



Universidad Autónoma del Estado de México



Facultad de Química

“Efecto de la nixtamalización en los compuestos fenólicos totales y antocianinas y su actividad antioxidante en distintas variedades de maíz (*Zea mays* L.) Mexicano.”

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:
QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA:
FLOR ESTEFANÍA GUTIÉRREZ PEÑA

ASESOR ACADEMICO:
DR. OCTAVIO DUBLÁN GARCÍA

ASESOR EXTERNO:
DRA. LETICIA XOCHITL LÓPEZ MARTÍNEZ

TOLUCA, MÉXICO, MARZO 2016.

Dedicatoria.

Dedico esta tesis a mi amiga, profesora y asesora Lety, quien deposito su confianza en mí para desarrollar el presente tema de tesis.

A mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo y consejos a través del tiempo.

A mi novio Alex quien me apoyo y alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

A mi amiga Lolita quien fue un gran apoyo durante el tiempo en que escribía esta tesis.

A cada uno de mis maestros, que nunca desistieron al enseñarme, a todos aquellos que siempre creyeron en mí y también a quien no creyó porque me ayudo a ser mejor.

A todos los que me apoyaron para escribir y concluir esta tesis.

Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

Agradecimientos

Primero y como más importante, me gustaría agradecer sinceramente a mi asesora de tesis Dra. Leticia Xochitl López Martínez por confiarme el presente trabajo de tesis.

Sus conocimientos, orientaciones, forma de trabajar, su persistencia y regaños han sido fundamentales para mi formación.

Ella ha marcado mi vida como profesionista y me ha enseñado el valor de la responsabilidad, el compromiso y el amor por la investigación, valores sin los cuales no habría culminado el presente proyecto.

A su manera ha sido capaz de ganarse mi respeto, lealtad y admiración, así como el sentirme en deuda con ella por todo lo que ha dejado a su paso por mi vida.

Gracias por nunca dejar de creer en mí y por ser mi amiga, profesora y asesora.

Donde estés de todo corazón GRACIAS.

También agradezco al Dr. Octavio Dublán quien me apoyo en todo momento para culminar mi trabajo de tesis, por su tiempo y paciencia.

A mis padres fuente de apoyo constante e incondicional, por estar en los momentos más difíciles de mi carrera profesional, por soportar mis ratos de estrés en los exámenes y por nunca abandonarme.

Por último pero no menos importante para todos mis distinguidos maestros que fueron parte de mi formación, de todos y cada uno de ustedes me llevo una gran enseñanza;

Y a mí querida Universidad porque en sus aulas recibí las más gratas enseñanzas que nunca olvidare.

RESUMEN

Maíz, palabra de origen indio caribeño, significa literalmente «lo que sustenta la vida». Botánicamente, el maíz (*Zea mays*) pertenece a la familia de las gramíneas y es una planta anual alta dotada de un amplio sistema radicular fibroso. El origen de este cereal se cree comenzó según estudios científicos hace aproximadamente 7.000 años en el valle de Tehuacan Puebla México.

El maíz, en especial el pigmentado, destaca por la cantidad de propiedades que previenen el envejecimiento, componentes denominados antocianinas poseen importantes propiedades biológicas, entre ellas contribuir al control de padecimientos como la diabetes. Asimismo, también tienen una buena cantidad de ácido ferúlico, uno de los antioxidantes más potentes que se han encontrado.

El objetivo de este estudio fue determinar la influencia de la nixtamalización y elaboración de tortillas en 3 variedades de maíz (*Zea mays L.*), sobre el perfil de compuestos fenólicos totales, antocianinas y capacidad antioxidante con la finalidad de evaluar que porcentaje permanece en la tortilla después del procesamiento del maíz. Cada una de las variedades fue sometida a 3 tratamientos, (molienda de grano, nixtamalización y elaboración de la tortilla).

Para el estudio se deshidrataron las muestras en una estufa a 40°C por 48 horas y posteriormente se prepararon extractos acuosos auxiliados de agitación. No se observó disminución sobre el contenido de compuestos fenólicos. El contenido de compuestos fenólicos totales para los extractos acuosos se encontró entre 483.2 y 1336 µg de ácido gálico/100g de masa seca. Para los valores de antocianinas, estas se vieron bruscamente afectadas durante el procesamiento siendo el maíz rojo el que presentó el mayor porcentaje de pérdida de antocianinas con 98% y el azul 73%. El porcentaje de potencial de reducción mediante el ensayo ABTS, en la masa azul se observó un 38,51%, el porcentaje más alto se observó en la tortilla de maíz rojo con 86.28%. Los porcentajes de capacidad antirradical mediante el ensayo DPPH mostraron valores similares a ABTS siendo el porcentaje más bajo la masa azul con 5.84% y el más alto la tortilla azul con 35.22%, sin embargo mostró pequeña diferencia hacia la tortilla roja con 35.12%.

INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes son un grupo de nutrientes indispensables que se encuentran en determinados alimentos y actúan protegiendo al organismo de sustancias oxidantes como los radicales libres o las especies reactivas de oxígeno que desencadenan procesos patológicos y de envejecimiento prematuro (Benítez Zequeira, 2006; Ramos ML et al., (2006) ; Aubad et al., (2007); Muñiz Rodríguez, (2009).

Diversos estudios epidemiológicos apoyan la relación entre el consumo de alimentos ricos en compuestos fenólicos, una baja incidencia de cáncer (Cooke et al., 2005; Reed, 2002;).

Esencialmente, las defensas antioxidantes se dividen en dos grandes grupos: enzimáticos y no enzimáticos; el primer grupo se refiere a enzimas que constituyen la primera línea de defensa celular frente al daño oxidante y éstas proporcionan una función protectora frente a los oxidantes biológicos, disminuyendo la concentración intracelular de radicales libres. Entre ellas destacan la catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, NADPH-quinona oxidoreductasa y la epóxido hidrolasa, entre otras. El grupo no enzimático, como segunda línea de defensa, está constituida por secuestradores de radicales libres residuales que no hayan podido ser neutralizados por las enzimas antioxidantes. Entre ellos podemos citar: glutatión reducida, ácido úrico, transferrina, lactoferrina, taurina, ceruloplasmina, ubiquinol, bilirrubina, carotenoides como la vitamina A, vitamina E, vitamina C, butilhidroxitolueno (BHT), melatonina, entre otros (Allen y Tresini 2000).

Una vez superados los mecanismos antioxidantes del organismo es imposible inactivar la reactividad química de las ERO o ERN, presentándose el estado metabólico de estrés oxidante, que se caracteriza por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad antioxidante de las células (Krinski y Yu, 2000). Las especies reactivas, generadas en situación de estrés oxidante, pueden iniciar procesos patológicos graves y favorecer su progresión debido al impacto que tienen las ERO o ERN en las proteínas; pueden afectar a proteínas de señalización de gran importancia biológica al inducir un

aumento o disminución de su función, o la pérdida de esta (Halliwell y Whiteman, 2004; Levine y Stadtman, 2001).

Para prevenir la degeneración o muerte celular ocasionada por las especies pro-oxidantes, el ser humano debe ingerir en su dieta alimentos con propiedades antioxidantes que neutralicen las especies reactivas oxidantes para mantener el equilibrio redox del organismo; además de las vitaminas antioxidantes (C y E) y los carotenoides, existen otros compuestos denominados metabolitos secundarios, presentes en los alimentos que ejercen una fuerte actividad antioxidante como son los polifenoles, entre ellos, las antocianinas, los flavonoides y los taninos (Jing, 2006; Beltrán-Orozco et al., 2009; Escamilla Jiménez et al., 2009). También se ha reportado que estos alimentos tienen actividad antioxidante y pueden mejorar los perfiles lipídicos en modelos experimentales (Xia et.al., 2006; Aviram et.al., . 2004)

Índice

1._ Antecedentes	9
------------------------	---

1.1. Generalidades.....	9
1.2. Clasificación taxonómica.....	10
1.3. Descripción botánica.....	11
1.4. Morfología de la planta de maíz.....	11
1.5. Estructura del grano de maíz.....	13
1.6. Fisiología del maíz.....	14
1.7. Composición química del maíz	14
1.7.1. Almidón	15
1.7.2. Proteínas	15
1.7.3. Aceite y ácidos grasos	15
1.7.4. Fibra dietética.....	16
1.7.6. Minerales	16
1.7.7. Vitaminas liposolubles.....	16
1.7.8. Vitaminas hidrosolubles	17
1.8. Valor nutritivo	17
1.9. Compuestos fenólicos en maíces pigmentados	18
1.9.1. Estructuras de los compuestos fenólicos	18
1.9.2. Biosíntesis de compuestos fenólicos	20
1.9.3 Actividad biológica de los compuestos fenólicos	23
1.9.4. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos	23
1.10. Antocianinas.....	24
1.10.2. Fuente de Antocianinas.....	26
1.10.3. Acción de las antocianinas	26
1.10.4. Antocianinas en maíz.....	26
1.10.5. Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas.....	27
1.10.5.1 Efecto del pH.....	27
1.10.5.4 Copigmentación.....	28
1.11. Nixtamalización	29
1.11.1. Factores que influyen en el proceso de nixtamalización.....	30
1.11.2. Efecto de la nixtamalización sobre la biodisponibilidad de nutrientes .	30
1.11.3. Cambios en el maíz inducidos por el proceso	30
1.11.4. Cambios estructurales en el grano de maíz	31

