por mL de licor como un grado de concentración aceptable, ya que una solución acuosa acidificada muestra una coloración rojiza de intensidad media a concentraciones superiores a los 0.04 mg por mL.

En cuanto a los concentrados obtenidos a partir de extractos acuosos, primero se realizó la crioconcentración de un extracto de olote Tlalpan. Para el primer proceso de crioconcentración se evaluó el contenido de compuestos bioactivos en cada una de las fracciones obtenidas, con el fin de obtener el rendimiento del proceso y el radio de crioconcentración.

La eficiencia del proceso de crioconcentrado fue de 43.9%, obteniendo 50 mL de concentrado con un contenido neto de 36.1 mg de antocianinas totales a partir de 500 mL de extracto con un contenido neto de antocianinas de 82.2 mg. Obteniendo así un extracto concentrado de antocianinas con un rendimiento total de proceso de 4.16 mg de antocianinas por gramo de gluma de olote.

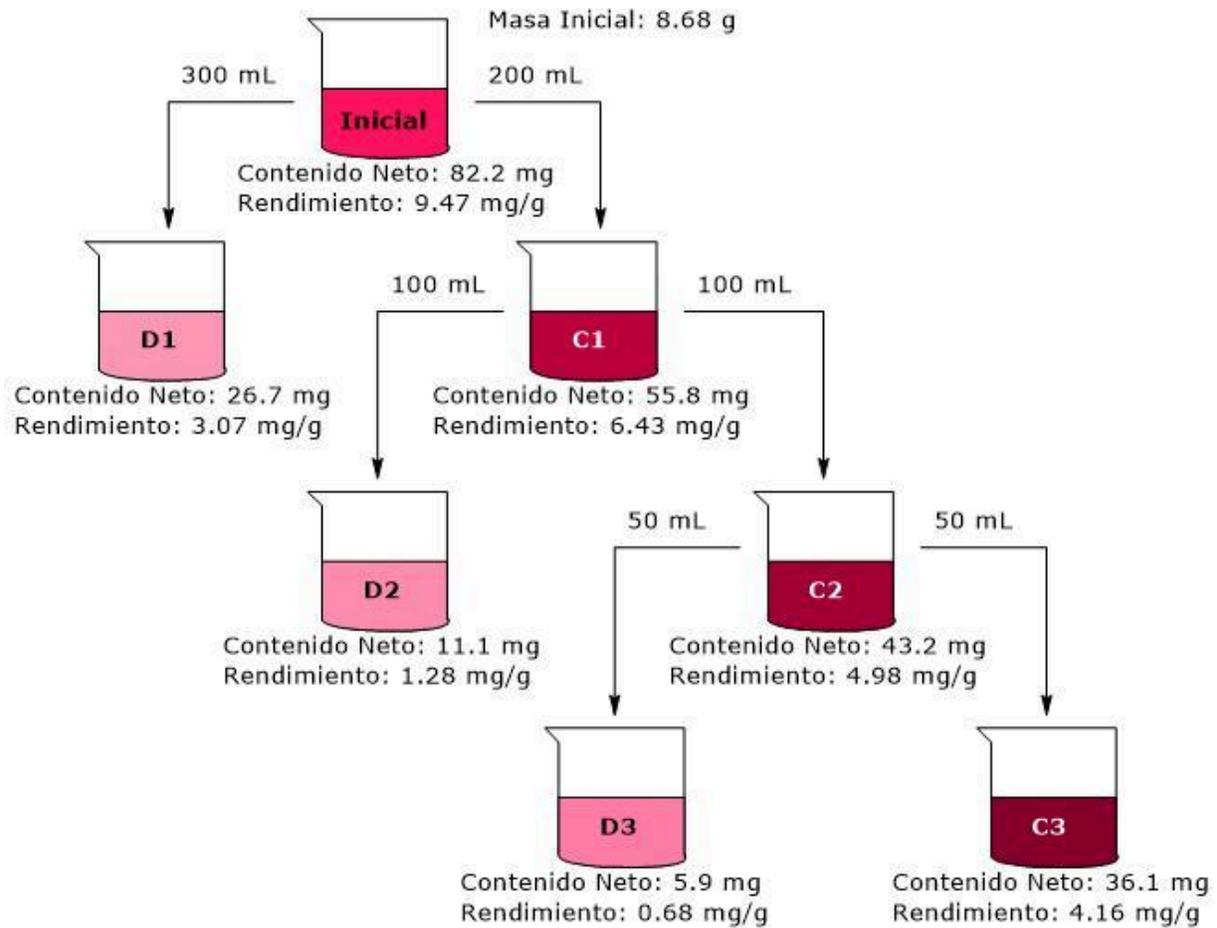
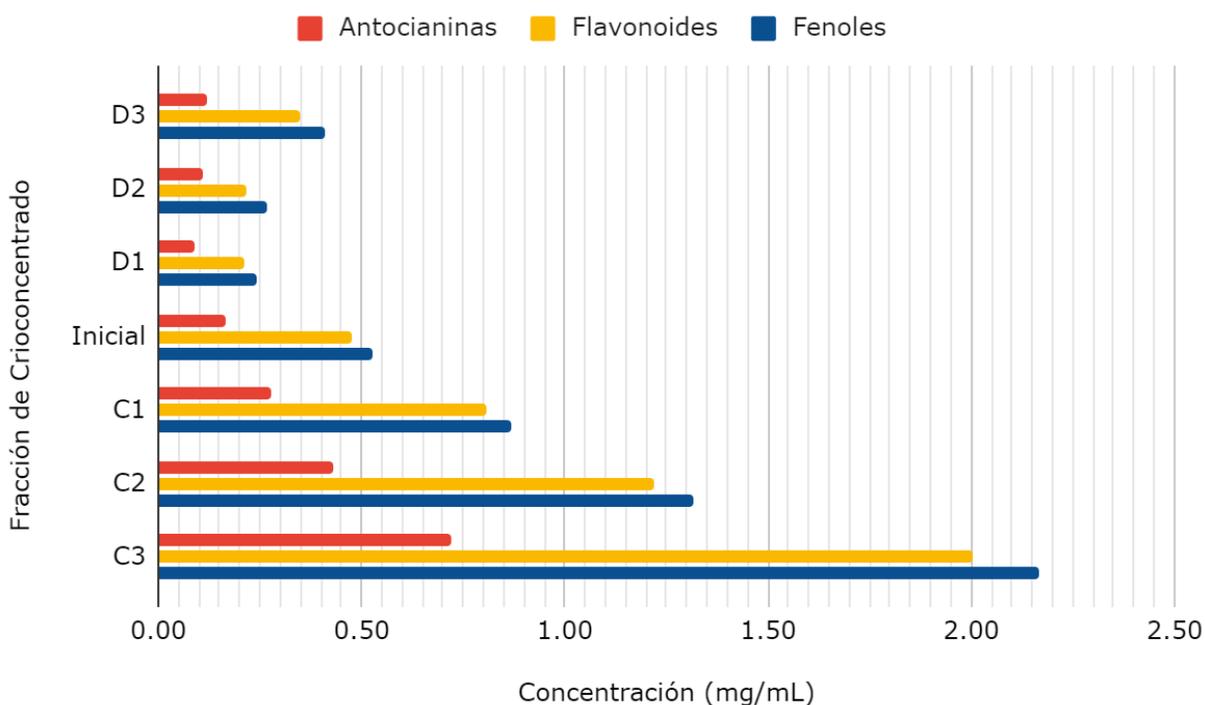


