



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS

**ANTOCIANINAS EN MAÍZ AZUL, EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA
ADICIÓN DE CAL Y CALOR A UNA ANTOCIANINA, LA
PELARGONIDINA**

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

P R E S E N T A

KAREN PAMELA GONZÁLEZ CRUZ



MÉXICO, D.F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: DR. Pedro Valle Vega

VOCAL: Dra. en Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

SECRETARIO: M. en A.I. Landy Irene Ramírez Burgos

1er. SUPLENTE: Q.A. Verónica Hernández Briones

2° SUPLENTE: M. en C. Rolando Salvador García Gómez

**LABORATORIOS E-301, 302 Y 303. INGENIERÍA QUÍMICA AMBIENTAL Y
QUÍMICA AMBIENTAL, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**

ASESOR DEL TEMA:

Dra. en Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

SUPERVISOR TÉCNICO:

M. en C. Rolando Salvador García Gómez

SUSTENTANTE:

Karen Pamela González Cruz

ÍNDICE

	Página
Resumen	
CAPÍTULO 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.1 Introducción	1
1.2 Objetivos	2
1.3 Hipótesis	2
CAPÍTULO 2 ANTECEDENTES	3
2.1 El maíz	3
2.1.1 Origen del maíz	4
2.1.2 Estructura del grano de maíz	5
2.1.3 Tipos de maíz	5
2.1.4 Valores de producción de maíz amarillo, blanco y azul	6
2.1.5 Comparación nutricional de maíz amarillo, blanco y azul	8
2.2 Las tortillas	9
2.2.1 La nixtamalización	11
2.2.2 La tortilla elaborada con maíces pigmentados	12
2.3 Las antocianinas	13
2.3.1 Efectos biológicos de las antocianinas	14
2.3.2 Efecto del pH	16
2.3.3 Efecto de la temperatura	16

2.3.4 Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas	17
2.4 Digestión	18
2.4.1 Aparato digestivo	18
2.4.2 Digestión <i>in vitro</i>	20
2.4.3 Digestión de antocianinas	21
2.5 Extracción y cuantificación de las antocianinas	22
2.5.1 Cinética de degradación de las antocianinas en alimentos	23
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA	24
3.1 Acondicionamiento del grano	25
3.2 Diseño experimental	25
3.3 Proceso de nixtamalización	26
3.4 Digestión	26
3.5 Extracción antocianinas	27
3.6 Cuantificación antocianinas	27
3.7 Análisis estadístico	28
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
4.1 Características de la harina de maíz	29
4.2 Extracción y cuantificación de antocianinas	34
4.3 Características de la digestión	36
4.4 Análisis estadístico	37
4.4.1 Extracción y cuantificación antocianinas después de la nixtamalización	37

4.4.2 Extracción y cuantificación de antocianinas después de la digestión	38
4.4.3 Comparación entre el efecto de la nixtamalización y de la digestión	39
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	41
5.1 Conclusiones	41
5.2 Recomendaciones	42
Anexo I. Datos experimentales de contenido de pelargonidina (mg/kg) y su pérdida con respecto al control	44
Anexo II. Cálculo de las concentraciones de antocianinas en las muestras control	46
Anexo III. Cálculo de las concentraciones de antocianinas en las muestras nixtamalizadas, antes de la digestión	48
Anexo IV. Cálculo de las concentraciones de antocianinas en las muestras sometidas a la digestión	59
Anexo V. Curvas de calibración	63
Anexo VI. Análisis estadístico	65
Anexo VII. Programa de enseñanza integral del cuidado del ambiente en la facultad de química	68
Bibliografía	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
Fig. 2.1	Mural de Diego Rivera, "El Maíz" 1940, Palacio Nacional, Ciudad de México	3
Fig. 2.2	Ancestros del maíz (Anónimo, 1982)	4
Fig. 2.3	Estructura del grano de maíz. (FAO, 1993)	5
Fig. 2.4	Mujer moliendo en el metate. Molcajete ("escudilla"), comal y olla (Códice Mendocino, 1979)	11
Fig. 2.5	Tortillas de maíz azul	13
Fig. 2.6	Estructura y sustituyentes de las antocianinas (Durst y Wrolstad, 2001)	13
Fig. 2.7	Estructuras de las antocianinas en función del pH, donde R son distintos grupos funcionales, siendo uno de ellos la pelargonidina (Cuevas-Montilla y col., 2008)	14
Fig. 2.8	Diagrama del aparato digestivo humano y los órganos asociados a este (Dean, 2008)	18
Fig. 2.9	Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH (Coultate, 1984)	22
Fig. 2.10	Ecuaciones de la cinética de reacción de las antocianinas, donde C_t es la concentración de antocianinas (mg/100mL), t es el tiempo (min), C_o es la concentración inicial ($t=0$). K es la constante de reacción (min^{-1}), R es la constante universal de los gases, E_a es la energía de activación (kJ mol^{-1}) (Patras y col., 2009)	23
Fig. 3.1	Diagrama de bloques de la metodología a seguir	24
Fig. 4.1	Contenido de pelargonidina en cada tratamiento	33

Fig. 4.2	Pérdida del contenido de pelargonidina en porcentaje en función de la muestra control	33
Fig. 4.3	Ejemplo de la curva de calibración empleando el estándar de pelargonidina clorada (Sigma Chem Co., Saint Louis MO)	34
Fig. 4.4	Efecto de la digestión en el contenido de pelargonidina (mg/kg) de las muestras	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
Tabla 2.1	Características de los diferentes tipos de maíz (Moreno-Morales, 2010)	6
Tabla 2.2	Comparación de datos de producción nacional de maíz en 2011 (SIAP, 2011)	7
Tabla 2.3	Comparación de datos de producción nacional de maíz en 2010 (SIAP, 2011)	7
Tabla 2.4	Comparación de datos de producción nacional de maíz en 2009 (SIAP, 2011)	7
Tabla 2.5	Comparación de datos de producción nacional de maíz en 2008 (SIAP, 2011)	7
Tabla 2.6	Comparación de datos de producción nacional de maíz en 2007 (SIAP, 2011)	8
Tabla 2.7	Comparación de la producción nacional de maíz de color del 2007 al 2011 (SIAP, 2011)	8
Tabla 2.8	Principales estados productores de maíz de color 2011. (SIAP, 2011)	9
Tabla 2.9	Composición química nutricional del maíz amarillo, blanco y azul (Muñoz-de-Chávez y Chávez-Villasana, 2001)	10
Tabla 2.10	Ejemplos de datos obtenidos para degradaciones térmicas cinéticas en alimentos (Patras y col., 2009)	23
Tabla 3.1	Diseño experimental seguido: Concentraciones de cal apagada y temperaturas de cocción usando una proporción agua:grano entero crudo de 3:1	26
Tabla 4.1	Características físicas del nejayote y la harina de maíz	29

Tabla 4.2	Algunas fotografías de los granos con nejayote, harinas de maíz ya molido y extractos	35
Tabla 4.3	Fotografías de la harina de maíz digerida	36
Tabla 4.4	Análisis de varianza, andeva (<i>ANOVA</i> , en inglés) del contenido promedio de pelargonidina en las muestras nixtamalizadas a diferentes condiciones	37
Tabla 4.5	Diferencias mínimas significativas, DMS, entre las medias de las temperaturas	38
Tabla 4.6	Diferencias mínimas significativas, DMS, entre las medias de las concentraciones	38
Tabla 4.7	Análisis de varianza, andeva (<i>ANOVA</i> , en inglés) del contenido promedio de pelargonidina en las muestras nixtamalizadas y sometidas a un proceso de digestión	39
Tabla 4.8	Análisis de varianza, andeva (<i>ANOVA</i> , en inglés) comparando el contenido promedio de pelargonidina en las muestras solamente nixtamalizadas y las que además fueron sometidas a un proceso de digestión	40
Tabla A.1.	Datos experimentales del contenido de pelargonidina (mg/kg) y la pérdida con respecto al control	44
Tabla A.2	Datos de harina de maíz crudo, C	46
Tabla A.3	Datos de harina de maíz crudo adicionado con pelargonidina clorada (Sigma Chem Co., Saint Louis MO), C+P	47
Tabla A.4	Absorbancia, concentración de pelargonidina en ppm, en mg/kg, gramos de muestra y volumen, con promedio, desviación estándar y coeficiente de variación	48
Tabla A.5	Absorbancia, concentración de pelargonidina en ppm, en mg/kg, gramos de muestra y volumen, con promedio, desviación estándar y coeficiente de variación en muestras	59

	digeridas	
Tabla A.6	Curva de calibración 1	63
Tabla A.7.	Curva de calibración 2	63
Tabla A.8.	Curva de calibración 3	64
Tabla A.9.	Curva de calibración 4	64
Tabla A.10.	Datos para el análisis de varianza, andeva (ANOVA, en inglés) del contenido promedio de pelargonidina en las muestras nixtamalizadas	65
Tabla A. 11	Datos para el análisis de varianza, andeva (ANOVA, en inglés) del contenido promedio de pelargonidina en las muestras sometidas al proceso de digestión	66
Tabla A.12.	Datos para el análisis de varianza, andeva (ANOVA, en inglés) del contenido promedio de pelargonidina en las muestras con y sin digestión sometidas a la nixtamalización en las condiciones indicadas	67

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

Amb.	Ambiente
Andeva	Análisis de varianza
ANOVA	Análisis de varianza por sus siglas en inglés
Ca(OH)₂%	Concentración de hidróxido de calcio en porcentaje
°C	Grado Celsius
Cal	Caloría
CM	Cuadrado medio
Cn	Concentración en % de hidróxido de calcio
Co	Concentración inicial (t=0)
col.	Colaboradores
Ct	Concentración de antocianinas (mg/100mL)
C.V.	Coeficiente de variación
Ea	Energía de activación (kJ mol⁻¹)
DMS	Diferencia mínima significativa
<i>et al.</i>	Y otros, en latín, <i>et altere</i>
$_{0.05}F_{(T)}$	Valor de tablas de Fisher al 95% de confianza
FAO	Food and Agriculture Organization
Fig.	Figura
Fo	Valor de Fisher obtenido mediante el análisis de varianza
F.V.	Factor de variabilidad
g	Gramos

G.L.	Grados de libertad
H	Harina de maíz
ha	Hectárea
H_a	Hipótesis alternativa
H_o	Hipótesis nula
h	Horas
k	Constante de reacción (min⁻¹)
λ	Absorbancia (nm)
m	Metros
mcg	Microgramos
mg	Miligramo
mg/kg	Miligramos sobre kilogramo
min	Minutos
mL	Mililitro
N	Número de tratamiento
nm	Nanómetros
pH	Potencial hidrógeno
ppm	Partes por millón
R	Constante universal de los gases
Rn	Grupos funcionales
Σ	Desviación estándar

SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación de México
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
Sup.	Superficie
T	Temperatura
T	Tiempo (min)
T_n	Temperatura en °C
Ton	Tonelada
v/v	Relación volumen/volumen
\$/Ton	Costo por tonelada

Resumen

En México, el maíz es un alimento básico originario de la zona mesoamericana. Un producto precolombino es la tortilla, que es esencial en la dieta como fuente de energía y algunos aminoácidos esenciales complementarios al frijol. Dentro de las variedades del maíz, actualmente se ha vuelto popular la que presenta una tonalidad azul-negro, conocida como maíz azul. El consumo de esta variedad se ha incrementado, debido a las propiedades benéficas para la salud que se le han atribuido. El proceso para la elaboración de tortilla se lleva a cabo sometiendo al maíz a una lixiviación alcalina (nixtamalización), en la cual el pH del medio es de 12 a 14. Posteriormente, el maíz es molido y la masa cocinada sobre una superficie que se encuentra a unos 160°C. Se han hecho estudios para identificar los compuestos que producen el color, encontrando que los responsables son compuestos conocidos como antocianinas. Éstas se encuentran distribuidas ampliamente en la naturaleza y una de las más abundantes en las tortillas es la pelargonidina. Las antocianinas son colorantes naturales muy inestables a los cambios de pH, temperatura, oxígeno, luz, acción de enzimas, entre otras, por lo que se espera que la nixtamalización los afecte. La digestión *in vitro* es un proceso que simula la digestión humana de manera artificial con base en las condiciones de pH y enzimas siendo la de mayor importancia la pepsina. La investigación abarca el efecto que tiene la adición de cal y calor a las antocianinas presentes en el maíz azul, enfocado a la pelargonidina, ya que es una de las más abundantes en el maíz azul, además de la digestión *in vitro* para ver si el pH del estómago y la pepsina modifican el contenido de antocianinas. La metodología a seguir consistió en nixtamalizar el maíz azul con suspensiones de hidróxido de calcio en agua a diferentes concentraciones (0.2, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0) y diferentes temperaturas (75, 80, 85, 90, 95°C), manteniendo constante el tiempo y la proporción agua:grano. Posterior a la nixtamalización se molieron los granos cocidos y enjuagados con agua, en un molino manual, para poder extraer posteriormente la pelargonidina con una mezcla de metanol:ácido acético(19:1 v/v). Las muestra sometidas a las condiciones más extremas de cal y calor fueron sometidas al proceso de digestión *in vitro*, en una solución acidificada a pH de 1 con ácido clorhídrico y pepsina, para su posterior determinación en el espectrofotómetro. Se

observó que al aplicarle temperaturas como 85, 90 ó 95°C y concentraciones de hidróxido de calcio de 1.0 a 3.0% el contenido de antocianinas se ve afectado, encontrando estadísticamente que existe diferencia significativa en la pérdida de pelargonidina en las muestras ($p < 0.05$). Al ser sometida al proceso de digestión *in vitro*, aparentemente hay diferencia en el contenido de antocianinas pero, al realizar el análisis estadístico, no hubo diferencias antes y después de la digestión ($p < 0.05$).

Palabras clave: Antocianinas, extracción, maíz azul, nixtamalización, pelargonidina, digestión *in vitro*

CAPÍTULO 1

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. INTRODUCCIÓN

En México, el maíz es un alimento básico originario de la zona mesoamericana (Durán-de-Bazúa, 1988). Un producto precolombino es la tortilla, que es esencial en la dieta, como fuente de energía y algunos aminoácidos esenciales complementarios al frijol (Bressani, 1972). Dentro de las variedades del maíz, actualmente se ha vuelto popular la que presenta una tonalidad azul-negro, conocida como maíz azul. El consumo de esta variedad se ha incrementado, debido a las propiedades benéficas para la salud que se le han atribuido (Gutiérrez-Vite y Pérez-Morán, 2008; Katsube y col., 2003; Moreno-Morales, 2010). El proceso para la elaboración de tortilla se lleva a cabo sometiendo al maíz a una lixiviación alcalina (nixtamalización), en la cual el pH del medio es de 12 a 14. Posteriormente, el maíz es lavado con agua y molido y la masa cocinada sobre una superficie que se encuentra a unos 160°C (Moreno-Morales, 2010). Se han hecho estudios para identificar los compuestos que producen el color, encontrando que los responsables son compuestos fenólicos del grupo de los flavonoides, mejor conocidos como antocianinas. Éstas se encuentran distribuidas ampliamente en la naturaleza y una de las más abundantes en las tortillas es la pelargonidina y se les atribuyen una serie de efectos benéficos a la salud (Salinas-Moreno y col., 2003). Como ya se mencionó, las antocianinas son colorantes naturales muy inestables a los cambios de pH, temperatura, oxígeno, luz, acción de enzimas, entre otros factores, por lo que se espera que la nixtamalización los afecte (Gutiérrez-Vite y Pérez-Morán, 2008; Moreno-Morales, 2010; Tavera-Hernández, 2007).

En consecuencia, esta investigación busca estudiar el efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas.

1.2 Objetivos

Objetivo general

Evaluar los efectos de adición de calor y cal en el contenido de una antocianina en maíz azul, la pelargonidina.

Objetivos particulares

- Determinar la concentración de hidróxido de calcio y la temperatura en donde exista la menor pérdida de pelargonidina
- Cuantificar las concentraciones de pelargonidina, posteriormente a ser sometidas a condiciones similares a las de la digestión humana

1.3 Hipótesis

La concentración de pelargonidina en los granos de maíz azul disminuye en relación con el aumento de la concentración de hidróxido de calcio y la temperatura de cocción.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

2.1 El maíz

El maíz es uno de los principales alimentos consumido en México desde tiempos ancestrales (Cravioto y col., 1954; Illescas, 1943). En la actualidad es uno de los cultivos más importantes, no sólo en materia alimentaria, sino también en el sector industrial, político, económico y social. Este cereal presenta una gama de variedades inmensa. Dentro de éstas existen especies de grano pigmentado como el blanco, el amarillo, azul, morado, rojo y negro (Cortés-Gómez y col., 2005; Hernández-Uribe y col., 2007; Vázquez-Carrillo y Salinas-Moreno, 1996).

En los últimos cinco años se han introducido de forma masiva maíces pigmentados para el consumo humano con objeto de mejorar la calidad de vida de los agricultores. Hasta antes del año 2004, no se tenían registros acerca de la producción de maíz de color dentro del territorio nacional; sin embargo, es evidente que el consumo de productos elaborados a partir de esta materia prima se ha incrementado de manera gradual desde entonces.

El mural del mexicano Diego Rivera “El maíz” muestra la importancia y el uso del maíz y su procesamiento, para la obtención de tortillas, en la vida diaria de los pueblos mesoamericanos (Fig. 2.1).



Fig. 2.1. Mural de Diego Rivera, “El Maíz” 1940, Palacio Nacional, Ciudad de México

2.1.1 Origen del maíz

De acuerdo con las evidencias arqueológicas, muchos investigadores dicen que el maíz tuvo origen en México, dado el parecido con las plantas antiguas: teocintle, *tripsacum*, tunicado (Fig. 2.2). Posteriormente, el hombre domesticó el maíz (Anónimo, 1982).