1.11.5. Cambios en el contenido de antocianinas de productos nixtamalizados	31
1.12. Tortilla.....	32
1.12.1. Ingesta de tortilla en la dieta	33
2._Objetivo	35
Objetivos Específicos	36
3._Hipótesis.....	37
4._Materiales y Métodos.....	39
4.1 Reactivos	40
4.2 Maíz.....	40
4.3. Propiedades físicas de los granos	40
4.3.1. Peso.....	40
4.3.2 Dureza.....	41
4.3.3. Densidad	41
4.4. Nixtamalización y producción de masa y tortillas.....	41
4.5. Extracciones	42
4.5.1. Preparación de los extractos acuosos.	42
4.5.2. Preparación de los extractos etanólicos.	42
4.6 Determinación de compuestos fenólicos totales.....	43
4.7 Determinación de antocianinas totales	43
4.8 Determinación de la actividad antioxidante total por el método de ABTS ^{•+} . 2- 2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazonilo-6-ácido sulfónico)	44
4.9 Determinación de la actividad antioxidante total por el método de DPPH [•] (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)	44
4.10 Blanqueamiento de β-Caroteno	45
4.11 Análisis Estadístico.....	45
5.0 Resultados y discusiones.....	47
5.1 Características del grano	48
5.2 Antocianinas Totales	52
5.3 Compuestos Fenolicos Totales.....	¡Error! Marcador no definido.
5.3.1. Correlación entre perdida de antocianinas y compuestos Fenólicos. ¡Error! Marcador no definido.	

5.3.2 Porcentaje de Capacidad Anti radical sobre DPPH [·]	57
5.3.3 Correlación entre los ensayos de Actividad Antioxidante ABTS ^{·+} y DPPH [·]	59
Cuadro 11. Comparación de Actividad Antioxidante por los métodos de ABTS ^{·+} y DPPH [·]	60
5.4 Método de Blanqueamiento de β -caroteno.	60
5.5 Correlación entre las variables analizadas	63
6.0 Conclusiones	64
7.0 Referencias.....	66
Anexos.....	80
Anexo 1. Determinación de Antocianinas Totales	80
Anexo 2. Curva de calibración para el método Folin Ciocalteu de determinación de fenoles totales.....	81
Anexo 3. Determinación de Actividad Antioxidante por el método de ABTS (Inhibición de Radicales Libres)	85
Anexo 4. Determinación de Actividad Antioxidante por el método de DPPH.	86
Anexo 5. Blanqueamiento de β -Caroteno	87
Anexo 6. ANOVA Maíz amarillo	89
Anexo 7. ANOVA Maíz Azul.....	89
Anexo 8. ANOVA Maíz Rojo	90

1._ Antecedentes

1.1. Generalidades

El maíz es el cultivo nacional presente en todos los estados, los climas y en todas las altitudes. Se siembran diversas variedades y se consume de distintas formas.

Es el principal cultivo tanto por la superficie que se siembra como por el volumen de producción que se obtiene. En México ningún otro cultivo tiene tanta importancia como el maíz. Desde la perspectiva productiva, se ubica como el principal cultivo en comparación con el sorgo, trigo, cebada, arroz y avena, los cereales más cultivados en el territorio mexicano. El maíz grano representa 85% del volumen nacional de cereales y 2.8 de la producción mundial (SAGARPA, 2013).

Gran parte de la diversidad genética del maíz (*Zea mays L.*) está concentrada en el continente Americano y principalmente en México. El maíz es consumido en esas zonas geográficas en múltiples formas, como tortillas, arepas, pinoles, atoles, tostadas, botanas, tamales, elotes y otros muchos alimentos (Figuroa et al., 2005.). La figura 1 muestra algunos de los subproductos mas comunmente consumidos en México.