Figura 38. Esquema del proceso de criocentrado del extracto acuoso de antocianinas de olate de maíz morado variedad Tlalpan.

La mayoría de las antocianinas presentes en el extracto inicial se encuentran en las fracciones de hielo. Si bien se recuperaron las antocianinas de cada una de las fracciones de hielo, para fines de este ensayo se utilizó únicamente la fracción de concentrado obtenida tras los tres ciclos de criocentrado.

Tras tres ciclos de criocentración se observó un aumento en la concentración de antocianinas totales de un 339%, obteniendo así un radio de criocentración de 4.39.



Gráfica 5. Contenido de compuestos bioactivos en las distintas fracciones de crioconcentrado. Las fracciones corresponden a la fracción concentrada o licor, o al diluido o hielo; así como del ciclo a partir del cual se obtuvieron.

El radio de crioconcentración es menor que lo reportado en la literatura en procesos de crioconcentración con extractos elaborados con otras fuentes de antocianinas. Por ejemplo, Vidal San Martín *et al.* (2021), quienes elaboraron un concentrado de maqui (*Aristotella chilensis*) mediante la técnica de crioconcentración asistida por centrifugado; reportaron un radio de crioconcentración de 4.8.

Al comparar frente a otros procesos de crioconcentración pasiva, Orellana Palma *et al.* (2017) lograron un aumento en la concentración de antocianinas de un jugo de mora azul de un 370%; mientras que Arbigaus Brenus *et al.* (2023) observaron un aumento de concentración de antocianinas en un extracto de bagazo de uva de un 400%.

La EPC de antocianinas en cada uno de los ciclos fue de 67.9%, 77.4% y 83.6%; es decir la fracción concentrada contenía este porcentaje de antocianinas totales del líquido inicial. Lo observado difiere con respecto a lo observado por Arbigaus Brenus *et al.* (2023), quienes reportan un descenso en la EPC de 88.4% a 73.9% al realizar un tercer ciclo de crioconcentración.

La EPC se ve influenciada principalmente por el contenido de sólidos totales en el extracto los cuales tienden a aumentar al realizar múltiples ciclos de crioconcentración, lo que a su vez causa un descenso en la EPC.

Es posible que la presencia de impurezas en el extracto debido a un proceso de filtrado deficiente resulte en un descenso en el rendimiento del primer proceso de crioconcentración; impurezas que permanecen en la fracción de hielo, ocasionando que el proceso fuera cada vez más eficiente al aplicar los ciclos de crioconcentración subsecuentes.

Considerando el aumento en la EPC se decidió realizar tres ciclos de crioconcentración en los procesos subsecuentes; para elaborar concentrados acuosos de antocianinas de olote de maíz morado.

#### 8.4. Elaboración de Colorante para Alimentos de Antocianinas de Olote de Maíz Morado

Se decidió determinar la acidez titulable de los concentrados elaborados con ácido cítrico ya que el proceso de crioconcentrado podría resultar en un colorante líquido altamente ácido el cual tendría una menor estabilidad y propiedades sensoriales no deseables. Se encontró que después de tres ciclos de extracción los concentrados contaban con 1.5% de acidez titulable y un pH de 2.58.

El concentrado cuenta con una acidez relativamente baja, además la concentración de antocianinas no es lo suficientemente alta como para ser utilizado en pequeñas concentraciones.

Al realizar diluciones del concentrado se encontró que agregar 0.05 a 0.10 mg de antocianinas por mL resulta en una solución de color rojizo o rosado de una intensidad moderada. Se consideró que para obtener una pigmentación intensa sería necesario elaborar un alimento compuesto de 6 a 14% de concentrado de olote de maíz morado, por lo que su uso como aditivo alimentario con este fin no es viable. Por otro lado, se podría usar este concentrado para elaborar ciertos productos nutracéuticos ricos en compuestos bioactivos.