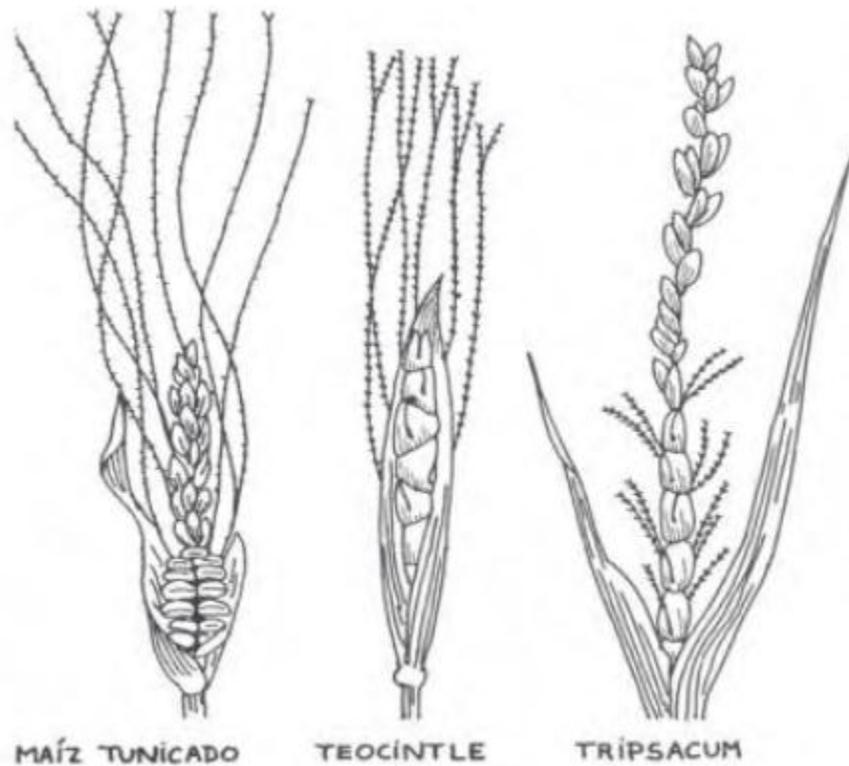


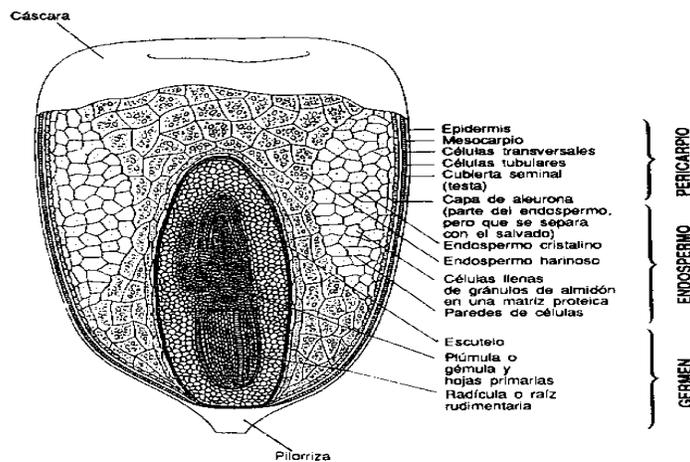
Fig. 2.2. Ancestros del maíz (Anónimo, 1982)

Un hallazgo importante ocurrió en los años cincuenta cuando, al excavar y tomar muestras de suelo para construir la Torre Latinoamericana en el centro del Distrito Federal, se encontraron a 60m de profundidad unos granos de polen, los cuales fueron identificados como de maíz o de su ancestro silvestre y cuya edad estimada fue de aproximadamente 80 000 años, mucho antes de la ocupación humana del Nuevo Mundo, mucho antes de que la agricultura participara en el mundo (Vázquez-Gómez, 2006). En Nuevo México se encontraron restos de maíz con edad de 5600 años de antigüedad; mientras que en el Valle de Tehuacán, Puebla, se han encontrado restos de maíz domesticado cuya antigüedad es de 6600 años (Miranda-Colín, 2000).

2.1.2 Estructura del grano de maíz

Los granos de maíz se desarrollan mediante la acumulación de los productos de la fotosíntesis, la absorción a través de las raíces y el metabolismo de la planta de maíz en la inflorescencia femenina denominada espiga. Esta estructura puede contener de 300 a 1000 granos según el número de hileras y el diámetro y longitud de la mazorca. La masa del grano puede variar mucho, de aproximadamente 19 a 30 g por cada 100 granos. Durante la recolección, las panojas de maíz son arrancadas manual o mecánicamente de la planta.

El grano de maíz se denomina en botánica cariósipide o cariopsis; cada grano contiene el revestimiento de la semilla, o cubierta seminal, y la semilla, como se ve en la Figura 2.3, también se muestran las cuatro estructuras físicas fundamentales del grano: el pericarpio, cáscara, o salvado; el endospermo, el germen o embrión; y la piloriza (tejido inerte que une al grano y el carozo¹) (Dendy y Dobraszcyk, 2001).



(Facilitado por el Wheat Flour Institute, Chicago, Illinois, 1964)

Fig. 2.3. Estructura del grano de maíz (FAO, 1993)

2.1.3 Tipos de maíz

En la Tabla 2.1 se muestran los diferentes tipos de maíz, sus características y usos.

¹ (Del lat. vulg. *carudium*, der. del gr. *καρύδιον*, avellana). **1. m.** Corazón de la mazorca (Diccionario de la lengua española, 22ª edición). En México se conoce como *olote*, que viene del náhuatl, de la probable adulteración de *yólotl*, corazón (Cabrera, 2002)

2.1.4 Valores de producción de maíz amarillo, blanco y azul

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), través del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2011), reporta en su anuario estadístico agrícola, la producción de maíz blanco, amarillo y de color. Las estadísticas, como se muestran en las Tablas 2.2 a 2.6, indican que la producción de los granos de color, en los años 2007 al 2011, fue inferior a la producción de maíz blanco y amarillo, siendo el maíz blanco el que se produce mayoritariamente en México.

Tabla 2.1. Características de los diferentes tipos de maíz (Moreno-Morales 2010)

Tipo de maíz	Características	Usos
Duro	<ul style="list-style-type: none"> • Granos redondos, duros y suaves al tacto • Endospermo constituido sobre todo de almidón blando en el centro del grano • Los granos poseen colores como el amarillo, anaranjado, blanco, crema, verde, púrpura, rojo, azul y negro 	Son preferidos para alimento humano y para hacer fécula de maíz
Dentado	<ul style="list-style-type: none"> • Endospermo con mayor cantidad de almidón blando y el almidón duro está limitado solo a los lados del grano • Grano con apariencia de diente por poseer una hendidura en la corona de la cariósida, pues cuando el grano se comienza a secar, el almidón blando de la parte superior del grano se contrae y produce una pequeña depresión • Es muy susceptible a hongos e insectos en el campo y en el almacenamiento • Poseen granos de color blanco y amarillo 	Para grano y ensilaje (alimentación animal) y usos industriales
Reventón (palomero)	<ul style="list-style-type: none"> • Endospermo duro que ocupa la mayor parte del grano • Los granos son pequeños, con pericarpio grueso y varía en su forma de redondos a oblongos • Cuando se calienta el grano, se revienta y el endospermo sale 	Elaboración de palomitas
Dulce	<ul style="list-style-type: none"> • Los granos tienen un alto contenido de azúcar y son de gusto dulce en el momento de la cosecha • Los tipos de maíz de grano dulce son susceptibles a enfermedades 	Para elotes (para consumir mazorcas verdes, ya sea hervidas o asadas)
Ceroso	<ul style="list-style-type: none"> • Su endospermo tiene un aspecto opaco y ceroso. El almidón en los maíces cerosos está compuesto exclusivamente de amilopectina 	Industria refinadoras de almidón
Harinoso	<ul style="list-style-type: none"> • El endospermo contiene almidón de naturaleza blanda, por lo que es altamente susceptible a la pudrición y ataque por plagas • Los tipos de maíces harinosos muestran gran variabilidad de color de grano y textura 	Alimento humano y preparación de platos especiales y bebidas

Tabla 2.2. Comparación de datos de producción nacional de maíz en 2011 (SIAP, 2011)

Tipo / Variedad	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/ha)	PMR (\$/Ton)	Valor producción (Miles de pesos)
Amarillo	383,994.35	345,027.22	1,692,409.66	4.90	3,877.00	6,561,480.45
Blanco	7,314,659.24	5,681,483.40	15,873,783.26	2.79	4,100.87	65,096,267.89
De color	43,198.60	35,542.01	42,254.38	1.19	3,610.16	152,545.28

Tabla 2.3. Comparación de datos de producción nacional de maíz en 2010 (SIAP, 2011)

Tipo / Variedad	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/ha)	PMR (\$/Ton)	Valor producción (Miles de pesos)
Amarillo	398,970.64	385,818.34	2,018,369.85	5.23	2,587.74	5,223,013.10
Blanco	7,404,921.35	6,709,100.43	21,165,671.83	3.16	2,837.45	60,056,550.20
De color	49,071.00	45,399.50	76,843.44	1.69	3,026.15	232,539.65

Tabla 2.4. Comparación de datos de producción nacional de maíz en 2009 (SIAP, 2011)

Tipo / Variedad	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/ha)	PMR (\$/Ton)	Valor producción (Miles de pesos)
Amarillo	360,487.14	347,591.86	1,713,432.11	4.93	2,482.94	4,254,356.48
Blanco	7,311,426.46	5,832,210.78	18,332,643.86	3.14	2,831.49	51,908,672.62
De color	46,499.50	35,664.40	59,224.09	1.66	2,945.34	174,435.20

Tabla 2.5. Comparación de datos de producción nacional de maíz en 2008 (SIAP, 2011)

Tipo / Variedad	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/ha)	PMR (\$/Ton)	Valor producción (Miles de pesos)
Amarillo	371,101.47	350,195.47	1,573,914.77	4.49	2,856.74	4,496,271.26
Blanco	7,519,800.76	6,951,884.17	22,719,396.07	3.27	2,813.78	63,927,494.15
De color	43,695.50	34,578.50	74,734.29	2.16	2,736.14	204,483.12

Tabla 2.6. Comparación de datos de producción nacional de maíz en 2007 (SIAP, 2011)

Tipo / Variedad	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/ha)	PMR (\$/Ton)	Valor producción (Miles de pesos)
Amarillo	387,191.93	377,844.62	1,574,675.11	4.17	2,100.23	3,307,174.31
Blanco	7,650,323.78	6,892,748.12	21,777,449.40	3.16	2,462.66	53,630,402.52
De color	71,560.20	54,569.20	115,574.34	2.12	2,936.01	339,327.05

Tabla 2.7. Comparación de la producción nacional de maíz de color del 2007 al 2011. (SIAP, 2011)

Año	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/ha)	PMR (\$/Ton)	Valor producción (Miles de pesos)
2007	71,560.20	54,569.20	115,574.34	2.12	2,936.01	339,327.05
2008	43,695.50	34,578.50	74,734.29	2.16	2,736.14	204,483.12
2009	46,499.50	35,664.40	59,224.09	1.66	2,945.34	174,435.20
2010	49,071.00	45,399.50	76,843.44	1.69	3,026.15	232,539.65
2011	43,198.60	35,542.01	42,254.38	1.19	3,610.16	152,545.28

Según la SAGARPA (2011), a través del SIAP (2011), como muestra en la Tabla 2.8, los principales estados que figuran en las estadísticas de producción de maíces de color son Campeche, Estado de México, Michoacán, Guerrero, Tlaxcala Puebla y, siendo actualmente, el mayor productor el estado de Campeche.

2.1.5 Comparación nutricional de maíz amarillo, blanco y azul

Nutricionalmente hablando, ningún grano por sí mismo proporciona todos los nutrientes necesarios para el ser humano. Por ello se ha buscado superar las limitantes mediante la complementación de alimentos eliminando así las deficiencias y compensándolas con frijol, debido a que el maíz es deficiente en lisina y los frijoles son ricos en ella (Lomelí-Escalante, 1996). De manera individual, los especialistas recomiendan el consumo de ciertos tipos de maíz por

la relación existente entre el color del maíz y su composición química que finalmente impacta en su valor nutricional.

En la Tabla 2.9 se resume la composición química nutricional de tres tipos de maíz: blanco, azul y amarillo. Se puede observar que el maíz azul presenta mayor contenido de hidratos de carbono y es el de mayor aporte calórico con respecto al maíz blanco y amarillo.

Tabla 2.8. Principales estados productores de maíz de color 2011 (SIAP, 2011)

Ubicación	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/ha)	PMR (\$/Ton)	Valor producción (Miles de pesos)
Campeche	23,930.00	23,930.00	25,543.00	1.07	3,690.07	94,255.50
Chihuahua	1,825.00	1,825.00	667.00	0.36	4,470.02	2,981.50
Guerrero	1,236.50	1,236.50	3,200.05	2.59	3,099.56	9,918.74
Jalisco	2,033.00	8.00	24.00	3.00	2,300.00	55.20
México	6,629.30	3,754.30	6,898.94	1.84	3,665.22	25,286.11
Michoacán	1,046.00	1,046.00	3,287.10	3.14	3,209.87	10,551.16
Puebla	1,128.80	1,128.80	1,165.15	1.03	3,468.53	4,041.36
Tlaxcala	5,370.00	2,613.41	1,469.14	0.56	3,713.55	5,455.72

2.2 Las tortillas

La tortilla es la forma más común en la que se consume el maíz y es parte de la dieta mexicana. Se consume desde tiempos ancestrales y durante generaciones ha sido el principal componente de la dieta diaria del mexicano (Salinas-Moreno y col., 1999, 2003). Los aztecas le llamaban *tlaxcalli* que significa “cosa cocida” y, posteriormente, fue bautizada como “tortilla” por los españoles (Frías-Hermosillo y García-García, 2009).

Tabla 2.9. Composición química nutricional del maíz amarillo, blanco y azul
(Muñoz-de-Chávez y Chávez-Villasana, 2001)

		Maíz azul	Maíz amarillo	Maíz blanco
Composición química	Humedad (g)	10.6	13.6	10.6
	Hidratos de carbono (g)	74.6	69.6	73
	Proteínas	8	8.3	7.9
	Grasas (g)	4.3	4.8	4.7
	Fibra (g)	12.2	12.2	12.2
	Energía (cal)	366	350	362
	Porción comestible	92	92	92
Lípidos	Grasas totales (g)	4.3	4.3	4.3
	Colesterol (mg)	0	0	0
	Saturados totales (g)	0.4	0.6	0.6
	Monoinsaturados (oleico) g	1.1	1.3	1.3
	Poliinsaturados (linoleico) g	2.3	2.5	2.5
Minerales	Calcio (mg)	159	158	159
	Fósforo (mg)	----	235	228
	Hierro (mg)	2.5	2.3	2.3
	Magnesio (mg)	147	147	147
	Sodio (mg)	1	1	1
	Potasio (mg)	2684	284	284
	Zinc (mg)	----	----	----
Vitaminas	Retinol (mcg)	5	16	1
	Ácido ascórbico (mg)	0	0	0
	Tiamina (mg)	0.43	0.34	0.36
	Riboflavina (mg)	0.1	0.08	0.06
	Niacina (mg)	1.9	1.6	1.9
	Piridoxina (mg)	----	----	----
	Ácido fólico (mcg)	----	----	----
	Cobalamina (mcg)	----	----	----

Existen documentos históricos que muestran la importancia de la tortilla desde la época precolombina. El Códice Mendocino (Fig. 2.4) relata que la sociedad azteca tenía reglamentado, en las escuelas precortesianas, la alimentación de niños y jóvenes, con base a la tortilla. A partir de los 3 años, se daba media tortilla al niño, una entera a los 4y 5 años, tortilla y media entre los 6 y 12 y después de los 13 dos tortillas.

Lo anterior demuestra que en aquellos tiempos el gobierno se preocupaba por garantizar el abasto y acceso a la tortilla (Lomelí-Escalante, 1996).

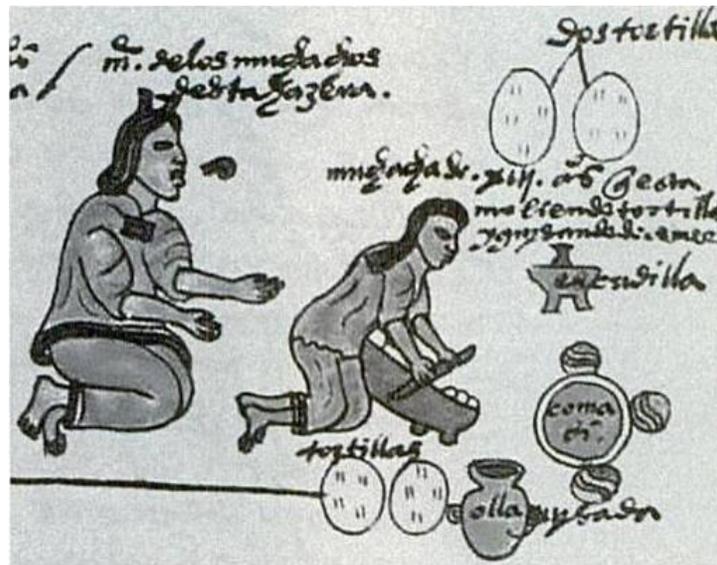


Fig. 2.4. Mujer moliendo en el metate. Molcajete (“escudilla”) comal y olla. Códice Mendocino, 1979

La mayoría de las tortillas consumidas en México son de maíz blanco pero, debido a las propiedades que se le atribuyen a las pigmentadas, la venta y consumo de éstas ha ido en aumento. El proceso de elaboración de las tortillas inicia con la recepción, limpieza y homogeneización del grano. Después se realiza la nixtamalización para, posteriormente, moler el maíz formando una masa que se cocina en una superficie ya sea de barro o metálica que se encuentra a más de 160°C. La coloración de los productos obtenidos a partir de maíz azul, presentan poca uniformidad en cuanto al tono de color ya que se pueden observar coloraciones desde tonos verde-azulado hasta morados intensos. Esto se debe a la inestabilidad de las antocianinas en la matriz del grano (Gutiérrez-Vite y Pérez-Morán, 2008).

2.2.1 La nixtamalización

En México, antes de consumirse el maíz, se somete a un proceso térmico alcalino muy fuerte conocido como nixtamalización (palabra del náhuatl, derivada de *nextli* que significa cenizas o cenizas de cal y *tamalli*, masa de maíz cocido). En este proceso se somete al maíz, en una relación 1:3 (grano:agua), a una cocción en una suspensión alcalina con hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), donde el pH del medio

varía de entre 12 y 14, dependiendo de las concentraciones que pueden variar desde 0.5 hasta 3%, dependiendo de la dureza del grano (Illescas, 1943). El calor aplicado también depende de la dureza del grano, pudiendo llegar a la ebullición manteniendo la mezcla entre 90 y 120 minutos. Después del reposo del nixtamal se separa del agua de cocción llamado nejayote, lavándolo con agua con el objetivo de remover el exceso de cal y el pericarpio que se desprende por el efecto hidrolizante del álcali sobre la fibra. Ya limpio el nixtamal es molturado manualmente en metate, en molinos manuales o eléctricos para posteriormente formar la masa (Durán-de-Bazúa, 1988, Serna-Saldívar, 1996).

La masa es la materia prima para la elaboración de muchos productos, entre ellos las tortillas (Baduí, 1993).

El maíz fue clave para el desarrollo de las culturas prehispánicas en Mesoamérica. Los productos derivados del nixtamal jugaron un papel importante en la mejora del valor nutritivo del maíz (Cravioto y col., 1954). En la actualidad principalmente en segmentos poblacionales de menores recursos económicos, los productos nixtamalizados son todavía el principal sustento (Frías-Hermosillo y García-García, 2009).

2.2.2 La tortilla elaborada con maíces pigmentados

Los maíces de color han estado presentes en la mitología y rituales religiosos de las culturas indígenas de México. De acuerdo con Sahagún, entre los aztecas, los maíces de color blanco, amarillo, rojo y negro, se relacionan con los rumbos cósmicos. El blanco se asocia con el norte, el amarillo con el sur, el rojo con el este y el negro con el oeste. Los indígenas huicholes consideran a los maíces amarillo, blanco, rojo y negro como guardianes de la milpa (Arellano-Vázquez y col., 2003).