Figura 1. Subproductos del Maíz en México.

Un mexicano consume diariamente un promedio de 335 g de maíz, lo que equivale a 122 kg/año. Por tanto, si se considera una dieta de 2000 kcal, la población mexicana obtiene más de la mitad de las calorías y proteínas de alimentos producidos a partir del maíz (FAO, 2015.)

1.2. Clasificación taxonómica

Entre las Maydeas orientales existen diversos géneros como Schleracne, Polytoca, Chionachne, Trilobachne y Coix, siendo este último el único que tiene cierta importancia económica en el sudeste de Asia. En general, solo *Zea mays* se considera como una especie de gran importancia económica dentro de las Maydeas

(PALIWAL, 2001). Su clasificación taxonómica está bien estudiada (GBIF, 2013) tabla 1.

Tabla 1. Clasificación taxonomica según GBIF, 2013.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Poales
Familia	Poaceae

1.3. Descripción botánica

El maíz es una planta de porte robusto y de hábito anual; el tallo es simple, erecto, de elevada longitud alcanzando alturas de 2 a 6 m, con pocos macollos o ramificaciones, su aspecto recuerda al de una caña por la presencia de nudos y entrenudos y su médula esponjosa. Las hojas nacen en los nudos de manera alterna a lo largo del tallo; se encuentran abrazadas al tallo mediante la vaina que envuelve el entrenudo y cubre la yema floral, de tamaño y ancho variable. Las raíces primarias son fibrosas presentando además raíces adventicias, que nacen en los primeros nudos por encima de la superficie del suelo, ambas tienen la misión de mantener a la planta erecta (Jugenheimer, 1988).

1.4. Morfología de la planta de maíz

El maíz es una planta cultivada desde la antigüedad, hace más de 7000 años. Su origen parece situarse en la zona de México, donde se han encontrado los vestigios más antiguos. Aunque hay varias plantas emparentadas con el maíz (*Zea mays*), solo una es capaz de cruzarse con él espontáneamente, se trata del Teosintle que se encuentra en México y Guatemala. El Teosintle, según algunos investigadores, es la fuente del germoplasma de los maíces actuales. El maíz es una planta anual, de verano, de porte robusto y con un rápido desarrollo.

El maíz es una planta monoica, tiene flores masculinas y flores femeninas separadas pero en el mismo pie. La flor masculina tiene forma de panícula y está situada en la parte superior de la planta. La flor femenina, la futura mazorca, se sitúa

a media altura de la planta. La flor está compuesta en realidad por numerosas flores dispuestas en una ramificación lateral, cilíndrica y envuelta por falsas hojas, brácteas o espátas. Los estilos de cada flor sobresalen de las brácteas formando las sedas. Cada flor fecundada formará un grano que estará agrupado en torno a un eje grueso o zulo.

El número de granos y de filas de la mazorca dependerá de la variedad y del vigor del maíz. En general las variedades cultivadas en nuestro entorno contienen entre 600 ó 1.000 granos por mazorca distribuidos entre 16 y 20 hileras (el rango oscila entre 12 y 24 hileras) conteniendo unos 50 granos cada una. (PARSON, 2001.)

El cultivo del maíz es de régimen anual. Su ciclo vegetativo oscila entre 80 y 200 días, desde la siembra hasta la cosecha. La estructura del maíz se presenta en la figura 2.