Se utilizaron concentrados de antocianinas de olote de maíz morado para elaborar una serie de encapsulados con el fin de usarlos como colorantes en una potencial aplicación en alimentos. Se usaron mezclas de dextrina y harina integral de amaranto como agentes encapsulantes. La dextrina se utilizó como agente encapsulante con base en lo reportado en diversos estudios incluyendo a Deng *et al.* (2023) en los cuales mencionan que el uso de dextrinas y/o maltodextrinas resulta en encapsulados estables.

La harina de amaranto se utilizó como alternativa a agentes encapsulantes convencionales con el fin de elaborar un colorante en polvo de alto potencial nutracéutico. Se elaboraron encapsulados a partir de mezclas 4:1, 1:1 y 1:4 de dextrina:harina de amaranto, además de un encapsulado de harina de amaranto.



Figura 39. Encapsulados de antocianinas de olote de maíz morado elaborados con distintos agentes encapsulantes. Cada encapsulado se elaboró con cierta cantidad de harina de amaranto, de izquierda a derecha: 100%, 80%, 50% y 20%.

Todos los encapsulados obtenidos mostraron un color intenso y no mostraron ser particularmente higroscópicos, la diferencia principal que se encontró al aumentar la proporción de harina de amaranto en el encapsulado fue una menor dispersabilidad.

La harina de amaranto cuenta con altas cantidades de almidón, pectinas y xiloglucanos; polisacáridos solubles en agua con potencial como agentes encapsulantes. Por otro lado también contiene galactanos los cuales son insolubles en agua (Zhu, 2020).

Si bien se podrían haber analizado distintas propiedades de los encapsulados elaborados como la eficiencia de encapsulamiento o su arreglo estructural mediante microscopía electrónica; los encapsulados se elaboraron con el fin de demostrar una posible aplicación de los extractos de gluma de olote de maíz morado como colorante en alimentos.

Debido a esto, para los fines de este estudio la única propiedad evaluada fue el efecto del agente encapsulante sobre la estabilidad de las antocianinas en solución.

#### 8.4.1. Estabilidad de Encapsulados de Antocianinas

Se evaluó la estabilidad de los encapsulados elaborados con 20% y 100% de harina de amaranto, al igual que del concentrado líquido. Se prepararon diluciones con un contenido teórico de 0.050 mg de antocianinas totales por mL. Las condiciones de temperatura y tiempo se seleccionaron con el fin de simular distintos procesos térmicos bajo los cuales se podría someter un alimento durante su elaboración. Se decidió evaluar condiciones de pH de 3.0, 4.5 y 6.0; las cuales corresponden a un alimento de alta, mediana y baja acidez, respectivamente.

Se observó que ambos encapsulados, al igual que el concentrado líquido, mantuvieron el contenido de antocianinas totales prácticamente constante; con excepción del tratamiento a 80 °C bajo pH de 6.0. Bajo estas condiciones se observó un descenso gradual en la concentración de antocianinas totales, terminando en una degradación del 40% tras 90 minutos de tratamiento en los tres casos.

Esto sugiere que tanto los encapsulados como el concentrado líquido pueden formar parte de alimentos con cierto grado de acidez cuya elaboración requiere de un tratamiento térmico prolongado, por ejemplo productos horneados. Estos alimentos mantendrán su potencial nutracéutico aún en el caso en el que el proceso de elaboración requiere que el colorante sea añadido previo al proceso térmico.

Tabla 7. Estabilidad térmica en encapsulados de antocianinas de olote de maíz morado.

Encapsulado	Temperatura (°C)	pH		
		3.0	4.5	6.0
Dextrina:harina de amaranto 1:4	40	99%	100%	99%
	60	94%	100%	96%
	80	96%	96%	64%
Harina de amaranto	40	94%	100%	100%
	60	100%	98%	97%
	80	98%	100%	60%
Concentrado Líquido	40	99%	100%	100%
	60	100%	100%	100%
	80	99%	95%	60%

La estabilidad de las antocianinas observada fue superior a lo reportado en la literatura para encapsulados de antocianinas. Por ejemplo, Loypimai *et al.* (2016) evaluaron la estabilidad térmica de las antocianinas obtenidas a partir de extractos de arroz negro, en los cuales observaron una vida media de 80 minutos a 80 °C y un pH de 5.

La estabilidad del pigmento no se vió afectada de una manera apreciable después del encapsulamiento; lo cual difiere con lo reportado en la literatura. Por lo general al encapsular un compuesto bioactivo suele aumentar significativamente su estabilidad y su vida de anaquel. Gomes *et al.* (2021) elaboraron encapsulados de antocianinas de fresa, los cuales mostraron una estabilidad del color y una estabilidad térmica superior a las del extracto acuoso.

Además, el amaranto es rico en compuestos fenólicos y flavonoides con capacidad para aumentar la estabilidad de color de las antocianinas, como lo son la rutina, el ácido vanílico, el ácido caféico, entre otros (Popoola, 2022); sin embargo es probable que estos componentes no estén presentes en concentraciones suficientemente altas como para que el uso de amaranto como agente encapsulante aumente la estabilidad del colorante una vez que este se encuentre en solución.

Se considera que la elaboración de encapsulados de antocianinas de olote de maíz morado es de interés si se desea producir colorantes en polvo, más no con el fin de aumentar la estabilidad del pigmento. Se prefiere el uso de encapsulados para la elaboración de alimentos en los cuales el uso de colorantes líquidos no sea una alternativa viable (e.g. frituras).

#### 8.4.2. Aplicación del Colorante en un Producto Alimenticio

Se aplicó el colorante en la jalea de guayaba que formó parte de un postre. Debido a la acidez relativamente alta de este fruto, se esperó observar una coloración intensa al utilizar cantidades relativamente bajas de colorante. Se utilizaron aproximadamente 0.7 g de colorante para elaborar 180 g de jalea de guayaba. La guayaba utilizada fue guayaba blanca, existen variedades de guayaba de color rosa o anaranjado el cual se debe a la presencia de licopeno en la pulpa, un carotenoide de color rojizo.