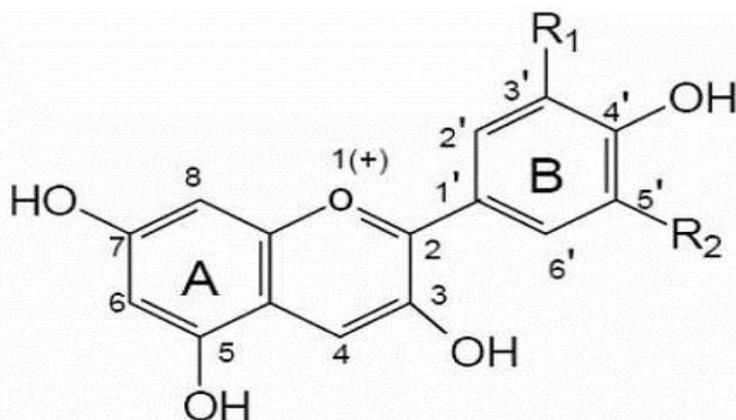
En la actualidad, las tortillas azules (Fig. 2.5) son preparadas a partir de maíces pigmentados cuyos granos presentan coloración azul, roja, negra o morada debida a la presencia de pigmentos conocidos como antocianinas. Tradicionalmente, las tortillas de maíces pigmentados son empleados en la preparación de platillos típicos como quesadillas, tlacoyos y tacos (Hernández-Uribe y col., 2007).



Fig. 2.5. Tortillas de maíz azul

2.3 Las antocianinas

Las antocianinas son colorantes naturales solubles en agua e insolubles en éter, benceno o cloroformo, siendo compuestos iónicos. Su fórmula básica está conformada por dos anillos aromáticos unidos por una estructura de tres carbonos, como se muestra en la Fig. 2.6. En la Fig. 2.7 se presenta la estructura de las antocianinas y el efecto del valor de pH (Cuevas-Montilla y col., 2008).



Aglicona	Substitución		λ_{max} (nm) espectro visible
	R1	R2	
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

Fig. 2.6. Estructura y sustituyentes de las antocianinas (Durst y Wrolstad, 2001)

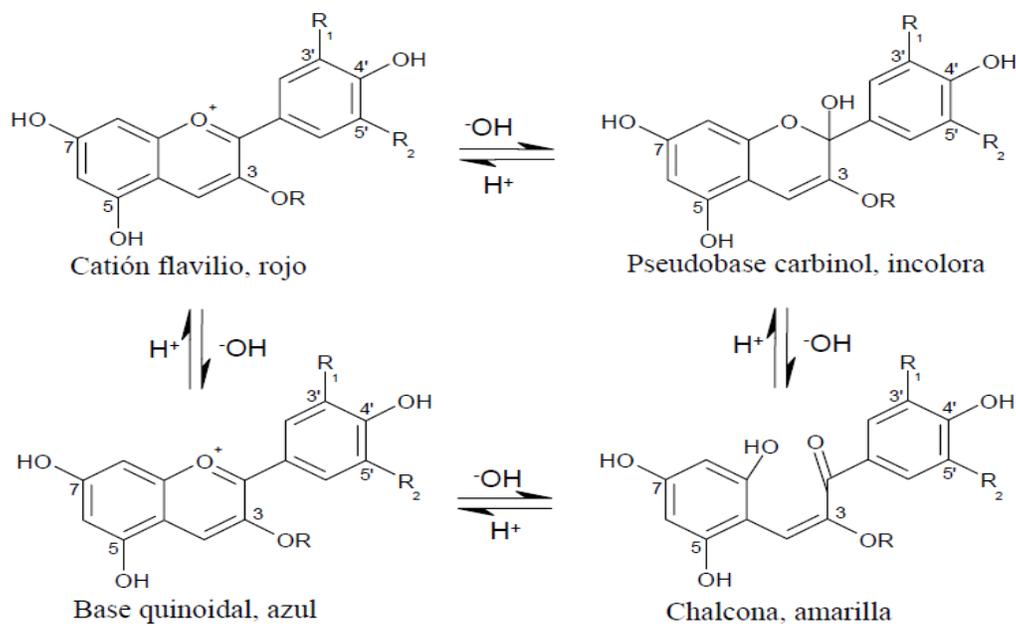


Fig. 2.7. Estructuras de las antocianinas en función del pH, donde R son distintos grupos funcionales, siendo uno de ellos la pelargonidina (Cuevas-Montilla y col., 2008)

El color de las antocianinas depende de varios factores intrínsecos, como los sustituyentes y la posición de éstos. Las antocianinas, como se puede observar en la Figura 2.6, tienen una deficiencia en el núcleo del flavilio, haciendo que estos pigmentos funcionen como indicadores de pH, ya que su color depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en el que se encuentren. Las antocianinas son muy susceptibles a sufrir cambios estructurales en presencia de oxígeno, cambios de pH o de la temperatura, exposición a la luz, por vía enzimática, entre otros. Como se mencionó anteriormente, los tratamientos térmicos influyen en gran medida en la descomposición de las antocianinas (Barreiro y Sandoval, 2006; Cuevas-Montilla y col., 2008; Jiménez-del-Carpio y col., 2009, Primo-Yúfera, 1995; Salinas-Moreno y col., 2003).

2.3.1 Efectos biológicos de las antocianinas

Estudios con fracciones de antocianinas provenientes del vino han demostrado que éstas son efectivas en atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas (Ghiselli y col.,

1998). Estos resultados sugieren que las antocianinas son la explicación de la conocida "paradoja francesa". Aunque existen varias hipótesis, se propone que el bajo riesgo de la enfermedad coronaria en Francia se asocia con el alto consumo de vino tinto (St. Leger y col., 1979; Xia y col., 1998). De igual manera, Wang y Jiao (2000) y Wang y Lin (2000) han demostrado que frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y contra radicales peróxido, ($ROO\cdot$), superóxido (O_2^-), hidroxilo ($\cdot OH$) y oxígeno singulete (1O_2).

A las antocianinas también se les atribuye actividad antitumoral y anticancerígena. Hagiwara y col. (2002) demostraron que el suministro de camotes púrpuras dulces y repollo morado a ratas de laboratorio, causan supresión de tumores. De igual manera, Koide y col. (1997) reportaron efectos antitumorales al usar extractos de frijoles rojos de soya que contenían cianidina conjugada con glucosa y ramnosa. En cuanto a la actividad anticancerígena, Kamei y col. (1998) reportaron la supresión de células cancerígenas HCT-15 provenientes del colon humano y de células cancerígenas gástricas AGS al suministrar fracciones de antocianinas del vino tinto. Así también, Tristan y col. (2005) realizaron bioensayos que demuestran que los arándanos inhiben las etapas de iniciación, promoción y progresión de la carcinogénesis.

Referente a la actividad antiinflamatoria, Wang y Mazza (2002), encontraron en extractos concentrados de antocianinas efecto inhibitorio de la producción de óxido nítrico en macrófagos activados. Por otra parte, Vuorela y col. (2005), encontraron efecto supresor de prostaglandina EG_2 , sinónimo de actividad antiinflamatoria en extractos de antocianinas de frambuesa.

De acuerdo con Tristan y col. (2008), las antocianinas provenientes de cuatro especies de arándanos silvestres: *Amelanchier alnifolia*, *Viburnum trilobum*, *Prunus virginian* y *Shepherdia argentea*, muestran propiedades hipoglucémicas. Tales frutos, con alto contenido de sustancias fitoquímicas, han sido consumidas tradicionalmente por tribus norteamericanas para la protección de enfermedades crónicas como diabetes. Otro ejemplo de actividad antidiabética de las antocianinas fue reportado por Perossini y col. (1987).

Estudios clínicos realizados en Italia revelaron que 79% de los pacientes diabéticos consumidores de extracto de bayas rojas (160 mg dos veces al día durante un mes) mostraron alivio en los síntomas de retinopatía diabética. Finalmente, el mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo como resultado del consumo de antocianinas han sido reportados por Ohgami y col. (2005), quienes suministraron extractos de frutas ricas en antocianinas a ratas con deficiencia ocular, lo cual resultó en un efecto antiinflamatorio y de aumento de la agudeza visual.

Joseph y col. (1999) y Shukitt-Hale y col. (2005) han demostrado que el comportamiento cognitivo y las funciones neuronales de ratas de laboratorio puede ser mejorado a través de suplementación nutricional con extractos de arándanos y fresas (Garzón, 2008).

2.3.2 Efecto del pH

Las antocianinas son más estables en un medio ácido que en un medio neutro o alcalino. En medio ácido la forma predominante es la del ión flavilio, el cual da el color rojo; cuando ésta es sometida a pH básico o alcalino, el ión flavilio es susceptible al ataque nucleofílico por parte del agua, produciéndose la pseudobase carbinol, esto es a pH 4.5 y seguido se forma la chalcona, las dos formas son incoloras (Hutchings, 1999).

Conociendo esto, las antocianinas tienen su máxima expresión de color a valores de pH ácidos (pH 1) y su forma incolora se produce a pH neutros o alcalinos (Cuevas-Montilla y col., 2008).

2.3.3 Efecto de la temperatura

Las antocianinas son destruidas por el calor durante el procesamiento y almacenamiento. Un incremento logarítmico en la destrucción de las antocianinas ocurre con un incremento en la temperatura. Timberlake y Henry (1986) observaron que el equilibrio entre las estructuras es endotérmico, en una dirección de izquierda a derecha:

Base quinoidal \longleftrightarrow Cation flavilio \longleftrightarrow Pseudobase carbinol \longleftrightarrow Chalcona

A altas temperaturas el equilibrio cambia hacia las chalconas. El retorno de las chalconas al flavilio es lento (Cuevas-Montilla y col., 2008).

2.3.4 Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas

En la nixtamalización, el pH puede variar de 11 a 14, alcanzando la temperatura de ebullición (al calentar a temperaturas superiores a los 90°C en la Ciudad de México). Estas condiciones son relativamente drásticas y podrían ser suficientes para descomponer los pigmentos, ya que son dos de los factores que dañan las antocianinas (Markakis, 1982).

Como se mencionó anteriormente durante la nixtamalización el agua de cocción alcanza valores de pH de entre 11 y 14, mientras que la temperatura es mayor a los 90°C, conjugando dos factores que afectan de manera importante a las antocianinas (Markakis, 1982) y, aunque el tiempo es corto, las condiciones son muy drásticas y suficientes para modificar químicamente el pigmento del pericarpio del grano.

Con pH alcalino, el anillo de piridium de la antocianina se rompe y el color azul desaparece para dar paso a una coloración amarillo pálida, que es representativa de la chalcona ionizada. Esta etapa no es muy estable y el color amarillo desaparece más o menos rápido, dependiendo del pH. Una vez que se alcanza este estado, aunque se acidifique el medio, ya no es posible regresar la estructura de la antocianina, y entonces se puede decir que el pigmento se ha destruido (Brouillard, 1982).

En los maíces con pigmento en pericarpio y capa de aleurona, el pericarpio adquiere un color café como resultado de la degradación de las antocianinas por el elevado pH. El pericarpio al ser solubilizado se desprende y se elimina con el nejayote y el agua de lavado, de manera que las antocianinas son las que provienen de la capa de aleurona y corresponden a cianidinas y derivados de la misma, que podrían ser aciladas. Por ende, es necesario encontrar maíces pigmentados que preserven su color durante la nixtamalización y que reúnan además las características de grano necesarias para la elaboración de tortillas, como la dureza del endospermo intermedia o dura (Salinas-Moreno y col., 2003).

2.4 Digestión

La digestión se lleva a cabo a través del aparato digestivo, iniciando en la boca, terminando en el ano. Durante todo el tracto se llevan a cabo diferentes procesos químico-biológicos, transformando macromoléculas en microcomponentes y energía. Dentro de esta investigación el enfoque fue hacia el proceso que ocurre en el estómago. En éste se tiene un valor de pH ácido producido por el ácido clorhídrico que se encuentra en él; a este pH, las antocianinas son más estables (Guerra y Ortega, 2006, López-Veleceta, 2012).

2.4.1 Aparato digestivo

La Fig. 2.8 muestra un diagrama del aparato digestivo humano y los órganos asociados con éste (Dean, 2008, López-Veleceta, 2012).

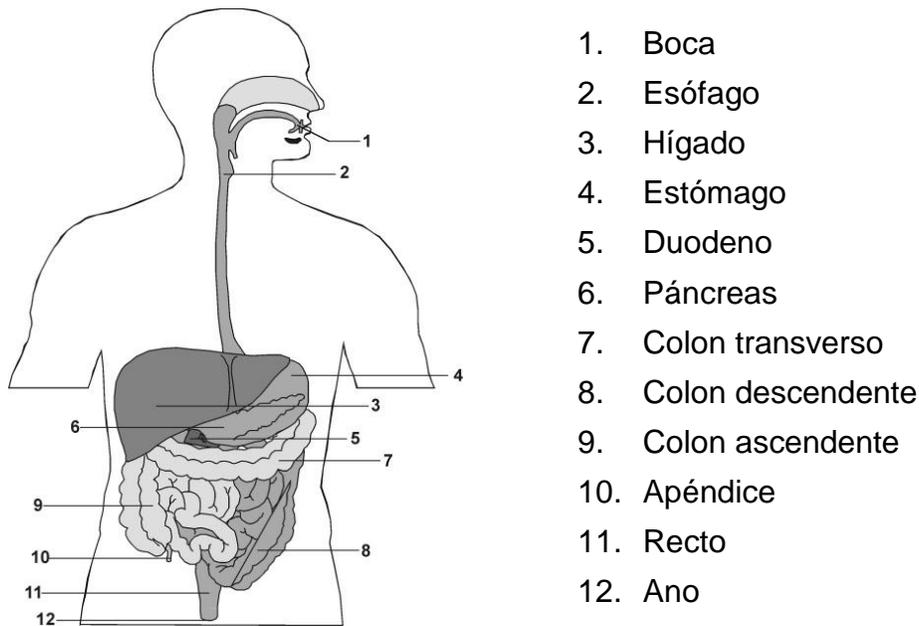


Figura 2.8. Diagrama del aparato digestivo humano y los órganos asociados a éste (Dean, 2008)

Se pueden identificar ocho procesos que ocurren en el tracto gastrointestinal, que son:

- Boca. Degradación inicial del alimento en presencia de saliva
- Esófago. El alimento ingerido es transportado hacia el estómago por contracción muscular (peristalsis)

- Estómago. Se almacenan los alimentos ingeridos, se inicia la digestión de proteínas y luego se transportan los alimentos al duodeno. Las células en las paredes del estómago secretan pepsinógeno y ácido clorhídrico ($\text{pH} < 2$). La presencia del ácido clorhídrico tiene las funciones de desnaturalizar las proteínas y formar la enzima pepsina a partir del pepsinógeno, que es más activa a $\text{pH} 2$. La pepsina dentro del estómago puede parcialmente digerir las proteínas. Los carbohidratos y las grasas no son digeridos en el estómago
- Intestino delgado. Compuesto por: el duodeno, el yeyuno y el íleon. Estas partes del intestino delgado contienen varias enzimas como: la enteroquinasa, que activa a la tripsina (secretada por el páncreas), enzima que se encarga de digerir las proteínas. El intestino delgado es el sitio principal en donde los productos alimenticios son absorbidos, incluyendo las grasas, los carbohidratos, las proteínas, las vitaminas, los elementos como Ca y Fe, el agua y los electrolitos
- Hígado y vesícula biliar. El hígado tiene un efecto regulador en la composición química de la sangre, produce y secreta bilis que es almacenada en la vesícula biliar antes de ser liberada en el duodeno. La bilis está compuesta por: sales biliares, principalmente ácido cólico y ácido quenodeoxicólico; pigmentos de la bilis (bilirrubina); fosfolípidos (lecitina); colesterol e iones inorgánicos como Na^+ , K^+ , Cl^- y $(\text{CO}_3)^{2-}$
- Páncreas. Esta glándula secreta jugos pancreáticos al duodeno. Los jugos pancreáticos contienen agua, ión bicarbonato y una variedad de enzimas digestivas, como la amilasa (que digiere almidón), la tripsina (digiere proteína) y la lipasa (digiere triglicéridos)
- Intestino grueso o colon. En este órgano se produce la absorción de agua y los electrolitos de los alimentos
- Defecación. Después de la absorción del agua y electrolitos, el material de desecho pasa al recto. El aumento de la presión rectal, debido a la acumulación del material de desecho, lleva al organismo a la necesidad de defecar. En este punto, los productos de desecho pasan a través del canal anal y salen por el ano (Dean, 2008, López-Velecela, 2012)

2.4.2 Digestión *in vitro* (López-Veleceta, 2012)

El objetivo de la metodología *in vitro*, es simular los procesos importantes que ocurren en el tracto gastrointestinal. Las áreas que se han identificado para el proceso de extracción son:

- 1) Boca: Se realiza la molienda mecánica de los alimentos (pH de 6.5). Los alimentos son masticados, permitiendo desglosarlos en fragmentos más pequeños incrementando su área superficial. Este proceso ocurre en pocos segundos hasta unos cuantos minutos; posteriormente, el bolo se transporta hacia el estómago.
- 2) Estómago: El medio ácido del estómago se debe al ácido clorhídrico presente (pH de 1 – 5). La presencia de pepsina degrada las proteínas, ayudando a la disolución de los alimentos. Todo el proceso estomacal puede durar de unos pocos minutos hasta algunas horas (aproximadamente de 8 min a 3 h).
- 3) Intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon). Las muestras son sujetas a digestión en el fluido intestinal, compuesto por enzimas (tripsina, pancreatina y amilasa), sales biliares y bicarbonato. El proceso de absorción tiene lugar mayormente en el intestino delgado donde la digestión final sucede. Las muestras pueden ser retenidas en el intestino delgado así: en el duodeno de 30 a 45 min, a pH entre 4 y 5.5; en el yeyuno de 1.5 a 2 h, entre 5.5 y 7.0 unidades de pH; y, en el íleon de 5 a 7 h, a pH de 7 a 7.5.

Los procesos gastrointestinales son complejos y difíciles de simular. Las técnicas *in vitro* han usado tradicionalmente varias sales de metales o suelos que son incubados a pH bajo por un período de tiempo intentando imitar las condiciones en el estómago y el intestino delgado. Enzimas y ácidos orgánicos son usados para simular el fluido estomacal y del intestino delgado (Dean, 2008, López-Veleceta, 2012, Wragg y Cave, 2002).

Los protocolos de las pruebas *in vitro* son usados para predecir solamente. Ellos no proporcionan datos de biodisponibilidad absoluta. Esto puede hacerse en la actualidad con el uso técnicas *in vivo*. Además, es posible enfocarse a estudiar de

manera simplificada una zona de interés específica (Intawongse y Dean, 2006, López-Velecela, 2012, Pascoe-Hernández, 2003).

Basados en el diseño del tracto gastrointestinal humano, el desarrollo de un método de simulación gastrointestinal *in vitro* debe tener las siguientes características:

- Temperatura. Las extracciones se deben ajustar a los 37°C de temperatura del cuerpo humano.
- Agitación. Simulación del movimiento peristáltico del esófago.
- Compartimiento estomacal. En el que las muestras son sometidas a reacción con pepsina y ácido clorhídrico a pH de 1 – 4 por aproximadamente 3 horas (Dean, 2008, Intawongse y Dean, 2006, López-Velecela, 2012, Pascoe-Hernández, 2003, Wragg y Cave, 2002).

2.4.3 Digestión de las antocianinas

Las antocianinas son muy sensibles a cambios de pH y temperatura, por ello es que el uso de las mejores condiciones de nixtamalización permitirán mantener la calidad de las antocianinas y sus efectos beneficiosos a los consumidores, probados con ratas de laboratorio como animales modelo (Frías-Hermosillo y García-García, 2009).

La pelargonidina tiene hidrógeno en los dos grupos R1 y R2 (ver Fig. 2.6), lo que hace que los cambios puedan ser seguidos directamente con la metodología propuesta que se presenta en la próxima sección de este documento y que está basada en una publicación relativamente reciente (Cuevas-Montilla y col., 2008, Sánchez-González, 2006).