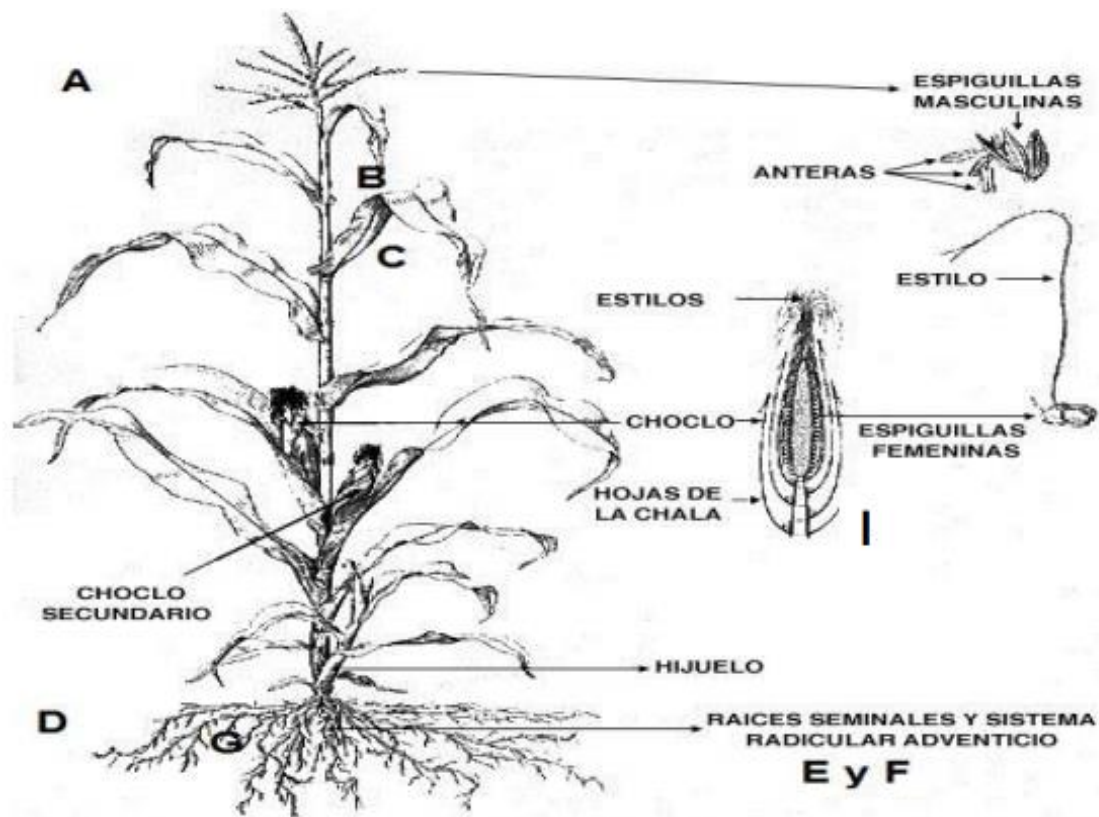


Figura 2. Estructura de la planta de maíz
Fuente: P. Font Q, 1993

A.Planta B.Tallo C.Hoja Sistema radicular D.Raíz seminal o principal E.Raíces adventicias F.Raíces de sostén o soporte G.Raíces aéreas H.Flores

1.5. 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. Ésta estructura puede contener de 300 a 1000 granos según el número de hileras y el diámetro y longitud de la mazorca.

El peso del grano puede variar mucho, de aproximadamente 19 a 30 g por cada 100 granos. Durante la recolección, las mazorcas de maíz son arrancadas manual o mecánicamente de la planta. Se pelan las hojas que envuelven la mazorca y luego se separan los granos a mano o, más a menudo, mecánicamente. 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 lo muestra la figura 3 donde se observan también las cuatro estructuras físicas fundamentales del grano: primero, se presenta el pericarpio (conocido también como cáscara o salvado); segundo, el endospermo; tercero, el germen también conocido como embrión y cuarto, la piloriza (tejido inerte en que se unen el grano y el carozo).