Figura 40. Postre de guayaba pigmentado con colorante de antocianinas de maíz morado.

Al utilizar este colorante a esta concentración se obtuvo un color rosa-anaranjado similar al que se observa en productos elaborados a partir de las variedades pigmentadas de guayaba. La jalea elaborada contó con un contenido de antocianinas totales teórico de 0.10 mg por gramo.

El contenido de antocianinas es extremadamente bajo comparado con alimentos que contienen el pigmento naturalmente; debido al bajo contenido de compuestos bioactivos no es viable denominar a este producto como un alimento funcional. Sin embargo se podría utilizar el colorante en mayores cantidades o bien, elaborar un encapsulado con una mayor concentración de antocianinas si elaborar un producto nutracéutico fuese el objetivo.

## 9. Conclusiones

Después de evaluar el contenido de compuestos bioactivos en variedades de olotos de maíz morado provenientes del centro de México; se encontró que las variedades Atlacomulco, Ocoyoacac, Tlalpan y Xochimilco son aquellas con un contenido de antocianinas superior.

Se diseñó una metodología de extracción asistida por ultrasonido de alta potencia con la cual se elaboraron una serie de extractos acuosos de una manera eficiente. Se evaluó el perfil de antocianinas de cuatro variedades distintas, identificando a la cianidina-3-glucósido y a la cianidina-3(6''-malonil)glucósido como los componentes mayoritarios en todas las variedades, así como otras antocianinas como la peonidina-3-glucósido, la pelargonidina-3-glucósido y la cianidina-3(3'',6''-dimalonil)glucósido en menores proporciones.

A partir de los extractos elaborados se prepararon una serie de concentrados de antocianinas de olate de maíz morado y a su vez, un colorante de antocianinas de olate de maíz morado en polvo. El colorante en polvo elaborado mostró una estabilidad térmica aceptable, al demostrar una resistencia completa a la degradación después de aplicar tratamientos térmicos moderados. El colorante se aplicó en la formulación de un alimento, obteniendo una pigmentación adecuada al usarse en una proporción de 3.88 g de colorante por kg de producto.

De esta manera, se aplicó la tecnología de extracción asistida por ultrasonido para obtener un extracto de antocianinas de olate de maíz morado proveniente del centro de México y se presentó una aplicación del extracto obtenido como colorante en un producto alimenticio.

## 10. Referencias

1. Acosta Estrada, B. A; Gutiérrez Uribe, J. A; Serna Saldívar, S. O. (2019). Minor constituents and phytochemicals of the kernel. **En:** *Corn - Chemistry and Technology*, Elsevier, 369-403
2. Aguilar Hernández, A. D; Salinas Moreno, Y; Ramírez Díaz, J. L; Alemán de la Torre, I; Bautista Ramírez, E; Flores López, H. E. (2019). Anthocyanins and color in grain and cob of peruvian purple corn grown in Jalisco, Mexico. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(5), 1071-1082. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i5.1828>
3. Aider, M; de Halleux, D. (2008). Passive and microwave-assisted thawing in Maple Sap cryoconcentration technology. *Journal of Food Engineering*, 85(1), 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.07.025>
4. Albergamo, A; Costa, R; Bartolomeo, G; Rando, R; Vadalà, R; Nava, V; Gervasi, T; Toscano, G; Germanò, M. P; D'Angelo, V; Ditta, F; Dugo, G. (2020), Grape water: reclaim and valorization of a by-product from the industrial cryoconcentration of grape (*Vitis vinifera*) must. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100: 2971-29 81. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1002/jsfa.10326>
5. Arbigaus Bredun, M; Alves Prestes, A; Pretto Panceri, C; Schwinden Prudêncio, E; Maria Burin, V. (2023), Bioactive compounds recovery by freeze concentration process from winemaking by-product. *Food Research International*, 173(1), 113220. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113220>
6. Azmir, J; Zaidul, I. S. M; Rahman, M. M; Sharif, K. M; Mohamed, A; Sahena, F; Jahurul, M. H. A; Ghafoor, K; Norulaini, N. A. N; Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from

- plant materials: A Review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
7. Banerjee, J; Singh, R; Vijayaraghavan R; MacFarlane, D; Patti, A. F; Arora, A. (2017). Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals, *Food Chemistry*. 225, 10-22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.093>
  8. Barba, F. J; Rajha, H. N; Debs, E; Abi-Khattar, A. M; Khabbaz, S; Dar, B. N; Simirgiotis, M. J; Castagnini, J. M; Maroun, R. G; Louka, N. (2022). Optimization of polyphenols' recovery from purple corn cobs assisted by infrared technology and use of extracted anthocyanins as a natural colorant in pickled turnip. *Molecules*, 27(16):5222. <https://doi.org/10.3390/molecules27165222>
  9. Bastías Montes J. M; Vidal San Martín C; Tamarit Pino Y; Muñoz Fariña O; García Figueroa O; Quevedo León R; Wei Z, J; Lv X; Céspedes Acuña C. L. (2022) Cryoconcentration by centrifugation–filtration: a simultaneous, efficient and innovative method to increase thermosensitive bioactive compounds of aqueous maqui (*Aristotelia chilensis* (mol.) Stuntz) extract. *Processes*, 10(1):25. <https://doi.org/10.3390/pr10010025>
  10. Ccaccya, A. M; Soberón Lozano, M; Arnao Salas, I. (2018). Estudio comparativo del contenido de compuestos bioactivos y cianidina-3-glucósido del maíz morado (*Zea mays* L.) de tres regiones del Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(2), 206–215. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v85i2.78>
  11. Christica, I. S; Muchlisyam, Julia R. (2018). Activated carbon utilization from corn cob (*Zea mays*) as a heavy metal adsorbent in industrial waste. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 6(5):01-04 <http://dx.doi.org/10.22270/ajprd.v6i5.411>