Las antocianinas, como se muestra en la Fig. 2.9, son más estables a pH ácido y como justamente éstas son las condiciones de la digestión, se espera en este estudio que no se afecten.

2.5 Extracción y cuantificación de las antocianinas

A valores ácidos de pH, las antocianinas son muy estables, pero se desestabilizan cuando el pH se acerca a la neutralidad, llegando a descomponerse a valores básicos. Esto explica el que la extracción de antocianinas se realice con solventes neutros (por ejemplo metanol, etilenglicol, n-butanol, acetona) y ácidos orgánicos débiles (ácido fórmico, ácido acético). La adición de agua (10-15%) en algunos casos permite una extracción completa dependiendo de la fuente. La purificación es un paso importante, debido a que en la extracción se arrastran otros compuestos que pueden afectar la estabilidad o el análisis del pigmento, ya sea en columnas de amberlita de absorción, en cartuchos tipo C18, entre otros (Galicia-Flores y col., 2008, Nava-Arenas, 2009).

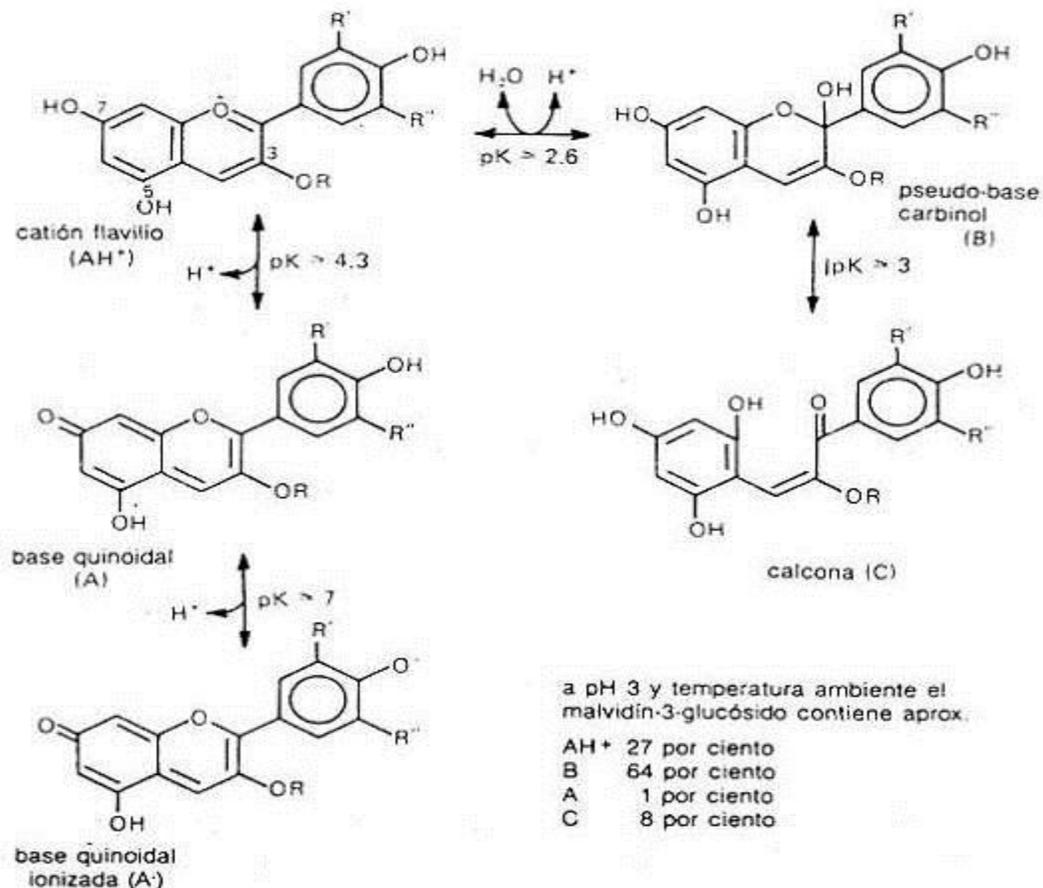


Fig. 2.9. Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH (Coultate, 1984)

2.5.1 Cinética de degradación de las antocianinas en alimentos

Para evaluar la vida útil de los alimentos se emplean comúnmente modelos cinéticos. Con ellos se pueden predecir los efectos de algunos parámetros sobre la calidad de los alimentos, ya sea durante su elaboración o su vida de anaquel o cualquier situación. El conocimiento acerca de la degradación cinética incluye el orden de la reacción, la constante de reacción y la energía de activación, los cuales son vitales para la predicción de nutrientes.

La Tabla 2.10 y la Fig. 2.10 muestran algunos datos experimentales ajustados a las ecuaciones de los modelos obtenidos (Moreno-Morales, 2010, Patras y col., 2009).

Tabla 2.10. Ejemplos de datos obtenidos para degradaciones térmicas cinéticas en alimentos (Patras y col., 2009)

Fruta o vegetal	Condiciones del proceso	Parámetros cinéticos
Piel de papas moradas	Agua de ebullición	Ea= 72.49 kJ/mol
Zanahoria morada	Agua de ebullición	Ea= 88.79 kJ/mol
Zanahoria negra	90°C	Ea= 72.4 kJ/mol
Maíz morado	90°C	Ea= 18.3 kJ/mol
Puré de ciruela	90°C	Ea= 37.48 kJ/mol
Piel de uvas	Agua de ebullición	Ea= 69.0 kJ/mol

$$C_t = C_0 \times \exp(-K \times t) \quad (1)$$

$$T_{1/2} = \frac{\text{Log}_e 2}{K} \text{ or } T_{1/2} = \frac{2.303}{K} \quad (2)$$

$$\text{Log} \left(\frac{K_T}{K_0} \right) = -\frac{E_a}{2.303 \times R} \left[\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right] \quad (3)$$

Fig. 2.10. Ecuaciones de la cinética de reacción de las antocianinas, donde C_t es la concentración de antocianinas (mg/100mL), t es el tiempo (min), C_0 es la concentración inicial ($t=0$), K es la constante de reacción (min^{-1}), R es la constante universal de los gases, E_a es la energía de activación (kJ mol^{-1}) (Patras y col., 2009)

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA

En la Figura 3.1 se presenta un diagrama de bloques con la metodología seguida.

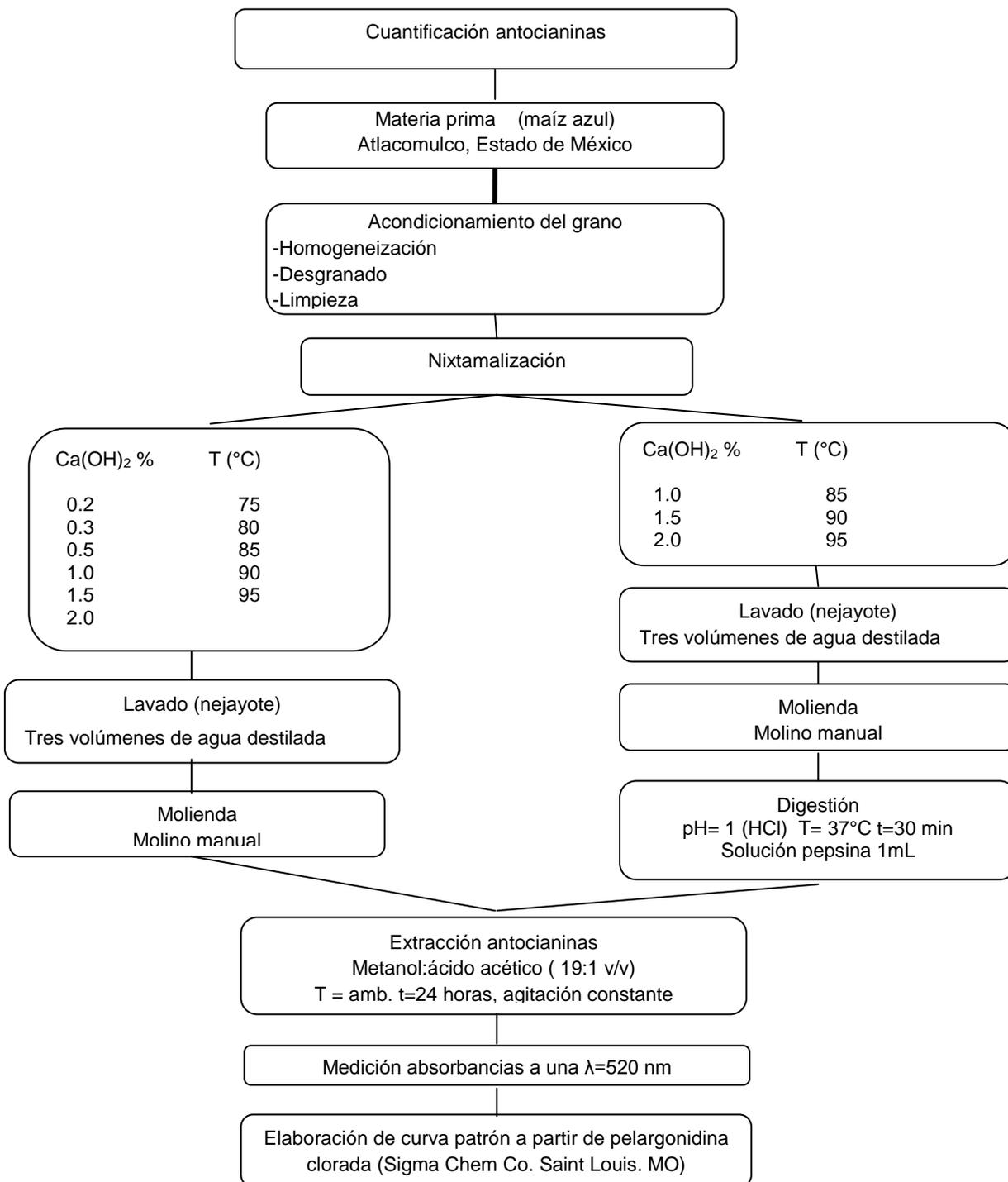


Fig 3.1. Diagrama de bloques de la metodología a seguir

3.1 Acondicionamiento del grano

Las mazorcas de maíz, provenientes de Atlacomulco, México (Moreno-Morales, 2010), se conservaron en refrigeración ($\approx 4-7^{\circ}\text{C}$) en una bolsa de plástico oscura. Se homogeneizó la bolsa de las mazorcas y, al azar, se seleccionaron 60 mazorcas, las cuales se dejaron a temperatura ambiente, en una superficie limpia protegidas de la luz directa y de los insectos por medio de una tela de manta. Después de 24 horas se desgranaron manualmente, se limpiaron colocando el grano en un tamiz malla#10, removiendo manualmente los granos dañados. Al tener los granos limpios se almacenaron en una bolsa de plástico de cierre hermético en refrigeración y se tuvieron listos para la operación de molienda y cribado para obtener partículas de tamaño homogéneo. Para conocer la pérdida de antocianinas en maíz azul, sometido a condiciones similares a las de la nixtamalización, se realizó la extracción, purificación y cuantificación de antocianinas de las harinas de maíz azul crudas (CRUDO). Para evaluar la eficiencia del método de extracción y purificación se le adicionaron 0.0005g del estándar pelargonidina clorada (Sigma Chem Co., Saint Louis MO) (CRUDO P) a la harina cruda de maíz. Estas dos muestras constituyeron el control.

3.2 Diseño experimental

A las muestras que solamente sean sometidas al proceso de nixtamalización y molienda se les dió la clave $H C_n T_n$, donde:

H = Harina de maíz

C_n = Concentración en % de hidróxido de calcio

T_n = Temperatura en $^{\circ}\text{C}$ a un tratamiento dado n

Las muestras que fueron sometidas a digestión, de igual manera pasaron por la nixtamalización, por lo que para identificarlas solamente se les puso la inicial D, de digestión y el número de tratamiento en orden creciente, tal como lo muestra la Tabla 3.1.

Tabla 3.1. Diseño experimental seguido: Concentraciones de cal apagada y temperaturas de cocción usando una proporción agua:grano entero crudo de 3:1

Temperatura, °C	Hidróxido de calcio (% Ca(OH) ₂)						
	0, 0+P	0.2	0.3	0.5	1.0	1.5	2.0
Sin tratamiento	C C+P	x	x	x	x	x	x
75	x	√ H C1 T1	√ H C2 T1	√ H C3 T1	√ H C4 T1	√ H C5 T1	√ H C6 T1
80	x	√ H C1 T2	√ H C2 T2	√ H C3 T2	√ H C4 T2	√ H C5 T2	√ H C6 T2
85	x	√ H C1 T3	√ H C2 T3	√ H C3 T3	√ H C4 T3 D1	√ H C5 T3 D2	√ H C6 T3 D3
90	x	√ H C1 T4	√ H C2 T4	√ H C3 T4	√ H C4 T4 D4	√ H C5 T4 D5	√ H C6 T4 D6
95	x	√ H C1 T5	√ H C2 T5	√ H C3 T5	√ H C4 T5 D7	√ H C5 T5 D8	√ H C6 T5 D9

3.3. Proceso de nixtamalización

Se pesaron 100 g de grano limpio y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 500mL, se adicionaron 300 mL de suspensión de hidróxido de calcio a la concentración correspondiente, se colocaron los matraces en una parrilla de calentamiento en los niveles de 0-10, los cuales después de ser calibrados, se le aplicó el nivel 8 por 90 minutos equivalente a la temperatura de 75°C constante. Pasado el tiempo, se removieron del calor y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente, se colocaron en refrigeración por 24 horas. Se eliminó el agua de cocción (nejayote) por medio de una decantación, se lavaron los granos 3 veces con volúmenes de 300mL de agua destilada (agua de lavado). Durante los lavados se retiraron la piloriza y el pericarpio. Se molieron los granos descascarillados en un molino manual, se tamizaron las muestras de harina y se guardaron en bolsas de cierre hermético (sacando la mayor cantidad posible de aire de cada bolsa), en refrigeración (≈4-7°C), dentro de una bolsa oscura.

3.4 Digestión

Se pesaron 10 mg de las muestras que fueron sometidas a este tratamiento, colocándolos en un frasco de vidrio con tapa, se le adicionaron 10 mL de una solución acidificada con HCl concentrado, agua destilada a pH 1. Se colocaron en

un baño a temperatura constante (37°C) por 30 minutos con agitación constante, se filtró la muestra y se apartó para la siguiente fase.

3.5 Extracción de antocianinas

La metodología usada es una adaptación de la citada en el artículo “Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) boliviano” (Cuevas-Montilla y col., 2008). Se pesaron 50 g de harina de maíz azul nixtamalizado, se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se adicionaron 100 mL de solución metanol:ácido acético (19:1 v/v), agitando por 24 horas. Se filtraron con un embudo de filtración rápida, secando los extractos en la campana a temperatura ambiente por 24 horas. Se almacenaron a temperatura de refrigeración en bolsa de plástico de cierre hermético. Al finalizar este paso, las muestras han perdido su contenido graso, quedando solamente el contenido de hidratos de carbono y las proteínas insolubles.

Para las muestras nixtamalizadas y digeridas se siguió la misma metodología solamente que con cantidades menores. La cantidad de harina de maíz nixtamalizada y digerida restante, es de 8-10mg. Se adicionaron de 20-25 mL de solución metanol:ácido acético (19:1 v/v) , agitando por 24 horas. Se filtraron con un embudo de filtración rápida, secando los extractos en la campana a temperatura ambiente por 24 horas. Se almacenaron a temperatura de refrigeración en bolsa de plástico de cierre hermético. Al finalizar este paso, las muestras han perdido su contenido graso, quedando solamente el contenido de hidratos de carbono y las proteínas insolubles.

3.6 Cuantificación de antocianinas

Se construyeron curvas patrón con el estándar de pelargonidina clorada (Sigma Chem Co., Saint Louis, MO) disuelto en metanol:ácido acético 19:1 v/v en concentraciones de 1 a 18 ppm,(88-1591mg/kg) que eran las esperadas según la literatura consultada. Los extractos que salían de la columna se leían inmediatamente en el espectrofotómetro (Spectronic21D Malton Roy) a 520 nm para evitar posibles pérdidas.

3.7 Análisis estadístico

La nixtamalización fue de una sola muestra (sin réplica), las extracciones se hicieron por triplicado y las mediciones también se realizaron por triplicado, obteniendo los promedios, desviaciones estándar y coeficientes de variación para todos los datos. Para el análisis estadístico se realizó un análisis de varianza, andeva (*ANOVA*, en inglés) y si la hipótesis nula H_0 se rechazaba se usaba el método de la diferencia mínima significativa (*DMS*) (Lara-Porras, 2001, Walpole y col., 2007) mediante un archivo de Excel 2010, dentro de la paquetería de Office (Microsoft, 2010).

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Características de la harina de maíz

Al estar limpio el grano se sometió al diseño experimental de la sección anterior (diferentes concentraciones de hidróxido de calcio y diferentes temperaturas), obteniendo las características particulares para cada muestra (Tabla 4.1). Los datos crudos están en el Anexo I de esta investigación.