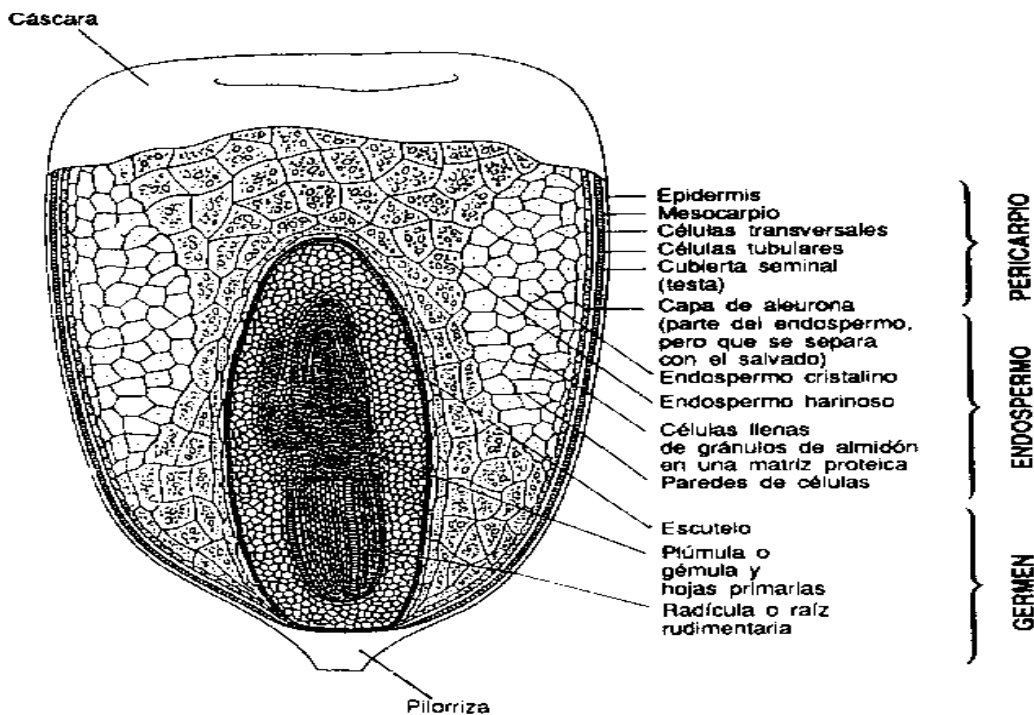


Figura 3. Estructura del Grano de Maíz

La distribución ponderal de las distintas partes del grano se indica en la tabla 2. Al endospermo, la parte de mayor tamaño, corresponde cerca del 83 por ciento del peso del grano, en tanto que el germen equivale por término medio al 11 por ciento y el pericarpio al 5 por ciento. El resto está constituido por la piloriza, estructura cónica que junto con el pedicelo une el grano a la espiga (FAO, 2013).

Tabla 2. Distribución ponderal de las principales partes del grano

Estructura	Porcentaje de distribución ponderal
Pericarpio	5-6
Aleurona	2-3
Endospermo	80-85
Germen	10-12

1.6.

Fisiología

del maíz

La fisiología del maíz está determinada, en gran medida, por el factor genético. La forma de crecimiento y desarrollo de la planta depende de las condiciones ambientales, solo hasta cierto punto. Bajo condiciones apropiadas de temperatura, humedad y aireación, el maíz germina dentro de los seis días posteriores a la siembra. No requiere de luz para germinar y, en general no presenta problemas de latencia o dormancia. El cambio de la fase vegetativa a la fase productiva se produce más temprano, cuando el periodo de cultivo coincide con días cortos. Durante días largos, el maíz florece tardíamente. La disposición floral favorece una polinización cruzada. Bajo condiciones normales, la autofecundación es alrededor de 5%. La diseminación del polen se efectúa por medio del viento, la gravedad y las abejas (PARSON, 2001).

El maíz es un cultivo que necesita suelos estructurados, fértiles y profundos que permitan el desarrollo de las raíces, que eviten los encharcamientos siendo al mismo tiempo capaces de almacenar agua, y que permitan un aprovechamiento óptimo de los nutrientes (PARSON, 2001.)

1.7. Composición química del maíz

En la tabla 3 se presenta la composición química del maíz.

Tabla 3. Composición química proximal de las partes del grano de maíz (%)

Componente químico	Pericardio (%)	Endospermo (%)	Germen (%)	Total % bs*
--------------------	----------------	----------------	------------	-------------

Proteínas	3.7	8.0	18.4	9.91
Extracto etéreo	1.0	0.8	33.2	4.78
Fibra cruda	86.7	2.7	8.8	2.66
Cenizas	0.8	0.3	10.5	1.42
Almidón	7.3	87.6	8.3	71.5
Azúcar	0.34	0.62	10.8	2.58
*bs: base seca				

1.7.1. Almidón

El componente químico principal del grano de maíz es el almidón, al que corresponde hasta el 72-73% del peso del grano. Otros carbohidratos son azúcares sencillos en forma de glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían del 1 al 3% del grano. El almidón está formado por dos polímeros de glucosa: amilosa y amilopectina. La amilosa es una molécula esencialmente lineal de unidades de glucosa, que constituye hasta el 25-30% del almidón. El polímero amilopectina también consiste de unidades de glucosa, pero en forma ramificada y constituye hasta el 70-75% del almidón (Boyer y Shannon, 1987).