12. CONABIO. (2020). Razas de maíz de México | biodiversidad mexicana. Razas de maíz de México. Obtenido Abril 23, 2023, de <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/alimentos/maices/razas-de-maiz>
13. Dávila Pérez, D. T. (2016). Cuantificación y análisis de compuestos bioactivos presentes en el maíz morado nativo de Tehuacán en tres estados de crecimiento. UNAM.
14. Deng W; Li X; Ren G; Bu Q; Ruan Y; Feng Y; Li B. (2023). Stability of Purple Corn Anthocyanin Encapsulated by Maltodextrin, and Its Combinations with Gum Arabic and Whey Protein Isolate. *Foods*. 12(12):2393. <https://doi.org/10.3390/foods12122393>
15. Diaconeasa, Z; Știrbu, I; Xiao, J; Leopold, N; Ayvaz, Z; Danciu, C; Ayvaz, H; Stănilă, A; Nistor, M; Socaciu, C. (2020). Anthocyanins, vibrant color pigments, and their role in skin cancer prevention. *Biomedicines*, 8(9), 336. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8090336>
16. Díaz García, A; Salvá Ruíz, B; Bautista Cruz, N; Condezo Hoyos, L. (2021). Optimization of a natural low-calorie antioxidant tea prepared from purple corn (*Zea mays* L.) cobs and stevia (*Stevia rebaudiana* bert.). *LWT*, 150, 111952. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111952>
17. Enaru, B; Drețcanu, G; Pop, T. D; Stănilă, A; Diaconeasa, Z. (2021). Anthocyanins: factors affecting their stability and degradation. *Antioxidants*, 10(12), 1967. <https://doi.org/10.3390/antiox10121967>
18. FAO, (1993). *El maíz en la Nutrición Humana*. FAO.
19. Fernández Aulis, M. F. (2014). *Identificación y cuantificación de antocianinas aciladas de plantas endémicas de México (maíces y salvias)*. UNAM.
20. Fernandez Aulis, M. F; Hernández Vázquez, L; Aguilar Osorio, G; Arrieta Baez, D; Navarro Ocaña, A. (2019). Extraction and

identification of anthocyanins in corn cob and corn husk from cacahuacintle maize. *Journal of Food Science*, 84(5), 954–962.

<https://doi.org/10.1111/1750-3841.14589>

21. Finlayson, B. L. (2014). Climate and rivers. **En:** *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*. Elsevier.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.09438-0>
22. Fleschhut, J; Kratzer, F; Rechkemmer, G; Kulling, S. E. (2006). Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. *European Journal of Nutrition*, 45(1), 7–18.  
<https://doi.org/10.1007/s00394-005-0557-8>
23. Fotsing Y. S. F; Kezetas J. J. B; El-Saber B. G; Ali, I; & Ndjakou B. L. (2022). Extraction of bioactive compounds from medicinal plants and herbs. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.98602>
24. García, H. (2004). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. UNAM - Instituto de Geología
25. García Lara, S; Serna Saldívar, S. O. (2019). Corn history and culture. **En:** *Corn - Chemistry and Technology*, Elsevier, 1-18
26. Giusti, M. M; y Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1).  
<https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
27. Gobierno de México. (2020). México importó casi 16 millones de toneladas de maíz amarillo. Obtenido Mayo 4, 2023, de <https://www.gob.mx/agricultura/colima/articulos/mexico-importo-casi-16-millones-de-toneladas-de-maiz-amarillo>
28. Gomes, J; Serrano, C; Oliveira, C; Dias, A; Moldão, M. (2021). Thermal and light stability of anthocyanins from strawberry by-products non-encapsulated and encapsulated with inulin. *Acta*

- scientiarum polonorum. Technologia alimentaria*, 20(1), 79–92.  
<https://doi.org/10.17306/J.AFS.0878>
29. González Camacho, B. A. (2022) *Contenido y perfil de compuestos bioactivos de los órganos de la planta de los maíces coloridos*. UNAM.
30. González Paramás, A. M; Lopes da Silva, F; Martín López, P; Macz Pop, G; González Manzano, S; Alcalde Eon, C; Pérez Alonso, J. J; Escribano Bailón, M. T; Rivas Gonzalo, J. C. Santos Buelga, C. (2006). Flavanol-anthocyanin condensed pigments in plant extracts. *Food Chemistry*. 94, 428-436.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.037>
31. Grumezescu, A. M; Holban, A. M; Morata, A; López, C; Tesfaye, W; González, C; Escott, C. (2019). Anthocyanins as natural pigments in beverages. **En:** *Value-added ingredients and enrichments of beverages*, Woodhead Publishing. 383–428
32. Guillén Sánchez, J. S; Betim Cazarin, C. B; Canesin, M. R; Reyes, F. G. R; Iglesias, A. H; Cristianini, M. (2023). Extraction of bioactive compounds from Peruvian purple corn cob by high isostatic pressure. *Scientia Agropecuaria*, 14(1), 49-57.
33. Gwartz, J. A; & Garcia-Casal, M. N. (2014). Processing maize flour and corn meal food products. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1312(1), 66–75. <https://doi.org/10.1111/nyas.12299>
34. INEGI, s.f. Cuéntame de México - Información por Entidad.  
<https://cuentame.inegi.org.mx/monografias/default.aspx?tema=me>
35. INEGI (2021) *Anuario estadístico y geográfico de México. Aspectos Geográficos - Ciudad de México*.  
[https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen\\_09.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen_09.pdf)
36. INEGI (2021) *Anuario estadístico y geográfico de México. Aspectos Geográficos - Hidalgo*.