Tabla 4.1. Características físicas del nejayote y el harina de maíz

Clave	Muestra	Características
C	Harina cruda	Harina de coloración grisácea
C+P	Harina cruda más estándar pelargonidina	Harina de coloración mayoritaria grisácea
H C1 T1	Harina nixtamalizada 0.2 % Ca(OH) ₂ , 75°C	Pericarpio y pilorriza deben desprenderse manualmente aplicando fuerza, harina de color petróleo (negro-azulado). Nejayote color crema de baja viscosidad, pocos sólidos presentes en él
H C1 T2	Harina nixtamalizada 0.2 % Ca(OH) ₂ , 80°C	Pericarpio y pilorriza deben desprenderse manualmente aplicando fuerza, harina de coloración azul con toques morados. Nejayote color crema de baja viscosidad, pocos sólidos presentes en él
H C1 T3	Harina nixtamalizada 0.2 % Ca(OH) ₂ , 85°C	Pericarpio y pilorriza deben desprenderse manualmente aplicando fuerza, harina de coloración azul. Nejayote color amarillo, empieza a espesarse
H C1 T4	Harina nixtamalizada 0.2 % Ca(OH) ₂ , 90°C	Pericarpio y pilorriza deben desprenderse manualmente aplicando fuerza, harina de coloración morada-azulada. Nejayote color amarillo, hay pérdida de agua y es más espeso
H C1 T5	Harina nixtamalizada 0.2 % Ca(OH) ₂ , 95°C	Pericarpio y pilorriza deben desprenderse manualmente aplicando fuerza, harina de coloración morada. Nejayote color amarillo, hay pérdida de agua y es más espeso
H C2 T1	Harina nixtamalizada 0.3 % Ca(OH) ₂ , 75°C	Pericarpio y pilorriza deben desprenderse manualmente aplicando fuerza menor que en las muestras de concentración 02.% cal, harina de coloración azul con toques morados

H C2 T2	Harina nixtamalizada 0.3 % Ca(OH) ₂ , 80°C	Pericarpio y piloriza deben desprenderse manualmente aplicando fuerza menor que en las muestras de concentración 02.% cal, harina de coloración azul con toques morados
H C2 T3	Harina nixtamalizada 0.3 % Ca(OH) ₂ , 85°C	Pericarpio y piloriza deben desprenderse manualmente aplicando fuerza menor que en las muestras de concentración 02.% cal, harina de coloración azul con toques morados
H C2 T4	Harina nixtamalizada 0.3 % Ca(OH) ₂ , 90°C	Pericarpio y piloriza deben desprenderse manualmente aplicando fuerza menor que en las muestras de concentración 02.% cal, harina de coloración azul con toques morados. Nejayote color amarillo, hay pérdida de agua y es más espeso
H C2 T5	Harina nixtamalizada 0.3 % Ca(OH) ₂ , 95°C	Pericarpio y piloriza deben desprenderse manualmente aplicando fuerza menor que en las muestras de concentración 02.% cal, harina de coloración azul con toques morados. Nejayote color amarillo, hay pérdida de agua y es más espeso
H C3 T1	Harina nixtamalizada 0.5 % Ca(OH) ₂ , 75°C	El pericarpio comienza a desprenderse en los lavados se termina de retirar con fricción, piloriza aún hay que aplicar fuerza. Harina azul con toques morados opacos. Nejayote color crema de baja viscosidad
H C3 T2	Harina nixtamalizada 0.5 % Ca(OH) ₂ , 80°C	El pericarpio comienza a desprenderse en los lavados se termina de retirar con fricción, piloriza aún hay que aplicar fuerza. Harina azul con toques morados y grises. Nejayote color crema de baja viscosidad
H C3 T3	Harina nixtamalizada 0.5 % Ca(OH) ₂ , 85°C	El pericarpio comienza a desprenderse en los lavados se termina de retirar con fricción, piloriza aún hay que aplicar fuerza. Harina azul con toques morados. Nejayote color amarillo de mediana viscosidad
H C3 T4	Harina nixtamalizada 0.5 % Ca(OH) ₂ , 90°C	El pericarpio comienza a desprenderse en los lavados se termina de retirar con fricción, piloriza aún hay que aplicar fuerza. Harina azul-grisácea Nejayote color amarillo mostaza, hay pérdida de agua y es más viscoso
H C3 T5	Harina nixtamalizada 0.5 % Ca(OH) ₂ , 95°C	El pericarpio comienza a desprenderse en los lavados se termina de retirar con fricción, piloriza aún hay que aplicar fuerza. Harina azul-grisácea Nejayote color amarillo mostaza, hay pérdida de agua y es más espeso

H C4 T1	Harina nixtamalizada 1.0 % Ca(OH) ₂ , 75°C	El pericarpio comienza a desprenderse en los lavados se termina de retirar con fricción, pilorriza aún hay que aplicar fuerza. Harina azul con toques morados. Nejayote color crema de mediana viscosidad
H C4 T2	Harina nixtamalizada 1.0 % Ca(OH) ₂ , 80°C	El pericarpio comienza a desprenderse en los lavados se termina de retirar con fricción, pilorriza aún hay que aplicar fuerza. Harina azul con toques morados. Nejayote color amarillo de mediana viscosidad
H C4 T3	Harina nixtamalizada 1.0 % Ca(OH) ₂ , 85°C	El pericarpio comienza a desprenderse en los lavados se termina de retirar con fricción, pilorriza aún hay que aplicar fuerza. Harina azul con toques morados. Nejayote color café-amarillento, de mayor viscosidad
H C4 T4	Harina nixtamalizada 1.0 % Ca(OH) ₂ , 90°C	El pericarpio comienza a desprenderse en los lavados se termina de retirar con fricción, pilorriza aún hay que aplicar fuerza. Harina azul con toques morados. Nejayote color amarillo mostaza, hay pérdida de agua y es más viscoso
H C4 T5	Harina nixtamalizada 1.0 % Ca(OH) ₂ , 95°C	El pericarpio comienza a desprenderse en los lavados se termina de retirar con fricción, pilorriza aún hay que aplicar fuerza. Nejayote amarillo mostaza. Harina azul con toques morados. Nejayote color amarillo, hay pérdida de agua y es más espeso
H C5 T1	Harina nixtamalizada 1.5 % Ca(OH) ₂ , 75°C	Pericarpio se pierde en el nejayote, color crema y de baja viscosidad y, durante los lavados, pilorriza requiere la aplicación de una fuerza menor y, en algunos casos, se desprende sola. Harina color azul verdosa
H C5 T2	Harina nixtamalizada 1.5 % Ca(OH) ₂ , 80°C	Pericarpio es parte del nejayote, que es viscoso, de color café-amarillento y, durante los lavados, pilorriza requiere la aplicación de una fuerza menor y, en algunos casos, se desprende sola. Harina color azul verdosa
H C5 T3	Harina nixtamalizada 1.5 % Ca(OH) ₂ , 85°C	Pericarpio es parte del nejayote, que es viscoso, color amarillo y, durante los lavados, pilorriza requiere la aplicación de una fuerza menor y, en algunos casos, se desprende sola. Harina color azul verdosa
H C5 T4	Harina nixtamalizada 1.5 % Ca(OH) ₂ , 90°C	Pericarpio es parte del nejayote, que es viscoso, color amarillo mostaza y durante los lavados pilorriza requiere la aplicación, de una fuerza menor y en algunos casos se desprende sola. harina color azul verdosa

H C5 T5	Harina nixtamalizada 1.5 % Ca(OH) ₂ , 95°C	Pericarpio es parte del nejayote, que es viscoso, color amarillo mostaza y, durante los lavados, pilorriza requiere la aplicación de una fuerza menor y, en algunos casos, se desprende sola. Harina color azul verdosa
H C6 T1	Harina nixtamalizada 2.0 % Ca(OH) ₂ , 75°C	Pericarpio es parte del nejayote, que es viscoso color amarillo, y durante los lavados, pilorriza requiere la aplicación de una fuerza menor y, en algunos casos, se desprende sola. Harina color azul verdosa
H C6 T2	Harina nixtamalizada 2.0 % Ca(OH) ₂ , 80°C	Pericarpio se pierde en el nejayote, que es viscoso color amarillo-café y, durante los lavados, pilorriza requiere la aplicación de una fuerza menor y, en su mayoría, se desprende sola. Harina color azul verdosa
H C6 T3	Harina nixtamalizada 2.0 % Ca(OH) ₂ , 85°C	Pericarpio se pierde en el nejayote y, durante los lavados, pilorriza requiere la aplicación de una fuerza menor y en su mayoría se desprende sola. Harina color azul verdosa
H C6 T4	Harina nixtamalizada 2.0 % Ca(OH) ₂ , 90°C	Pericarpio es parte del nejayote, que es viscoso, color amarillo mostaza, pilorriza se desprende sola. Harina color verde
H C6 T5	Harina nixtamalizada 2.0 % Ca(OH) ₂ , 95°C	Pericarpio es parte del nejayote, que es viscoso, color desde amarillo mostaza hasta marrón, la pilorriza se desprende sola. Harina color verde

En la Fig. 4.1 muestra el contenido de pelargonidina en las diferentes harinas obtenidas.

En la Fig. 4.2, donde se muestran los porcentajes de pérdida de pelargonidina, la muestra H C6 T5 la que reporta el valor más elevado de pérdida. La variación en la pérdida de pelargonidina puede explicarse porque a las concentraciones medias de cal (0.5-1.5) a temperaturas de 85-95°C, el pericarpio comienza a desprenderse, aunque no por completo, quedando residuos de pericarpio dañado sobre el grano haciendo que, en la cuantificación espectrofotométrica, ya no fuesen detectadas por haberse degradado.

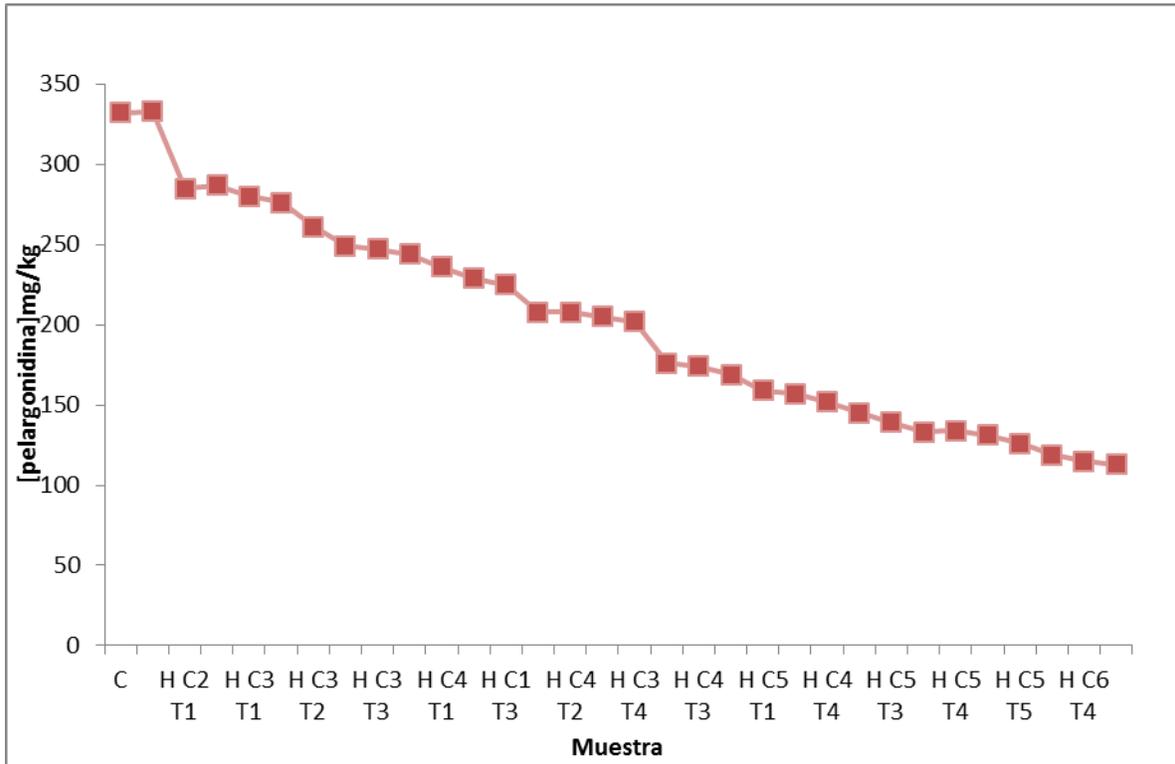


Fig. 4.1. Contenido de pelargonidina en cada tratamiento

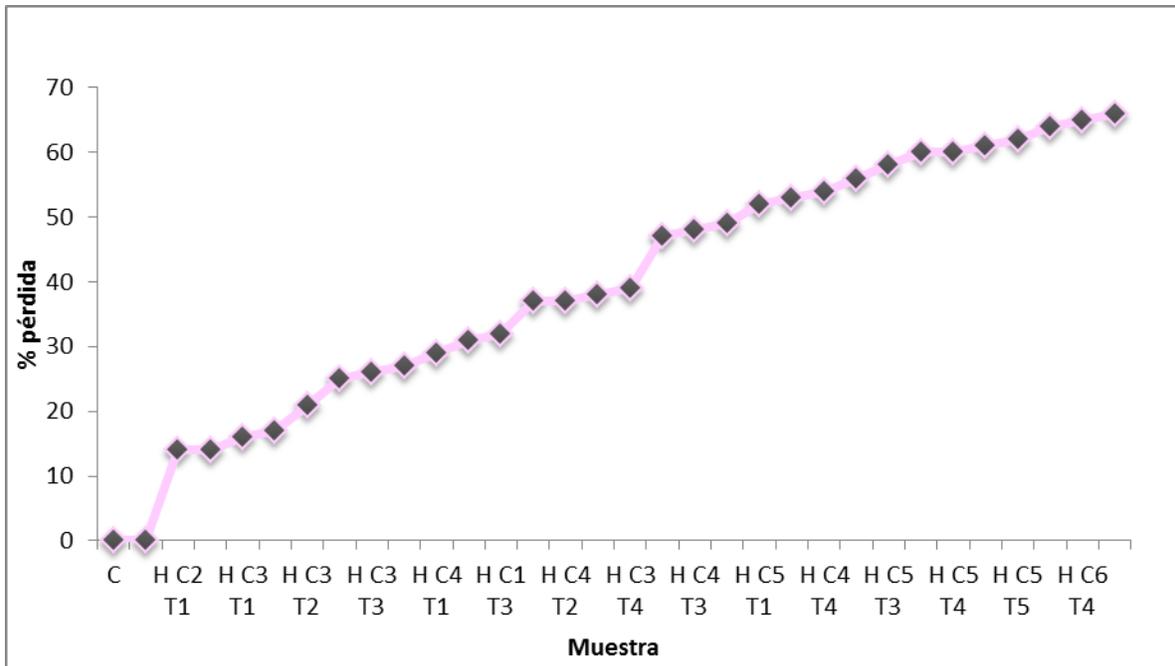


Fig. 4.2. Pérdida del contenido de pelargonidina en porcentaje en función de la muestra control

En condiciones menos adversas se dificultaba la remoción del pericarpio, ya que con las concentraciones bajas de cal no se hidrataron por completo y siguieron adheridos al grano, por lo que al molerlo y extraer las antocianinas permanecieron relativamente intactas las moléculas, lo que contribuyó a la cuantificación de mayores contenidos de pelargonidina.

4.2 Extracción y cuantificación de antocianinas

Los datos de cuantificación de la pelargonidina variaron. Como puede verse en la Fig. 4.1, se encontraban en el intervalo de 0 a 20 ppm, por lo que se considera que las curvas patrón elaboradas fueron correctas. Un ejemplo de una de ellas se presenta en la Fig. 4.3.

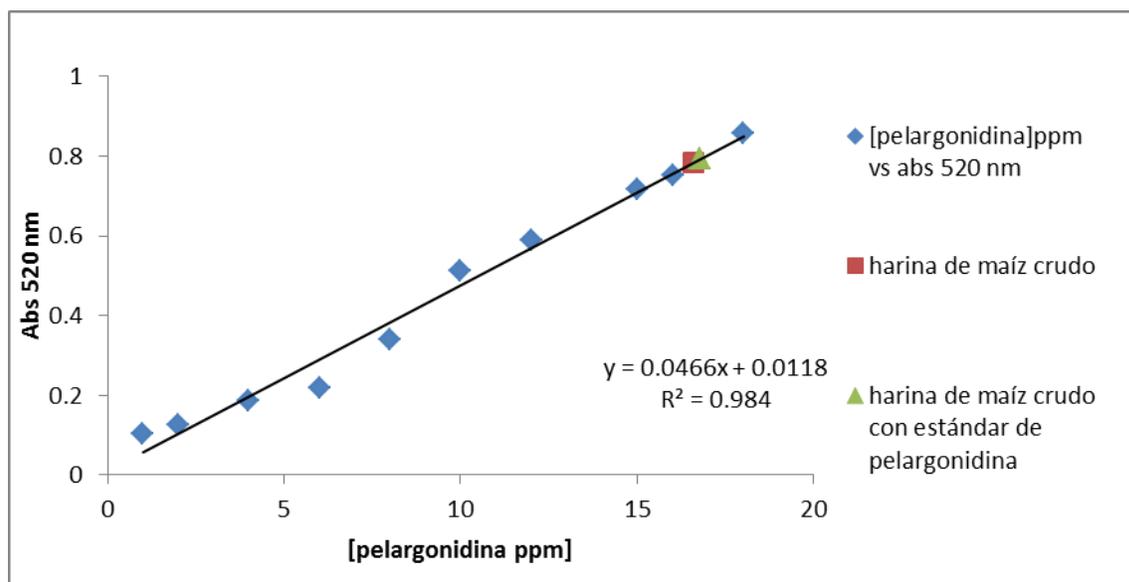
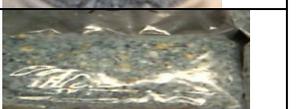


Fig. 4.3. Ejemplo de la curva de calibración empleando el estándar de pelargonidina clorada (Sigma Chem Co., Saint Louis, MO)

La variación del color y viscosidad del nejayote, ambas características observadas visualmente (sin realizar ningún tipo de medición) indican que, a mayor concentración de cal, los componentes del pericarpio (celulosas y hemicelulosas) tienden a hidrolizarse en el medio, haciendo que se espese. Este líquido también

contiene antocianinas que le confieren tonalidades que van desde el café hasta el color mostaza, indicando la descomposición de estas moléculas. Por ello, a las concentraciones y temperaturas más bajas se tienen coloraciones más claras y viceversa (Tabla 4.2). Es importante mencionar que, a las condiciones menos drásticas, el desprendimiento del pericarpio se dificultaba debido a que el pericarpio no se había hidratado a pesar de las 24 horas de reposo.

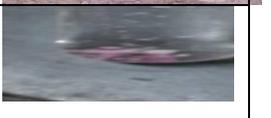
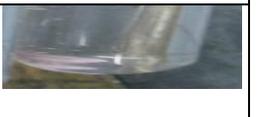
Tabla 4.2. Algunas fotografías de los granos con nejayote, harinas de maíz ya molido y extractos

Clave	Tratamiento	Imagen
C	Ninguna	
C+P	Adición de 0.0005g de pelargonidina clorada (Sigma Chem Co., Saint Louis, MO)	
H C1 T1	Nixtamalización	
H C5 T3	Nixtamalización	
H C1 T1	Harina de maíz azul nixtamalizado y molido	
H C1 T5	Harina de maíz azul nixtamalizado y molido	
H C T4	Harina de maíz azul nixtamalizado y molido	
H C6 T6	Harina de maíz azul nixtamalizado y molido	
H C1 T1	Extracto (harina de maíz azul nixtamalizado, molido y sometido a extracción con metanol:ácido acético, 19:1 v/v)	
H C6 T5	Extracto (harina de maíz azul nixtamalizado, molido y sometido a extracción con metanol:ácido acético, 19:1 v/v)	

4.3 Características de la digestión

Posterior a la nixtamalización algunas de las muestras fueron sometidas a la digestión; ya que se considera que al ser sometidas a las condiciones menos favorables para la pelargonidina, éstas sufrirían más daño en su estructura y se vería afectado en mayor proporción su contenido de pelargonidina (Tabla 4.3). Al ser sometidas a un pH ácido en presencia de la pepsina, se esperaba una estabilización de la pelargonidina, su coloración se tornaba rosa y se mantenía por más tiempo.

Tabla 4.3. Fotografías de la harina de maíz digerida

Clave	Tratamiento	Imagen
C	Ninguno	
C+P	Adición de 0.0005g de pelargonidina clorada (Sigma Chem Co., Saint Louis, MO)	
D1	1.0 % Ca(OH) ₂ 85°C, muestra sometida a digestión en una solución pH 1, con pepsina acidificada con HCl, sometida a 37°C por 45 min	
D3	2.0 % Ca(OH) ₂ 85°C, muestra sometida a digestión en una solución a pH 1, con pepsina acidificada con HCl, sometida a 37 °C por 45 min	
D4	1.0 % Ca(OH) ₂ 90°C, muestra sometida a digestión en una solución pH 1, con pepsina acidificada con HCl, sometida a 37°C por 45 min	
D5	1.5 % Ca(OH) ₂ 90°C, muestra sometida a digestión en una solución pH 1, con pepsina acidificada con HCl, sometida a 37°C por 45 min	
D6	2.0 % Ca(OH) ₂ 90°C, muestra sometida a digestión en una solución pH 1, con pepsina acidificada con HCl, sometida a 37°C por 45 min	
D7	1.0 % Ca(OH) ₂ 95°C, muestra sometida a digestión en una solución pH 1, con pepsina acidificada con HCl, sometida a 37°C por 45 min	
D8	1.5 % Ca(OH) ₂ 95°C, muestra sometida a digestión en una solución pH 1, con pepsina acidificada con HCl, sometida a 37°C por 45 min	
D9	2.0 % Ca(OH) ₂ 95°C, muestra sometida a digestión en una solución pH 1, con pepsina acidificada con HCl, sometida a 37°C por 45 min	

4.4 Análisis estadístico

En esta parte se analizaron los resultados de manera estadística. Inicialmente, se vieron los datos de la nixtamalización y molienda; posteriormente, los de la digestión y, por último, se compararon entre ellos. Como se mencionó en la metodología, el análisis se basó a la bibliografía estadística disponible (Lara-Porras, 2001, Walpole y col., 2007) y con ayuda del programa *Excel* de la paquetería de *Office*.