[https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen\\_13.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen_13.pdf)

37. INEGI (2021) *Anuario estadístico y geográfico de México. Aspectos Geográficos - México.*

[https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen\\_15.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen_15.pdf)

38. INEGI (2021) *Anuario estadístico y geográfico de México. Aspectos Geográficos - Puebla.*

[https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen\\_21.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen_21.pdf)

39. INEGI (2021) *Anuario estadístico y geográfico de México. Aspectos Geográficos - Tlaxcala.*

[https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen\\_29.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen_29.pdf)

40. Jackman, R. L; Smith, J. L. (1996). Anthocyanins and betalains. **En:** *Natural Food Colorants*. Springer, 244-296

[https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2155-6\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2155-6_8)

41. Jenkins, B. M. (2014). Encyclopedia of agriculture and food systems. **En:** *Global Agriculture: Industrial Feedstocks for Energy and Materials*. Elsevier. 461–498.

42. Jokioja, J; Yang, B; Linderborg, K. M. (2021). Acylated anthocyanins: A review on their bioavailability and effects on postprandial carbohydrate metabolism and inflammation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(6), 5570–5615. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12836>

43. Khairani, A. F; Setiawan, C. J; Shanty, N; Lesmana, R; Achadiyani, A; Atik, N; Ariyanto, E. K; Sudigdoadi, S. (2020). Molecular mechanisms of anthocyanins as a potential nutraceutical for muscle regeneration. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(8), 189–202.

44. Khoo, H. E; Azlan, A; Tang, S. T; Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research*, 61(1), 1361779.  
<https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
45. Köger-Knabner, I; Amelung, W. (2014) Dynamics, chemistry, and preservation of organic matter in soils. **En: *Treatise of Geochemistry***. Elsevier
46. Kumar, K; Srivastav, S; Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 70, 105325.  
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>
47. Kurek M; Benaida-Debbache N; Elez Garofulić I; Galić K; Avallone S; Voilley A; Waché Y; (2022). Antioxidants and bioactive compounds in food: Critical review of issues and prospects. *Antioxidants*. 11(4):742. <https://doi.org/10.3390/antiox11040742>
48. Lao, F; Giusti, M. (2018) Extraction of purple corn (*Zea mays* L.) cob pigments and phenolic compounds using food-friendly solvents. *Journal of Cereal Sciences*, 80, 87-93.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.01.001>
49. Lemes, A. C; Egea, M. B; Oliveira Filho, J. G; Gautério, G. V; Ribeiro, B. D; Coelho, M. A. (2022). Biological approaches for extraction of bioactive compounds from agro-industrial by-products: A Review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9.  
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.802543>
50. Liao, J; Xue, H; & Li, J. (2022). Extraction of phenolics and anthocyanins from purple eggplant peels by multi-frequency ultrasound: Effects of different extraction factors and optimization

using uniform design. *Ultrasonics Sonochemistry*, 90, 106174.

<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106174>

51. Loarca Piña, G; Neri, M; Figueroa, J. D., Castaño Tostado, E; Ramos Gómez, M; Reynoso, R; & Mendoza, S. (2019). Chemical characterization, antioxidant and antimutagenic evaluations of pigmented corn. *Journal of Food Science and Technology*, 56(7), 3177–3184. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03671-3>
52. Loypimai, P; Moongngarm, A; Chottanom, P. (2016). Thermal and pH degradation kinetics of anthocyanins in natural food colorant prepared from black rice bran. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 461–470.  
<https://doi.org/10.1007/s13197-015-2002-1>
53. Lozano Martínez, E. S; Belden Fernández, F. J. (2019). Economics of production, marketing and utilization. **En:** *Corn - Chemistry and Technology*, Elsevier, 87- 105
54. Mane, S; Bremner, D. H; Tziboula-Clarke, A; Lemos, M. A. (2015). Effect of ultrasound on the extraction of total anthocyanins from Purple Majesty potato. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 509–514.  
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.021>
55. Medina Torres N; Ayora Talavera T; Espinosa Andrews H; Sánchez Contreras A; Pacheco N. (2017) Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*. 7(3):47. <https://doi.org/10.3390/agronomy7030047>
56. Miah, M. A; Hossain, T; Matin, M; Hossain, S; Moniruzzaman, Kumar, R. (2013). Assessments of the maize situation, outlook and investment opportunities to ensure food security in Bangladesh.  
<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.16790.14404>.
57. Mohite, A. S; Jagtap, A. R; Ahvad, M. S; More, A. P. (2022), Recycling of major agriculture crop residues and its application in

polymer industry: A review in the context of waste to energy nexus, *Energy Nexus*, 7, 100134.

<https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100134>

58. Mongkholrattanasit, R; Klaichoi, C; Tomkom, T; Sasivatchutikool, N; Laoong-u-thai, Y; Rungruangkitkrai, N. (2014). Study on colour activity of silk fabric dyed with purple corn cob: a research on effect of metal mordants concentration using post-mordanting method. *Advanced Materials Research*. 1010-1012. 516-519.  
<https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1010-1012.516>
59. Monroy, Y. M; Rodrigues, R. A. F; Sartoratto, A; Cabral, F. A. (2016). Extraction of bioactive compounds from cob and pericarp of Purple Corn (*Zea mays* L.) by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical co<sub>2</sub>, ethanol, and water as solvents. *The Journal of Supercritical Fluids*, 107, 250–259.  
<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.09.020>
60. Monroy, Y. M; Rodrigues, R. A. F; Sartoratto, A; Cabral, F. A. (2016). Influence of ethanol, water, and their mixtures as co-solvents of the supercritical carbon dioxide in the extraction of phenolics from purple corn cob (*Zea mays* L.). *The Journal of Supercritical Fluids*, 118, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.07.019>
61. Morata, A; López, C; Tesfaye, W; González, C; Escott, C. (2019). Anthocyanins as natural pigments in beverages. **En: Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages**, Academic Press, 383-419  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816687-1.00012-6>
62. Navarro, A; Torres, A; Fernández-Aulis, F; Peña, C. (2018). Bioactive compounds in pigmented maize. *IntechOpen*.  
<https://doi.org/10.5772/intechopen.78340>
63. Orellana Palma, P; Petzold, G; Guerra Valle, M; Astudillo Lagos, M. (2017), Impact of block cryoconcentration on polyphenol retention in

- blueberry juice. *Food Bioscience*, 20, 149-158.  
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.10.006>
64. Paliwal, R. L. (2001), *El Maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción*, FAO. <https://www.fao.org/3/x7650s/x7650s00.htm>
65. de Pascual Teresa, S; Santos Buelga, C; Rivas Gonzalo, J. C. (2002). LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(9), 1003–1006.  
<https://doi.org/10.1002/jsfa.1143>
66. Patel, R; Dhar, P; Babaei-Ghazvini, A; Nikkhah Dafchahi, M; Acharya, B. (2023). Transforming lignin into renewable fuels, chemicals, and materials: A review. *Bioresource Technology Reports*, 22, 101463. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101463>
67. Patel, S; Shukla, S. (2017). Chapter 30 - Fermentation of Food Wastes for Generation of Nutraceuticals and Supplements. **En:** *Fermented foods in health and disease prevention*. Academic Press. 707–734
68. Patra, A; Abdullah, S; Pradhan, R. C. (2022) Review on the extraction of bioactive compounds and characterization of fruit industry by-products. *Bioresour. Bioprocess*, 9, 14.  
<https://doi.org/10.1186/s40643-022-00498-3>
69. Patras, A; Brunton, N. P; O'Donnell, C; Tiwari, B. K. (2010), Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation, *Trends in Food Science & Technology*, 21(1), 3-11 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.07.004>
70. Pennington, D. (2020). Chapter 7 - Bioenergy crops. **En:** *Bioenergy: Biomass to Biofuels and Waste to Energy*. Elsevier. 133–155
71. Pratyusha, S. (2022). Phenolic compounds in the plant development and defense: An overview. *IntechOpen*.  
<https://doi.org/10.5772/intechopen.102873>

72. Piasecka I; Wiktor A; Górska A. (2022) Alternative methods of bioactive compounds and oils extraction from berry fruit by-products – a review. *Applied Sciences*, 12(3):1734.  
<https://doi.org/10.3390/app12031734>
73. Picó, Yolanda (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 43(), 84–99.  
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.005>
74. Popoola, O. O. (2022). Phenolic compounds composition and in vitro antioxidant activity of Nigerian *Amaranthus viridis* seed as affected by autoclaving and germination. *Measurement: Food*, 6, 100028.  
<https://doi.org/10.1016/j.meafoo.2022.100028>
75. Prestes, A. A; Helm, C. V; Esmerino, E. A; Silva, R; da Cruz, A. G; Prudencio, E. S. (2022). Freeze concentration techniques as alternative methods to thermal processing in dairy manufacturing: A review. *Journal of Food Sciences*. 87, 488 – 502.  
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.16027>
76. Paulsmeyer, M. N; Vermillion, K. E; Juvik, J. A. (2022). Assessing the diversity of anthocyanin composition in various tissues of purple corn (*Zea mays* L.). *Phytochemistry*, 201, 113263.  
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113263>
77. Rabanal Atalaya, M; Medina Hoyos, A. (2021). Análisis de Antocianinas en el maíz morado (*Zea mays* L.) del Perú y sus propiedades antioxidantes. *Terra Latinoamericana*, 39.  
<https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.808>
78. Rahman, M. S; H. Mondal, M. I; Yeasmin, M. S; Sayeed, M. A; Hossain, M. A; Ahmed, M. B. (2020) Conversion of lignocellulosic corn agro-waste into cellulose derivative and its potential application as pharmaceutical excipient. *Processes*, 8, 711.  
<https://doi.org/10.3390/pr8060711>

79. Ranum, P; Peña Rosas, J. P; Garcia Casal, M. N. (2014), Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1312: 105-112.  
<https://doi.org/10.1111/nyas.12396>
80. Risco Mendoza, M. (2007). Conociendo la cadena productiva del maíz morado en *Ayacucho*. Solid Perú.
81. de la Rosa, L. A; Moreno-Escamilla, J. O; Rodrigo-García, J; Alvarez-Parrilla, E. (2019) Chapter 12 - Phenolic compounds. **En:** *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*, Woodhead Publishing, 253-271
82. Ruan, Z; Wang, X; Liu, Y; Liao, W. (2019), Chapter 3 - Corn. **En:** *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products*. Academic Press, 59-72  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814138-0.00003-4>
83. Salvador Reyes, R; & Clerici, M. T. P. S. (2020). Peruvian Andean maize: General characteristics, nutritional properties, bioactive compounds, and culinary uses. *Food Research International*. 130, 108934. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108934>
84. Sánchez Ortega, I. (2014) Maíz I (Zea mays). *Reduca (Biología)*. *Serie Botánica*. 7 (2). 151-171  
<https://eprints.ucm.es/id/eprint/27974/1/MAIZ%20I.pdf>
85. Santos, T. R. J; Santana, L. C. L. A. (2022). Conventional and emerging techniques for extraction of bioactive compounds from fruit waste. *Brazilian Journal of Food Technology*, 25, e2021130.  
<https://doi.org/10.1590/1981-6723.13021>
86. Sasidharan, S; Chen, Y; Saravanan, D; Sundram, K. M; Yoga Latha, L. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 8(1), 1-10.