4.4.1 Extracción y cuantificación de antocianinas después de la nixtamalización

La Tabla 4.4 muestra los análisis de varianza de los contenidos de pelargonidina de las muestras estudiadas. Considerando las hipótesis nula H_0 y H_a , de que el contenido promedio de antocianinas es igual en todas las muestras (H_0) y H_a , indica que sí hay diferencia entre las muestras, por ambos efectos, consideradas al 95% de significancia.

Tabla 4.4. Análisis de varianza, andeva (ANOVA, en inglés) del contenido promedio de pelargonidina en las muestras nixtamalizadas a diferentes condiciones

F.V.	G.L.	S.C.	CM	Fo	$_{0.05}F_{(T)}$	
A: Concentración	5	23600	16157	57.7	4.56	$_{0.05}F_{(5,20)}$
B: Temperatura	4	64627	4720	16.9	5.80	$_{0.05}F_{(4,20)}$
Interacción						
AB	20	5604	280			
Residuo	0	0				
Total corregido	29	93831				

F.V., factor de variación; G.L., Grados de libertad; S.C., suma de cuadrados; CM, cuadrado medio, F_0 y $_{0.05}F_{(T)}$, valores estadísticos

Los valores F_0 prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que los valores- F_0 son mayores que el valor de $_{0.05}F_{(T)}$, los factores ó interacciones tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de pelargonidina (mg/kg) con un 95.0% de nivel de confianza.

Realizando el análisis de las diferencias mínimas significativas (DMS), para determinar si existen diferencias entre las muestras se obtuvieron los datos de la Tabla 4.5. Se observa que la diferencia mínima significativa se da entre los datos a partir de las muestras obtenidas con la temperatura de 80 y 90°C. Son estas temperaturas altas y como se reportaban en la hipótesis afectan el contenido de

pelargonidina. Al igual que para las concentraciones de cal apagada, en cuanto se inició el proceso de incremento, se afecta significativamente el contenido de pelargonidina (Salinas-Moreno y col., 2003).

Tabla 4.5. Diferencia mínima significativa, DMS, entre las medias de las temperaturas

Operación	Diferencia		DMS	Conclusión
T1-T2	-9.0	<	18.3	Son equivalentes
T1-T3	-231.8	<	18.3	Son equivalentes
T1-T4	-140.6	<	18.3	Son equivalentes
T1-T5	-127.0	<	18.3	Son equivalentes
T2-T3	11.2	<	18.3	Son equivalentes
T2-T4	102.4	>	18.3	Son diferentes
T2-T5	116.0	>	18.3	Son diferentes
T3-T4	91.2	>	18.3	Son diferentes
T3-T5	104.8	>	18.3	Son diferentes
T4-T5	13.6	>	18.3	Son diferentes

Tabla 4.6. Diferencia mínima significativa, DMS, entre las medias de las concentraciones

Operación	Diferencia		DMS	Conclusión
C1-C2	-9	<	16.7	Son equivalentes
C1-C3	2	<	16.7	Son equivalentes
C1-C4	53	>	16.7	Son diferentes
C1-C5	93	>	16.7	Son diferentes
C1-C6	107	>	16.7	Son diferentes
C2-C3	11	<	16.7	Son equivalentes
C2-C4	62	>	16.7	Son diferentes
C2-C5	102	>	16.7	Son diferentes
C2-C6	116	>	16.7	Son diferentes
C3-C4	51	>	16.7	Son diferentes
C3-C5	91	>	16.7	Son diferentes
C3-C6	105	>	16.7	Son diferentes
C4-C5	40	>	16.7	Son diferentes
C4-C6	54	>	16.7	Son diferentes
C5-C6	14	<	16.7	Son equivalentes

4.4.2 Extracción y cuantificación antocianinas después de la digestión

La Tabla 4.7 muestra los análisis de varianza de los contenidos de pelargonidina de las muestras estudiadas. Considerando las hipótesis nula H_0 y H_a , de que el contenido promedio de antocianinas es igual en todas las muestras (H_0) y H_a , los resultados indican que sí hay diferencia entre las muestras, por ambos efectos, consideradas al 95% de significancia.

Tabla 4.7. Análisis de varianza, andeva (ANOVA, en inglés) del contenido promedio de pelargonidina en las muestras nixtamalizadas y sometidas a un proceso de digestión

F. V.	G.L.	S.C.	CM	Fo	$_{0.05}F(T)$	
A:Concentración	2	3113.9	1556.95	0.64	19.45	$_{0.05}F(2,4)$
B: Temperatura	2	11011.0	5505.5	2.25	19.46	$_{0.05}F(2,4)$
Interacciones						
AB	4	9791.13	2447.78			
Residuos	0	0				
Total corregido	8	23916.0				

F.V., factor de variación; G.L., Grados de libertad; S.C., suma de cuadrados; CM, cuadrado medio, Fo y $_{0.05}F(T)$, valores estadísticos

Los valores Fo prueban la significancia estadística de cada uno de los factores en estudio. Puesto que ninguno de los valores-Fo es mayor que el valor de $_{0.05}F(T)$, los factores ó interacciones no tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de pelargonidina (mg/kg) con un 95.0% de nivel de confianza.

Las muestras de harina de maíz sometidas a diferentes condiciones de nixtamalización fueron diferentes significativamente al ser evaluadas con el análisis de varianza, andeva (ANOVA por sus siglas en inglés). Después, una vez digeridas, ya no muestran una diferencia significativa en la concentración de pelargonidina (mg/kg) entre ellas, mostrando que este paso no afecta de manera significativa el contenido de pelargonidina.

4.4.3 Comparación entre el efecto de la nixtamalización y de la digestión

La Tabla 4.8 muestra los análisis de varianza de los contenidos de pelargonidina comparando las muestras estudiadas, sin digestión y con digestión. Considerando las hipótesis nula Ho y Ha, de que el contenido promedio de antocianinas es igual en todas las muestras (Ho) y Ha, que indica que sí hay diferencia entre las muestras, por ambos efectos (nixtamalización y digestión), consideradas al 95% de significancia (Lara-Porras, 2001, Walpole y col., 2007).

Tabla 4.8. Análisis de varianza, andeva (ANOVA, en inglés) comparando el contenido promedio de pelargonidina en las muestras solamente nixtamalizadas y las que además fueron sometidas a un proceso de digestión

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fo	$0.05F_{(T)}$	
A: Digestión	1	718474	718474	0.85	5.3176	$0.05F_{(1,8)}$
B: Tratamiento (pH y T)	8	3972885	496611	0.59	3.4381	$0.05F_{(8,8)}$
Interacciones						
AB	8	67060473	845059			
Residuos	0	0	0			
Total	17	11451832	2060143			

F.V., factor de variación; G.L., Grados de libertad; S.C., suma de cuadrados; CM, cuadrado medio, Fo y $0.05F_{(T)}$, valores estadísticos

Los valores Fo prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que ninguno de los valores-Fo es mayor que el valor de $0.05F_{(T)}$, los factores o interacciones no tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de pelargonidina (mg/kg) con un 95.0% de nivel de confianza.

La hipótesis nula es aceptada, es decir que el contenido de antocianinas no se ve afectado por la digestión. En la Fig. 4.4 se observa que el contenido de pelargonidina es mayor para las muestras digeridas. Esto habla de que el pH ácido del estómago estabiliza a la pelargonidina permitiendo su mayor cuantificación, sin ser diferente de manera estadísticamente significativa.

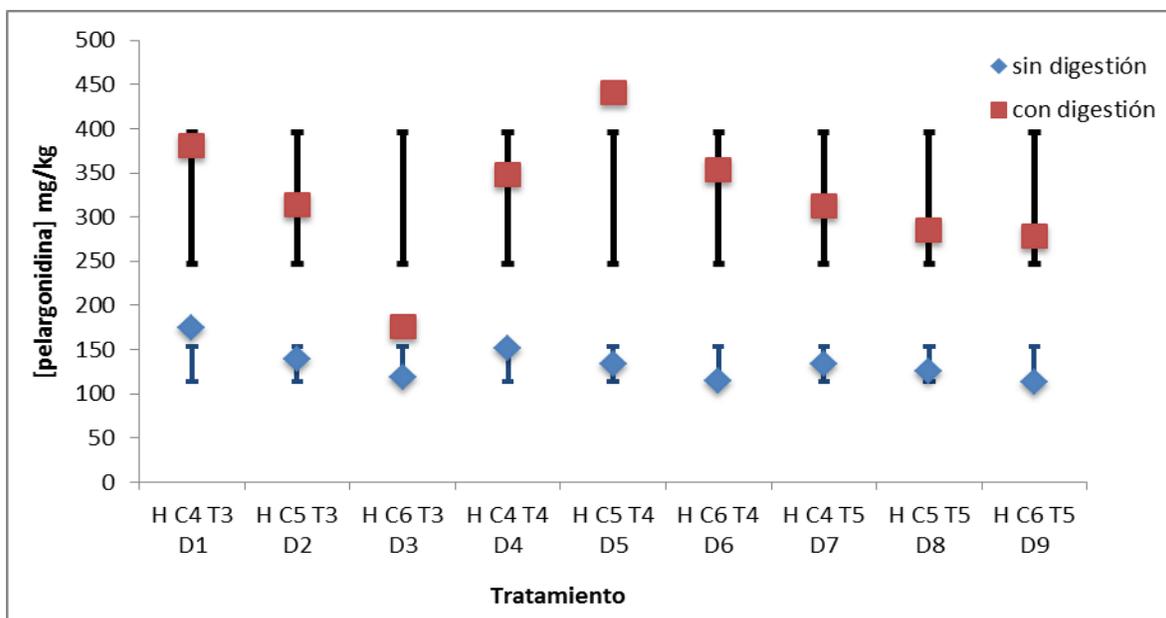


Fig. 4.4. Efecto de la digestión en el contenido de pelargonidina (mg/kg) de las muestras

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

De acuerdo con el objetivo general, los objetivos particulares y la hipótesis planteada en esta investigación, a continuación se dan las conclusiones derivadas de la investigación realizada.

Considerando el objetivo general sobre la evaluación de los efectos de la adición de calor y cal a una antocianina, la pelargonidina, puede decirse que la aplicación de altas temperaturas y altas concentraciones de cal apagada disminuyen el contenido de pelargonidina presente en el grano de maíz azul, como se planteó en la hipótesis que señalaba que la concentración de pelargonidina en los granos de maíz azul disminuye en relación con el aumento de la concentración de hidróxido de calcio y la temperatura de cocción. Quedó demostrado con esta investigación experimental que, si realmente se desean obtener productos de buena calidad desde el punto de vista molinero-tortillero, el contenido de pelargonidina se verá afectado.

Las concentraciones de hidróxido de calcio y la temperatura en donde existió la menor pérdida de pelargonidina en comparación con el control fueron:

Concentración $\text{Ca}(\text{OH})_2$	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
1	85
2	85

La cuantificación de las concentraciones de pelargonidina, posteriormente a ser sometidas a condiciones similares a la digestión, los experimentos preliminares simulando la digestión estomacal *in vitro* indicaron que, en cambio, este proceso no afecta de manera significativa el contenido de pelargonidina presente en el grano de maíz azul.

Muy probablemente, como se indica en la literatura consultada ésta pudiera ser una de las razones para que las antocianinas de productos frescos, como las fresas y otros frutos, son benéficos para la salud (Garzón y Wrolstad, 2002, Garzón, 2008; Ghiselli y col., 1998; Hagiwara y col., 2002; Joseph y col., 1999; Kamei y col., 1998; Koide y col., 1997; Kong y col., 2003, Ohgami y col., 2005; Paustenbach, 2000, Perossini y col., 1987; Shukitt-Hale y col., 2005; St. Leger y col., 1979; Tristan y col., 2005; Tristan y col., 2008; Vuorela y col., 2005; Wang y Jiao, 2000, Wang y Lin, 2000; Wang y Mazza, 2002; Xia y col., 1998).

5.2. Recomendaciones

Se recomienda para futuras investigaciones continuar con las condiciones favorables obtenidas durante la investigación presente (concentraciones y temperaturas bajas), investigando si la masa sirve para formar tortillas y sometiéndolas a una evaluación sensorial para verificar su aceptación.

Además, será importante realizar un ensayo biológico viendo si el efecto benéfico de la pelargonidina se ve afectado.

A N E X O S

Anexo I

Datos experimentales de contenido de pelargonidina (mg/kg) y su pérdida con respecto al control

Tabla A.1. Datos experimentales del contenido de pelargonidina (mg/kg) y la pérdida con respecto al control

Clave	Contenido de pelargonidina, mg/kg	% pérdida con respecto a C
C	332±1.9	0
C+P	333±1.5	0
H C1 T1	287±0.4	14
H C1 T2	244±0.7	27
H C1 T3	225±1.1	32
H C1 T4	208±1.0	37
H C1 T5	205±0.4	38
H C2 T1	285± 0.4	14
H C2 T2	276±1.4	17
H C2 T3	249±1.3	25
H C2 T4	229±1.7	31
H C2 T5	176±0.7	47
H C3 T1	280±0.5	16
H C3 T2	261±0.5	21
H C3 T3	247±2.1	26

H C3 T4	202±1.8	39
H C3 T5	169±2.3	49
H C4 T1	236±1.4	29
H C4 T2	208±0.8	37
H C4 T3	174±1.3	48
H C4 T4	152±2.6	54
H C4 T5	133±2.2	60
H C5 T1	159±0.3	52
H C5 T2	145±0.2	56
H C5 T3	139±0.9	58
H C5 T4	134±0.9	60
H C5 T5	126±2.5	62
H C6 T1	157±1.8	53
H C6 T2	131±1.4	61
H C6 T3	119±1.6	64
H C6 T4	115±0.3	65
H C6 T5	113±1.2	66

ANEXO II

CÁLCULO DE LAS CONCENTRACIONES DE ANTOCIANINAS EN LAS MUESTRAS CONTROL

La Tabla A.2 muestra los valores de absorbancia, concentración de pelargonidina en ppm y en mg/kg, gramos de muestra y volumen de solución en mL analizados, para cada muestra y sus repeticiones, así como el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación, de las harinas de maíz crudo, C (Tabla A.2) y adicionado con pelargonidina clorada (Sigma Chem Co., Saint Louis, MO) (Tabla A.2).

Tabla A.2. Datos de harina de maíz crudo, C

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
C1	0.786	16.6137	20	1.0001	332
C2	0.780	16.4850	20	1.0000	330
C3	0.789	16.6781	20	1.0005	333
Promedio	0.785	16.5923	20	1.0002	332
σ	0.005	0.0983	0	0.0003	1.891
C. V.	0.006	0.006	0.000	0.000	0.006

Tabla A.3. Datos de harina de maíz crudo adicionado con pelargonidina clorada
(Sigma Chem Co., Saint Louis, MO), C+P

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
C+P1	0.797	16.8498	20	1.0098	334
C+P2	0.795	16.8069	20	1.0095	333
C+P3	0.790	16.6996	20	1.0093	331
Promedio	0.794	16.7854	20	1.0095	333
Σ	0.004	0.0774	0	0.0003	1.456
C. V.	0.005	0.005	0.000	0.000	0.004

ANEXO III

CÁLCULO DE LAS CONCENTRACIONES DE ANTOCIANINAS EN LAS MUESTRAS NIXTAMALIZADAS, ANTES DE LA DIGESTIÓN

En la Tabla A.4 se muestran los valores obtenidos de absorbancia, concentración, de pelargonidina en ppm, en mg/kg, gramos de muestra y volumen de solución analizada, para cada muestra y sus repeticiones así como el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación

Tabla A.4. Absorbancia, concentración de pelargonidina en ppm, en mg/kg, gramos de muestra y volumen, con promedio, desviación estándar y coeficiente de variación

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C1 T1 1	0.682	14.3820	20	1.0006	287
H C1 T1 2	0.681	14.3605	20	1.0006	287
H C1 T1 3	0.680	14.3391	20	1.0005	287
Promedio	0.681	14.3605	20	1.0006	287
Σ	0.001	0.0215	0	0.0001	0.415
C. V.	0.001	0.001	0.000	0.000	0.001
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C1 T2 1	0.584	12.2790	20	1.0097	243
H C1 T2 2	0.585	12.3004	20	1.0097	244
H C1 T2 3	0.587	12.3433	20	1.0095	245
Promedio	0.585	12.3076	20	1.0096	244
Σ	0.002	0.0328	0	0.0001	0.676
C. V.	0.003	0.003	0.000	0.000	0.003

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C1 T3 1	0.537	11.2704	20	1.0008	225
H C1 T3 2	0.533	11.1845	20	1.0007	224
H C1 T3 3	0.538	11.2918	20	1.0008	226
Promedio	0.536	11.2489	20	1.0008	225
Σ	0.003	0.0568	0	0.0001	1.122
C. V.	0.005	0.005	0.000	0.000	0.005
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C1 T4 1	0.502	10.5193	20	1.0088	209
H C1 T4 2	0.497	10.4120	20	1.0085	206
H C1 T4 3	0.500	10.4764	20	1.0087	208
Promedio	0.500	10.4692	20	1.0087	208
Σ	0.003	0.0540	0	0.0002	1.040
C. V.	0.005	0.005	0.000	0.000	0.005
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C1 T5 1	0.489	10.2403	20	1.0013	205
H C1 T5 2	0.487	10.1974	20	1.0013	204
H C1 T5 3	0.488	10.2189	20	1.0012	204
Promedio	0.488	10.2189	20	1.0013	204
Σ	0.001	0.0215	0	0.0001	0.429
C. V.	0.002	0.002	0.000	0.000	0.002

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C2 T1 1	0.677	14.2747	20	1.0001	285
H C2 T1 2	0.677	14.2747	20	1.0000	285
H C2 T1 3	0.679	14.3176	20	1.0007	286
Promedio	0.678	14.2890	20	1.0003	286
Σ	0.001	0.0248	0	0.0004	0.388
C. V.	0.002	0.002	0.000	0.000	0.001
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C2 T2 1	0.654	13.7811	20	1.0028	275
H C2 T2 2	0.660	13.9099	20	1.002	278
H C2 T2 3	0.657	13.8455	20	1.0025	276
Promedio	0.657	13.8455	20	1.0024	276
Σ	0.003	0.0644	0	0.0004	1.395
C. V.	0.005	0.005	0.000	0.000	0.005
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C2 T3 1	0.590	12.4077	20	1.0007	248
H C2 T3 2	0.596	12.5365	20	1.0009	251
H C2 T3 3	0.592	12.4506	20	1.001	249
Promedio	0.593	12.4649	20	1.0009	249
Σ	0.003	0.0656	0	0.0002	1.292
C. V.	0.005	0.005	0.000	0.000	0.005

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C2 T4 1	0.544	11.4206	20	1.0007	228
H C2 T4 2	0.541	11.3562	20	1.0007	227
H C2 T4 3	0.549	11.5279	20	1.0006	230
Promedio	0.545	11.4349	20	1.0007	229
Σ	0.004	0.0867	0	0.0001	1.746
C. V.	0.007	0.008	0.000	0.000	0.008
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C2 T5 1	0.422	8.8026	20	1.0007	176
H C2 T5 2	0.425	8.8670	20	1.0007	177
H C2 T5 3	0.423	8.8240	20	1.001	176
Promedio	0.423	8.8312	20	1.0008	176
Σ	0.002	0.0328	0	0.0002	0.662
C. V.	0.004	0.004	0.000	0.000	0.004
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C3 T1 1	0.664	13.9957	20	1.002	279
H C3 T1 2	0.665	14.0172	20	1.0023	280
H C3 T1 3	0.667	14.0601	20	1.0029	280
Promedio	0.665	14.0243	20	1.0024	280
Σ	0.002	0.0328	0	0.0005	0.526
C. V.	0.002	0.002	0.000	0.000	0.002

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C3 T2 1	0.620	13.0515	20	1.002	261
H C3 T2 2	0.622	13.0944	20	1.0024	261
H C3 T2 3	0.622	13.0944	20	1.0025	261
Promedio	0.621	13.0801	20	1.0023	261
Σ	0.001	0.0248	0	0.0003	0.427
C. V.	0.002	0.002	0.000	0.000	0.002
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C3 T3 1	0.594	12.4936	20	1.0065	248
H C3 T3 2	0.592	12.4506	20	1.0067	247
H C3 T3 3	0.585	12.3004	20	1.0075	244
Promedio	0.590	12.4149	20	1.0069	247
Σ	0.005	0.1014	0	0.0005	2.143
C. V.	0.008	0.008	0.000	0.001	0.009
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C3 T4 1	0.513	10.7554	20	1.068	201
H C3 T4 2	0.510	10.6910	20	1.0689	200
H C3 T4 3	0.519	10.8841	20	1.0692	204
Promedio	0.514	10.7768	20	1.0687	202
Σ	0.005	0.0983	0	0.0006	1.794
C. V.	0.009	0.009	0.000	0.001	0.009

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C3 T5 1	0.416	8.6738	20	1.032	168
H C3 T5 2	0.413	8.6094	20	1.0327	167
H C3 T5 3	0.424	8.8455	20	1.0329	171
Promedio	0.418	8.7096	20	1.0325	169
Σ	0.006	0.1220	0	0.0005	2.329
C. V.	0.014	0.014	0.000	0.000	0.014
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C4 T1 1	0.576	12.1073	20	1.0252	236
H C4 T1 2	0.579	12.1717	20	1.0257	237
H C4 T1 3	0.572	12.0215	20	1.0248	235
Promedio	0.576	12.1001	20	1.0252	236
Σ	0.004	0.0754	0	0.0005	1.368
C. V.	0.006	0.006	0.000	0.000	0.006
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C4 T2 1	0.498	10.4335	20	1.004	208
H C4 T2 2	0.495	10.3691	20	1.0037	207
H C4 T2 3	0.499	10.4549	20	1.0042	208
Promedio	0.497	10.4192	20	1.0040	208
Σ	0.002	0.0447	0	0.0003	0.839
C. V.	0.004	0.004	0.000	0.000	0.004

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C4 T3 1	0.431	8.9957	20	1.0383	173
H C4 T3 2	0.429	8.9528	20	1.038	173
H C4 T3 3	0.435	9.0815	20	1.0379	175
Promedio	0.432	9.0100	20	1.0381	174
Σ	0.003	0.0656	0	0.0002	1.278
C. V.	0.007	0.007	0.000	0.000	0.007
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C4 T4 1	0.364	7.5579	20	1.0012	151
H C4 T4 2	0.360	7.4721	20	1.0009	149
H C4 T4 3	0.372	7.7296	20	1.0015	154
Promedio	0.365	7.5866	20	1.0012	152
Σ	0.006	0.1311	0	0.0003	2.574
C. V.	0.017	0.017	0.000	0.000	0.017
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C4 T5 1	0.322	6.6567	20	1.0019	133
H C4 T5 2	0.327	6.7639	20	1.0017	135
H C4 T5 3	0.317	6.5494	20	1.0021	131
Promedio	0.322	6.6567	20.0000	1.0019	133
Σ	0.005	0.1073	0.0000	0.0002	2.168
C. V.	0.016	0.016	0.000	0.000	0.016

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C5 T1 1	0.384	7.9871	20	1.0071	159
H C5 T1 2	0.385	8.0086	20	1.0072	159
H C5 T1 3	0.384	7.9871	20	1.0077	159
Promedio	0.384	7.9943	20	1.0073	159
Σ	0.001	0.0124	0	0.0003	0.268
C. V.	0.002	0.002	0.000	0.000	0.002
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C5 T2 1	0.349	7.2361	20	1.0011	145
H C5 T2 2	0.350	7.2575	20	1.0015	145
H C5 T2 3	0.350	7.2575	20	1.0015	145
Promedio	0.350	7.2504	20	1.0014	145
Σ	0.001	0.0124	0	0.0002	0.214
C. V.	0.002	0.002	0.000	0.000	0.001
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C5 T3 1	0.333	6.8927	20	0.9986	138
H C5 T3 2	0.337	6.9785	20	0.9991	140
H C5 T3 3	0.336	6.9571	20	0.999	139
Promedio	0.335	6.9428	20	0.9989	139
Σ	0.002	0.0447	0	0.0003	0.858
C. V.	0.006	0.006	0.000	0.000	0.006

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C5 T4 1	0.327	6.7639	20	1.0074	134
H C5 T4 2	0.330	6.8283	20	1.009	135
H C5 T4 3	0.325	6.7210	20	1.0067	134
Promedio	0.327	6.7711	20	1.0077	134
Σ	0.003	0.0540	0	0.0012	0.915
C. V.	0.008	0.008	0.000	0.001	0.007
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C5 T5 1	0.304	6.2704	20	0.9974	126
H C5 T5 2	0.312	6.4421	20	1	129
H C5 T5 3	0.300	6.1845	20	0.999	124
Promedio	0.305	6.2990	20	0.9988	126
Σ	0.006	0.1311	0	0.0013	2.536
C. V.	0.020	0.021	0.000	0.001	0.020
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C6 T1 1	0.377	7.8369	20	0.9988	157
H C6 T1 2	0.371	7.7082	20	0.9977	155
H C6 T1 3	0.380	7.9013	20	0.9997	158
Promedio	0.376	7.8155	20	0.9987	157
Σ	0.005	0.0983	0	0.0010	1.814
C. V.	0.012	0.013	0.000	0.001	0.012

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C6 T2 1	0.318	6.5708	20	1.0064	131
H C6 T2 2	0.315	6.5064	20	1.006	129
H C6 T2 3	0.322	6.6567	20	1.0071	132
Promedio	0.318	6.5780	20	1.0065	131
Σ	0.004	0.0754	0	0.0006	1.425
C. V.	0.011	0.011	0.000	0.001	0.011
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C6 T3 1	0.292	6.0129	20	1.004	120
H C6 T3 2	0.295	6.0773	20	1.0054	121
H C6 T3 3	0.287	5.9056	20	1.0039	118
Promedio	0.291	5.9986	20	1.0044	119
Σ	0.004	0.0867	0	0.0008	1.646
C. V.	0.014	0.014	0.000	0.001	0.014
muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C6 T4 1	0.281	5.7768	20	1.0046	115
H C6 T4 2	0.280	5.7554	20	1.0046	115
H C6 T4 3	0.281	5.7768	20	1.0044	115
Promedio	0.281	5.7697	20	1.0045	115
Σ	0.001	0.0124	0	0.0001	0.254
C. V.	0.002	0.002	0.000	0.000	0.002

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
H C6 T5 1	0.275	5.6481	20	1.0057	112
H C6 T5 2	0.275	5.6481	20	1.0058	112
H C6 T5 3	0.280	5.7554	20	1.0061	114
Promedio	0.277	5.6838	20.0000	1.0059	113
Σ	0.003	0.0619	0.0000	0.0002	1.209
C. V.	0.010	0.011	0.000	0.000	0.011

ANEXO IV

CÁLCULO DE LAS CONCENTRACIONES DE ANTOCIANINAS EN LAS MUESTRAS NIXTAMALIZADAS SOMETIDAS A LA DIGESTIÓN

Tabla A.5. Absorbancia, concentración de pelargonidina en ppm, en mg/kg, gramos de muestra y volumen con promedio, desviación estándar y coeficiente de variación en muestras digeridas

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
D1	0.650	0.0379	11.00	0.01	379.31
D1	0.650	0.0379	10.00	0.01	379.31
D1	0.660	0.0384	20.00	0.01	383.85
Promedio	0.653	0.0381	13.67	0.01	380.82
C. V.	0.009	0.0069	0.40	0.00	0.01
Σ	0.006	0.0003	5.51	0.00	2.62
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
D2	0.510	0.0316	20.00	0.01	315.71
D2	0.580	0.0348	10.00	0.01	347.51
D2	0.650	0.0379	25.00	0.01	379.31
Promedio	0.580	0.0348	18.33	0.01	347.51
C. V.	0.121	0.0915	0.42	0.00	0.09
Σ	0.070	0.0032	7.64	0.00	31.80

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
D3	0.660	0.0384	21.00	0.01	383.85
D3	0.340	0.0238	10.00	0.01	238.48
D3	0.510	0.0316	15.00	0.01	315.71
Promedio	0.503	0.0313	15.33	0.01	312.68
C. V.	0.318	0.2326	0.36	0.00	0.23
Σ	0.160	0.0073	5.51	0.00	72.73
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
D4	0.390	0.0261	14.00	0.01	261.20
D4	0.250	0.0198	10.00	0.01	197.60
D4	0.880	0.0484	21.00	0.01	483.79
Promedio	0.507	0.0314	15.00	0.01	314.19
C. V.	0.653	0.4783	0.37	0.00	0.48
Σ	0.331	0.0150	5.57	0.00	150.28
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
D5	0.690	0.0397	20.00	0.01	397.48
D5	0.770	0.0434	10.00	0.01	433.82
D5	0.900	0.0493	19.00	0.01	492.88
Promedio	0.787	0.0441	16.33	0.01	441.39
C. V.	0.135	0.1091	0.34	0.00	0.11
Σ	0.106	0.0048	5.51	0.00	48.15

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
D6	0.310	0.0225	12.50	0.01	224.85
D6	0.880	0.0484	10.00	0.01	483.79
D6	0.135	0.0145	11.00	0.01	145.35
Promedio	0.442	0.0285	11.17	0.01	284.67
C. V.	0.882	0.6217	0.11	0.00	0.62
Σ	0.390	0.0177	1.26	0.00	176.97
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
D7	0.136	0.0146	17.00	0.01	145.81
D7	0.330	0.0234	10.00	0.01	233.94
D7	0.140	0.0148	15.00	0.01	147.63
Promedio	0.202	0.0176	14.00	0.01	175.79
C. V.	0.549	0.2865	0.26	0.00	0.29
Σ	0.111	0.0050	3.61	0.00	50.37
Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
D8	0.670	0.04	20.00	0.01	388.39
D8	0.340	0.02	10.00	0.01	238.48
D8	0.770	0.04	20.00	0.01	0.04
Promedio	0.593	0.0354	16.67	0.01	208.97
C. V.	0.379	0.2891	0.35	0.00	0.94
Σ	0.225	0.0102	5.77	0.00	195.85

Muestra	Abs	[pelargonidina] ppm	Agua mL	Muestra g	[pelargonidina]mg/kg
D9	0.470	0.03	15.00	0.01	297.54
D9	0.320	0.02	10.00	0.01	228.45
D9	0.500	0.03	12.00	0.01	311.17
Promedio	0.430	0.0279	12.33	0.01	279.05
C. V.	0.224	0.1589	0.20	0.00	0.16
Σ	0.096	0.0044	2.52	0.00	44.35

ANEXO V

CURVAS DE CALIBRACIÓN

Las siguientes tablas muestran las curvas de calibración realizadas.

Tabla A.6. Curva de calibración 1

[pelargonidina]ppm	Abs 520 nm
1	0.103
2	0.126
4	0.186
6	0.218
8	0.341
10	0.511
12	0.589
15	0.718
16	0.753
18	0.859

Tabla A.7. Curva de calibración 2

[pelargonidina]ppm	Abs 520 nm
1	81
2	97
5	209
7	321
10	466
13	601
15	682
19	856
20	942

Tabla A.8. Curva de calibración 3

[pelargonidina]ppm	Abs 520 nm
1	77
2	95
4	117
6	259
9	370
12	581
14	660
18	799
20	947

Tabla A.9. Curva de calibración 4

[pelargonidina]ppm	Abs 520 nm
1	82
2	97
4	157
5	207
8	367
9	456
11	501
12	578
15	688
17	750
20	930

ANEXO VI

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tabla A.10. Datos para el análisis de varianza, andeva (ANOVA, en inglés) del contenido promedio de pelargonidina en las muestras nixtamalizadas

	T1	T2	T3	T4	T5		$\sum x$	$(\sum x)^2$	$\sum x^2$
C1	287	244	225	208	205		1169	1366561	277819
C2	285	276	249	229	176		1215	1476225	302819
C3	280	261	247	202	169		1159	1343281	276895
C4	236	208	174	152	133		903	815409	170029
C5	159	145	139	134	126		703	494209	99459
c6	157	131	119	115	113		635	403225	81965
$\sum x$	1404	1265	1153	1040	922	5784	5784	5898910	1208986
$(\sum x)^2$	1971216	1600225	1329409	1081600	850084	6832534			
$\sum x^2$	347620	285283	237393	190794	147896	1208986			

Datos para el cálculo de la diferencia mínima significativa (DMS):

$$t(20,0.05) = 1.7247 \quad CMe = 280 \quad C = 6 \quad T = 5$$

$$DMS(T) = t_{g.l. e, \alpha} \times \sqrt{\frac{2 \times CMe}{c}}$$

$$DMS(T) = 18.3$$

$$DMS(C) = 16.7$$

Tabla A. 11. Datos para el análisis de varianza, andeva (ANOVA, en inglés) del contenido promedio de pelargonidina en las muestras sometidas al proceso de digestión

	T3	T4	T5		$\sum x$	$(\sum x)^2$	$\sum x^2$
C4	379.308	315.7088	383.8508		1079	1163955	390888
C5	379.308	347.5084	238.4812		965	931799	321510
c6	379.308	315.7088	261.1952		956	914341	311770
$\sum x$	1138	979	884	3000	3000	3010096	1024168
$(\sum x)^2$	1294871	958296	780620	3033787			
$\sum x^2$	431624	320106	272438	1024168			
Promedio	379	326	295				

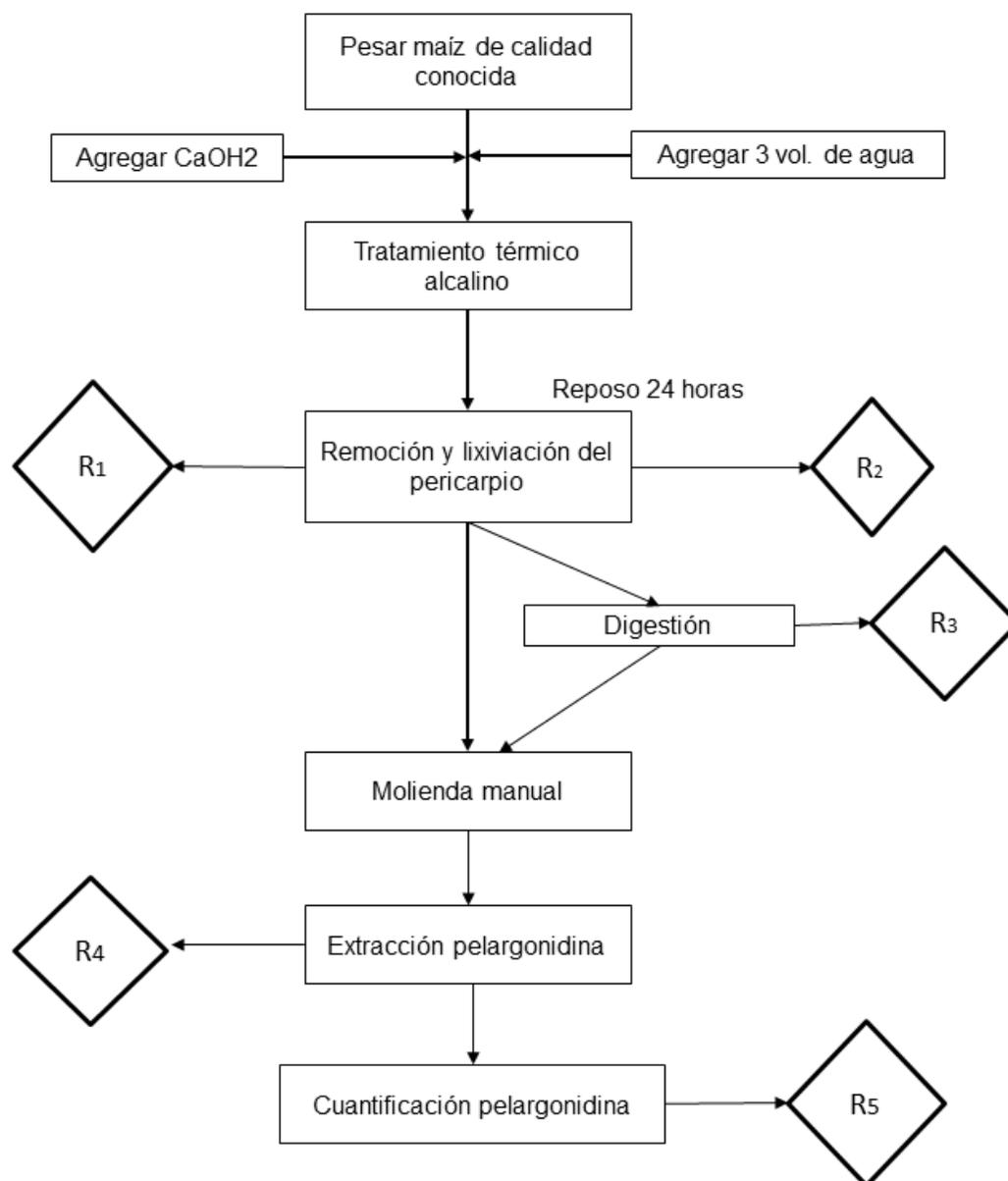
Tabla A.12. Datos para el análisis de varianza, andeva (ANOVA, en inglés) del contenido promedio de pelargonidina en las muestras con y sin digestión, sometidas a la nixtamalización en las condiciones indicadas

Tratamiento	C4 T3	C5 T3	C6 T3	C4 T4	C5 T4	C6 T4	C4 T5	C5 T5	C6 T5		X	(X)2	X2
Sin digestión	174	139	119	152	134	115	133	126	113		1205	1452025	164377
Con digestión	381	314	176	348	441	354	313	285	279		2891	8357881	972669
X	555	453	295	500	575	469	446	411	392	4096	4096	9809906	1137046
(X)2	308025	205209	87025	250000	330625	219961	198916	168921	153664	1922346			
X2	175437	117917	45137	144208	212437	138541	115658	97101	90610	1137046			

ANEXO VII.