87. SEMARNAT (2002) Informe de la situación del medio ambiente en México - suelos.  
[https://paot.org.mx/centro/ine-semarnat/informe02/estadisticas\\_2000/informe\\_2000/img/cap3.pdf](https://paot.org.mx/centro/ine-semarnat/informe02/estadisticas_2000/informe_2000/img/cap3.pdf)
88. Siyuan, S; Tong, L; Liu, R. H. (2018). Corn phytochemicals and their health benefits. *Food Science and Human Wellness*, 7(3), 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.09.003>
89. Sharma, R. J; Gupta, R. C; Singh, S; Bansal, A. K; & Singh, I. P. (2016). Stability of anthocyanins- and anthocyanidins-enriched extracts, and formulations of fruit pulp of *Eugenia jambolana* ('jamun'). *Food chemistry*, 190, 808–817.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.>
90. Sinopoli, A; Calogero, G; & Bartolotta, A. (2019). Computational aspects of anthocyanidins and anthocyanins: A review. *Food chemistry*, 297, 124898.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.172>
91. Stănilă, A; Daria Pop, T; & Maria Diaconeasa, Z. (2023). Purple corn cob: Rich source of anthocyanins with potential application in the food industry. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.107258>
92. Suriano, S; Balconi, C; Valoti, P; Redaelli, R. (2021). Comparison of total polyphenols, profile anthocyanins, color analysis, carotenoids and tocots in pigmented maize. *LWT*, 144, 111257.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111257>
93. Surra, E; Ribeiro, R. P. P. L; Santos, T; Bernardo, M; Mota, J. P. B; Lapa, N; Esteves, I. A. A. C. (2022). Evaluation of activated carbons produced from maize cob waste for adsorption-based CO<sub>2</sub> separation and biogas upgrading. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(1), 107065. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.107065>

94. Takada, M; Niu, R; Minami, E; Saka, S. (2018). Characterization of three tissue fractions in corn (*Zea mays*) cob. *Biomass and Bioenergy*, 115, 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.04.023>
95. Torre, P; Aliakbarian, B; Rivas, B; Domínguez, J. M; Converti, A. (2008). Release of ferulic acid from corn cobs by alkaline hydrolysis. *Biochemical Engineering Journal*, 40(3), 500–506. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.02.005>
96. Torres Alcalá, A. (2021). *Caracterización de las oxidasas presentes en la planta Ipomoea batatas L. Lam variedad morada y su efecto sobre el perfil de sus metabolitos secundarios*. UNAM.
97. Trouillas, P; Sancho-García, J. C; De Freitas, V; Gierschner, J; Otyepka, M; Dangles, O. (2016). Stabilizing and modulating color by copigmentation: insights from theory and experiment. *Chemical reviews*, 116(9), 4937–4982. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00507>
98. Vidal San Martín, C; Bastías Montes, J. M; Villagra Jorquera, C; Salinas Huenchulao, G; Flores Ríos, A; Gonzáles Díaz, N; Tamarit Pino, Y; Muñoz Fariña, O; Quevedo León, R. (2021). Effect of cryoconcentration assisted by centrifugation-filtration on bioactive compounds and microbiological quality of aqueous maqui (*Aristotelia chilensis* (mol.) Stuntz) and calafate (*Berberis microphylla* G. Forst) extracts pretreated with high-pressure homogenization. *Processes*, 9(4), 692. <https://doi.org/10.3390/pr9040692>
99. Vidal Zepeda, R. (2005). *Regiones climáticas de México*, UNAM - Instituto de Geografía
100. Wallace T. C; Giusti M. M. (2019) Anthocyanins — nature’s bold, beautiful, and health-promoting colors. *Foods*, 8(11), 550. <https://doi.org/10.3390/foods8110550>

101. Wen, L; Álvarez, C; Zhang, Z; Poojary, M; Lund, M; Sun, D, W; Tiwari, B. (2021). Optimisation and characterisation of protein extraction from coffee silverskin assisted by ultrasound or microwave techniques. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00712-2>
102. Yang, Z; Fan, G; Gu, Z; Han, Y; Chen, Z. (2008). Optimization extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob using tristimulus colorimetry. *European Food Research and Technology*, 227, 409–415. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0735-4>
103. Yang, Z; Zhai, W. (2010). Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 169–176. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.08.012>
104. Zahari N. A. A. R; Chong G. H; Abdullah L. C; Chua B. L. (2020). Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) Process on thymol concentration from *Plectranthus amboinicus* leaves: Kinetic modeling and optimization. *Processes*. 8(3):322. <https://doi.org/10.3390/pr8030322>
105. Zhang, L; Xi, G; Yu, K; Yu, H; Wang, X. (2017). Furfural production from biomass-derived carbohydrates and lignocellulosic residues via heterogeneous acid catalysts. *Industrial Crops and Products*, 98, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.014>
106. Zhang, X. X; Zhao, D. S; Wang, J; Zhou, H; Wang, L; Mao, J. L; He, J. X. (2021). *The treatment of cardiovascular diseases: A review of ferulic acid and its derivatives*. *Die Pharmazie*, 76(2), 55–60. <https://doi.org/10.1691/ph.2021.0958>
107. Zhao, S; Blum, J. A; Ma, F; Wang, Y; Borejsza Wysocka E; Ma, F; Cheng, L; Li, P. (2022) Anthocyanin accumulation provides protection against high light stress while reducing photosynthesis in apple leaves.

*International Journal of Molecular Sciences*. 23(20):12616.  
<https://doi.org/10.3390/ijms232012616>

108. Žilić, S; Janković, M; Basić, Z; Vančetović, J; Maksimović, V. (2016). Antioxidant activity, phenolic profile, chlorophyll and mineral matter content of corn silk (*Zea mays* L): Comparison with medicinal herbs. *Journal of Cereal Science*, 69, 363–370.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.05.003>