PROGRAMA DE ENSEÑANZA INTEGRAL DEL CUIDADO DEL AMBIENTE EN LA FACULTAD DE QUÍMICA

- DIAGRAMA ECOLÓGICO



R1: Nejayote se neutraliza con ácido sulfúrico o ácido clorhídrico, en volúmenes <500 mL. Se separan los sólidos suspendidos para enviar a incineración; el líquido neutro se elimina por el drenaje con abundante agua.

R2: Cáscara, pericarpio y piloriza del maíz azul, residuo no peligroso y se envía a disposición para degradar como composta.

R3: Agua acidificada con ácido clorhídrico se neutraliza con hidróxido de sodio en lentejas, ya neutralizado se elimina por el drenaje con abundante agua.

R4 y R5: Mezcla de metanol, ácido acético y agua. Se colocan en frascos, se etiquetan y se envían a la UGA de la FQ

FICHAS DE SEGURIDAD

Hidróxido de calcio

▶ Ca(OH)_2	Assay	95.0-100.5%
M = 74.09 g/mol	Acid Insoluble Substances	max. 0.5%
CAS NO. 1305-62-0	Carbonate (CO_3)	passes test
EINECS 215-137-3	Heavy Metals (as Pb)	max. 20 ppm
NC CODE 2825 90 19	Identification	passes test
R: 41	Magnesium and Alkali salts	max. 4.8%
S: 22-24-26-39	Organic Volatile Impurities	passes test
		

Metanol

<http://app.avantormaterials.com/DistributorRedirect/DistributorRedirect.aspx?a=avantor&b=B&c=9093&d=s>

Ácido acético glacial

<http://www.jtbaker.com/msds/spanishhtml/A0326.htm>

Ácido clorhídrico

<http://www.jtbaker.com/msds/englishhtml/h3883.htm>

Pelargonidina clorada Sigma-Aldrich

<http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=MX&language=es&productNumber=P1659&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fsearch%3Finterface%3DAI%26term%3DP1659%26lang%3Des%26region%3DMX%26focus%3Dproduct%26N%3D0%2B220003048%2B219853196%2B219853286%26mode%3Dmatch%2520partialmax>

Pepsina de mucosa gástrica

<http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=MX&language=es&productNumber=P7000&brand=SIGMA&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fsearch%3Finterface%3DAI%26term%3Dpepsin%26lang%3Des%26region%3DMX%26focus%3Dproduct%26N%3D0%2B220003048%2B219853196%2B219853286>

Hidróxido de sodio

0288 Sodio Hidróxido	
lentejas / 'BAKER ANALYZED' / ACS	
▶ NaOH	Meets ACS Specifications. Meets Reagent Specifications for testing USP/NF monographs
M = 40.00 g/mol	Assay min. 97.0%
CAS NO. 1310-73-2	Calcium (Ca) max. 0.005%
EINECS 215-185-5	Chloride (Cl) max. 0.005%
NC CODE 2815 11 00	Heavy Metals (as Ag) max. 0.001%
EC NO. 11 002 00 6	Magnesium (Mg) max. 0.002%
UN/ID NO. 1823	Potassium (K) max. 0.01%
ADR/RID 8 C6	Sodium Carbonate (Na ₂ CO ₃) max. 1.0%
IMDG 8/II	Trace Impurities (in ppm):
R: 35	Iron (Fe) max. 3
S: 26-37/39-45	Mercury (Hg) max. 0.1
 C	Nickel (Ni) max. 5
corrosivo	Nitrogen Compounds (as N) max. 3
	Phosphate (PO ₄) max. 2
	Sulfate (SO ₄) max. 5

BIBLIOGRAFÍA

- Anónimo. 1982. Los libros del maíz. Origen, tradición y leyendas. Árbol Editorial. Pp. 34, 35. México, Distrito Federal, México.
- Arellano-Vázquez, J. L., Couoh, C. T., Ramírez, A.M., Salinas-Moreno, Y., Taboada-Gaytán, O.R. 2003. Maíz azul de los valles altos de México. I. Rendimiento de grano y caracteres agronómicos. Rev. Fitotec. Mex. 26(2):101-107.
- Baduí, S. 1993. Química de los alimentos. 3ª edición. Alhambra Mexicana, S. A de C.V., pp. 388-393. Estado de México, México.
- Baker, Mallinckrodt. 2006. Catálogo de J.T. Baker, edición 2006. Pp: 155, 353. [Fecha de consulta: 27 de Febrero 2013]. Página electrónica: http://www.duerolab.com/jtbaker/catalogo_jtb_2006.pdf
- Barreiro, J., Sandoval, A. 2006. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Editorial Equinoccio. Caracas, Venezuela.
- Bressani, R. 1972. La importancia del maíz en la nutrición humana en América Latina y otros países. En Mejoramiento nutricional del maíz. R. Bressani, J. E. Braham y M. Béhar, comps. Pub. INCAP L-3, p. 18. Guatemala, Guatemala.
- Brouillard, R. 1982. Chemical structure of anthocyanins as natural food colours-selected aspects. Food Chemistry. 58(1-2):103-109.
- Cabrera, L. 2002. Diccionario de aztequismos. Puesto en orden y revisado por J. Ignacio Dávila-Garibi. Luis Reyes-García revisó los términos nahuas. Esteban Inciarte los que aparecen en latín. Colofón, S.A. México D.F. México.
- Códice Mendocino. 1979. Archivo digital del proyecto del CIESAS. Figura 60. Pub. Centro de Investigaciones y Estudios Superiores en Antropología Social. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. México D.F. México.
- Cortés-Gómez, G., Salinas-Moreno, Y., San Martín, E., Martínez, F. 2006. Stability of anthocyanins of blue maize (*Zea mays* L.) after nixtamalization of separated pericarp-germ tip cap and endosperm fractions. J. Cereal Sci. 43:57-62.

- Cortés-Gómez, A. San Martín-Martínez, E., Martínez-Bustos, E., Vázquez-Carrillo, G.M. 2005. Tortillas of blue maize (*Zea mays* L.) prepared by a fractionated process of nixtamalization: Analysis using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*. 66:273-281.
- Coulter, T.P. 1984. "Food: The chemistry of its components". Burlington House, The Royal Society of Chemistry. 113. Londres, Reino Unido.
- Cravioto, R.O., Massieu, H.G., Guzmán-G., J. 1954. El problema de las proteínas en la dieta mexicana. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*. 38(2):148-154.
- Cuevas-Montilla, E., Antezana, A., Winterhalter, P. 2008. Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) boliviano. *Red-Alfa. Ladrotech. Memorias. Comunidad Europea. Cartagena, Colombia*. Pp. 79-95. [Fecha de consulta: 22 de noviembre de 2012]. Página electrónica: http://educon.javeriana.edu.co/lagrotech/images/elyana_cuevas.pdf
- Dean, J. 2008. *Bioaccessibility and mobility of environmental contaminants*. Wiley & Sons. Nueva York, NY, EEUU.
- Dendy, D.A.V., Dobraszczyk, B.J. 2001. "Cereales y productos derivados. Química y Tecnología". Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Diccionario de la lengua española. 22ª edición. [Fecha de consulta: 22 de noviembre de 2012]. Página electrónica: <http://www.rae.es>
- Durán-de-Bazúa, C. 1988. Una nueva tecnología para la extrusión alcalina de maíz y sorgo. Monografía Tecnológica No. 2. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. OEA. ISBN 968-36-0576-1. Pub. UNAM-Proyecto Multinacional. Tecnología de Alimentos. México, Distrito Federal, México.
- Durst, R., Wrolstad, R.E. 2001. Separation and characterization of anthocyanins by HPLC. In *Handbook of Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons. Pp. 33-45. Nueva Jersey, NJ, EEUU.

- FAO. 1993. El maíz en la nutrición humana. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Roma, Italia [Fecha de consulta: 14 de Noviembre de 2012]. Página electrónica: <http://www.fao.org/docrep/T0395S/T0395S02.htm>
- Frías-Hermosillo, M.N., García-García, O. 2009. Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas de maíz azul. Parte 3. Laboratorio de Desarrollo Experimental de Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. México, Distrito Federal, México.
- Galicia-Flores, L.A., Salinas-Moreno, Y., Espinoza- García, B.M., Sánchez-Feria, C. 2008. Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) nacional e importada. Revista Chapingo, Serie Horticultura. 14(2):154-179.
- Garzón, G.A. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. SciELO Colombia (Scientific Electronic Library OnLine) [Fecha de consulta: 30 de Noviembre de 2012]. Página electrónica: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-548X2008000300002&script=sci_arttext
- Garzón, G.A., Wrolstad, R.E. 2001. The stability of pelargonidin-based anthocyanins at varying water activity. Food Chem. 75(2):185-196.
- Garzón, G.A., Wrolstad, R.E. 2002. Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. J. Food Sci. 67(4):1288-1299.
- Ghiselli, A., Nardini, M., Baldi, A., Scaccini, C. 1998. Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an italian red wine. J. Agric. Food Chem. 46(2):361-367.
- Guerra, M., Ortega, G. 2006. Separación, caracterización estructural y cuantificación de antocianinas mediante métodos químico-físicos. Parte I. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar. XL(2):35-44.
- Gutiérrez-Vite, L., Pérez-Morán, A. 2008. Identificación y cuantificación de los colorantes presentes en tortillas azules. Tesis profesional. Universidad

Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. México, Distrito Federal, México.

- Hagiwara, A., Yoshino, H., Ichiharam, T., Kawabe, M., Tamano, S., Aoki, H., Takatoshi, K., Mikio, N., Katsumi, I., Nobuyuki ITO 5), Tomoyuki SHIRAI 2). 2002. Prevention by natural food anthocyanins, purple sweet potato color and red cabbage color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-B]pyridine (Phip)-associated colorectal carcinogenesis in rats. *J. Toxicol. Sci.* 27:57-68.
- Hernández-Uribe, J., Agama, E., Islas, J., Tovar, J., Bello, L. 2007. Chemical composition and *in vitro* starch digestibility of pigmented corn tortilla. *J. Sci. Food Agric.* 87(13):2482-2487.
- Hutchings, J.B. 1999. *Food Color and Appearance*. Springer Verlag. Weinheim, Alemania.
- Illescas, R. 1943. La teoría química de la formación del nixtamal. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 4:129-135.
- Intawongse, M., Dean, J.R. 2006. In-vitro testing for assessing oral bioaccessibility of trace metals in soil and food samples. *Trac-Trends in Analytical Chemistry.* 25(9):876-886.
- Jiménez-del-Carpio, J., Serrano-Flores, C., Giusti, M. 2009. Caracterización de las antocianinas de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler. *Soc. Química.* 75:76-86.
- Joseph, J. A., Shukitt-Hale, B., Denisova, N. A., Bielinski, D.B., Martin, A., Mcewen, J. J., Bickford, P. C. 1999. Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation. *J. Neurosci.* 19:8114-8121.
- Kamei, H., Hashimoto, Y., Koide, T., Kojima, T., Hasegawa, M. 1998. Anti-Tumor effect of methanol extracts from red and white wines. *Cancer Biother. Radiopharm.* 13(6):447-52.
- Katsube, N., Iwashita, K, Tsushida, T., Yamaki, K., Kobori, M. 2003. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 51:68-75.

- Koide, T., Kamei, H., Hashimoto, Y., Kojima, T., Hasegawa, M. 1997. Antitumor effect of anthocyanin fractions extracted from red soybeans and red beans *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Biother. Radiopharm.* 12(4):277-280.
- Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F., Brouillard, R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry.* 64: 923-933.
- Lara-Porras, A. M. 2001. Diseño estadístico de experimentos, análisis de la varianza y temas relacionados: Tratamiento informático mediante SPSS. Ed. Proyecto Sur. [Fecha de consulta: 22 de noviembre de 2012]. Página electrónica: http://www.ugr.es/~bioestad/_private/cpfund3.pdf
- Lomelí-Escalante, A. 1996. El consumidor ante la controversia sobre la tortilla. En *La industria de la masa y la tortilla, desarrollo y tecnología.* F. Torres, E. Moreno, I. Chong, J. Quintanilla, Eds. Imprenta de Juan Pablo, S.A. ISBN 968-36-4793-6. Pp. 85-86, 88-89. México, Distrito Federal, México.
- López-Velecela, F. N. 2012. Bioaccesibilidad del arsénico, cadmio, cobre, plomo y zinc en jales mineros y en suelos contaminados por residuos minero-metalúrgicos, Tesis Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. México, Distrito Federal, México.
- Markakis, P. 1982. Stability of anthocyanins in foods. In: *Anthocyanins as food colors.* P. Markakis. Academic Press. Pp.163-178. Nueva York, NY, EEUU.
- Miranda-Colin, S. 2000. El mejoramiento genético del maíz en la época prehispánica. *Agricultura Técnica en México.* 26(1):3-15.
- Moreno-Morales, J., 2010. Cuantificación de las variaciones de la presencia de antocianinas en harina cruda, harina nixtamalizada, tortilla y totopos de maíz azul (*Zea mays*) originario de Atlacomulco, Estado de México, México. Tesis profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. México, Distrito Federal, México.

- Muñoz-de-Chávez, M., Chávez-Villasana, A. 2001. Tablas de valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en Latinoamérica. Ed. Pax. 3a reimpresión. Pp. 12, 14, 17-18. México, Distrito Federal, México.
- Nava-Arenas, D. 2009. Estudio de cambios estructurales y en algunos compuestos fenólicos durante la elaboración de tescüino de maíz azul (*Zea mays*). Tesis Doctorado. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México, Distrito Federal, México.
- Ohgami, K, Ilieva, I, Shiratori, K, Koyama, Y, Jin, XH, Yoshida, K., Kase, S., Kitaichi, N., Suzuki, Y., Tanaka, T., Ohno, S. 2005. Anti-inflammatory effects of aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. *Inv. Opht. Vis. Sci.* 46:275-281.
- Pascoe-Hernández, N. M. 2003. Evaluación bromatológica y determinación de tóxicos naturales en la almendra de calabaza (*Cucurbita angyosperma*) consumida en Cuetzalan, Puebla. Tesis profesional. Universidad Nacional Autónoma de México, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. México, Distrito Federal, México.
- Patras, A., Brunton, P. N., O'Doneell, C., Tiwar, B.K. 2009. Effect of termal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science and Technology.* 21(1):3-11. doi: 10.10.16/j.tifs.2009.07.004.
- Paustenbach, D. 2000. The practice of exposure assessment: A state-of-the-art review. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part B-Critical Reviews.* 3:179-291.
- Perossini, M., Guidi, G., Chiellini, S., Siravo, D. 1987. Studio clinico sull'impeigo degli antocianisidi del mirtillo (tegens) nel trattamento delle microangiopathi retiniche di tipo diabetico ed ipertensivo. *Ottal. Clin. Ocul.* 113:1173-1190.
- Primo-Yúfera, P. 1995. Química orgánica básica y aplicada: De la molécula a la industria. Volumen 2. Editorial Reverté. Barcelona, España.
- SAGARPA. 2011. Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2012. Página electrónica: <http://www.sagarpa.gob.mx>

- Salinas-Moreno, Y., Soto-H., M., Martínez-B., F., González-H., V., Ortega-Paczka, R. 1999. Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. *Revista Fitotécnica Mexicana*. 22:161-174.
- Salinas-Moreno, Y., Martínez-Bustos, F., Soto-Hernández, M.M., Ortega-Paczka, R., Arellano-Vázquez, J. 2003. Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia*. 37:617-628.
- Sánchez-González, N. 2006. Extracción y caracterización de los principales pigmentos del *Opuntia joconoste* c.v. (xoconostle). Tesis Maestría. Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada. México, Distrito Federal, México.
- Serna-Saldívar, O., 1996. Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. AGT Editor, S.A. México, Distrito Federal, México.
- Shukitt-Hale, B., Galli, R.L., Meterko, V., Carey, A., Bielinski, D.F., Mcghie, T., Joseph, J.A. 2005. Dietary supplementation with fruit polyphenolics ameliorates age-related deficits in behavior and neuronal markers of inflammation and oxidative stress. *Age*. 27(1):49-57.
- SIAP. 2011. Anuario Agrícola del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). [Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2012]. Página electrónica: <http://www.siap.gob.mx>
- St. Leger, A.S., Cochrane, A.L., Moore, F. 1979. Factors associated with cardiac mortality in developed countries with particular reference to the consumption of wines. *Lancet*. 1(8124):1017-1020.
- Tavera-Hernández, R. J. 2007. Estudio comparativo de las propiedades fisicoquímicas, color y textura, de tres variedades de maíz nixtamalizado. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. México, Distrito Federal, México.
- Timberlake, C.F., Henry, B.S. 1986. Plant pigments as natural food colours. *Endeavour* NS. 10:31-36.

- Tristan, F., Kraft, B., Schmidt, B.M., Yousef, G.G., Knigh, C.T.G., Cuendet, M., Kang, Y. H., Pezzuto, M. J., Seigler, S. D., Lila, M. A. 2005. Chemopreventive potential of wild lowbush blueberry fruits in multiple stages of carcinogenesis. *J. Food Sci.* 70(3):S159-S166.
- Vázquez-Carrillo, G., Salinas-Moreno, Y. 1996. El mejoramiento de la calidad de la tortilla de maíz. En: *La industria de la masa y la tortilla. Desarrollo y tecnología.* Universidad Nacional Autónoma de México, Programa Universitario de Alimentos. P. 127. México, Distrito Federal, México.
- Vázquez-Gómez, J. 2006. *Ecofisiología del maíz.* Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad Autónoma de Chiapas. Vol. 1. Pp. 63,67. Villa Flores, Chiapas, México.
- Vuorela, S., Kreander, K., Karonen, M., Nieminen, R., Hämäläinen, M., Galkin, A., Laitinen, L., Salminen, J.P., Moilanen, E., Pihlaja, K., Vuorela, H., Vuorela, P., Heinonen, M. 2005. Preclinical evaluation of rapeseed, raspberry, and pine bark phenolics for health related effects. *J. Agric. Food Chem.* 53(15):5922-5931.
- Walpole, R.E., Myers, R.H., Myers, S.L., Ye, K. 2007. *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias.* 8a edición. Pearson Education. [Fecha de consulta: 22 de noviembre 2012]. Página electrónica: <http://lc.fie.umich.mx/~calderon/estadistica/anova04.html>.
- Wang, S.Y., Jiao, H. 2000. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J Agric. Food Chem.* 48:5677-5684.
- Wang, S.Y., Lin, H.S. 2000. Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry is affected by cultivar and maturity. *J. Agric. Food Chem.* 48:140-146.
- Wang, J., Mazza, G. 2002. Efectos inhibitorios de antocianinas y otros compuestos fenólicos en la producción de óxido nítrico en LPS / IFN gamma activados RAW 264,7 macrófagos. *J Agric Food Chem.* 50:850-857.

Wragg, J., Cave, M. R. 2002. In-vitro methods for the measurement of the oral bioaccessibility of the selected metal and metalloids in soils: A critical review. Pub. United States Environmental Protection Agency and the British Geological Survey. ISBN 1857059867. R&D Technical Report P5-062/TR/01. Washington, DC, EEUU.

Xia, J., Allenbrand, B., Sun, G.Y. 1998. Dietary Supplementation of Grape Polyphenols and Chronic Ethanol Administration on LDL Oxidation and Platelet Function. *Life Sci.* 63:383-390.