1.7.2. Proteínas

Después del almidón, las proteínas constituyen el siguiente componente químico del grano por orden de importancia. En las variedades comunes, el contenido de proteínas puede oscilar entre el 8 y el 11% del peso del grano, y en su mayor parte se encuentran en el endospermo. Las proteínas de los granos del maíz han sido estudiadas ampliamente, y según Landry y Moureaux (1970; 1982), están formadas por lo menos por cinco fracciones distintas. Conforme a su descripción, las albúminas, las globulinas y el nitrógeno no proteico totalizan aproximadamente el 18% del total de nitrógeno, con proporciones del 7, 5 y 6%, respectivamente.

1.7.3. Aceite y ácidos grasos

El aceite del grano de maíz está fundamentalmente en el germen y viene determinado genéticamente, con valores que van del 3 al 18%. El aceite de maíz tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados: ácido palmítico y esteárico, con valores medios del 11% y el 2%, respectivamente. En cambio, contiene niveles relativamente elevados de ácidos grasos poliinsaturados, fundamentalmente ácido linoleico, con un valor medio de cerca del 24%.

1.7.4. Fibra dietética

Después de los hidratos de carbono (principalmente almidón), las proteínas y las grasas, la fibra dietética es el componente químico del maíz que se halla en cantidades mayores. Los hidratos de carbono complejos del grano de maíz se encuentran en el pericarpio y la piloriza, aunque también en las paredes celulares del endospermo y, en menor medida, en las del germen.

1.7.5. Otros Carbohidratos

El grano maduro contiene pequeñas cantidades de otros carbohidratos, además de almidón. El total de azúcares del grano varía entre el 1 y el 3%, y la sucrosa, el elemento más importante, se halla esencialmente en el germen. En los granos en vías de maduración hay niveles más elevados de monosacáridos, disacáridos y trisacáridos. Doce días después de la polinización, el contenido de azúcar es relativamente elevado, mientras que el de almidón es bajo. Conforme madura el grano, disminuyen los azúcares y aumenta el almidón.

1.7.6. Minerales

El mineral que más abunda es el fósforo, en forma de fitato de potasio y magnesio, encontrándose en su totalidad en el embrión con valores de aproximadamente 0,90% en el maíz común y cerca del 0,92% en el maíz opaco-2. Como sucede con la mayoría de los granos de cereal, el maíz tiene un bajo contenido de Ca y de oligoelementos.

1.7.7. Vitaminas liposolubles

El grano de maíz contiene dos vitaminas solubles en grasa, la provitamina A, o carotenoide, y la vitamina E. Los carotenoides se hallan sobre todo en el maíz amarillo, en cantidades que pueden ser reguladas genéticamente, en tanto que el maíz blanco tiene un escaso o nulo contenido de ellos. El β -caroteno es una fuente importante de vitamina A, aunque no totalmente aprovechada pues los seres humanos no consumen tanto maíz amarillo como maíz blanco.

La otra vitamina liposoluble, la vitamina E, que es objeto de cierta regulación genética, se halla principalmente en el germen. La fuente de la vitamina E son cuatro tocoferoles; el más activo biológicamente es el α -tocoferol; aunque el γ -tocoferol es probablemente más activo como antioxidante.

1.7.8. Vitaminas hidrosolubles

Las vitaminas solubles en agua se encuentran sobre todo en la capa de aleurona del grano de maíz, y en menor medida en el germen y el endospermo. La vitamina soluble en agua a la cual se han dedicado más investigaciones es el ácido nicotínico, a causa de su asociación con la deficiencia de niacina, o pelagra, fenómeno muy difundido en las poblaciones que consumen grandes cantidades de maíz (Christianson et al., 1968).

1.8. Valor nutritivo

A través de generaciones los maíces han conservado importantes compuestos fitoquímicos conocidos como nutraceuticos, con probados efectos positivos en nutrición y salud, como: fibra dietética (soluble e insoluble), compuestos fenólicos, carotenoides, xantofilas, triglicéridos ricos en ácidos grasos omega 6, fitoesteroles, policosanoles y micronutrientes como tocoferoles y tocotrienoles, fosfolípidos que proveen colina e inositol, y vitaminas con propiedades nutraceuticas como el ácido fólico, tiamina y niacina. El común denominador de la mayoría de los nutraceuticos es su capacidad antioxidante que contrarresta los radicales libres responsables de causar la oxidación de membranas y daño al ADN, lo que promueve enfermedades como cáncer, fibrosis, problemas cardiovasculares y envejecimiento (Serna-Saldívar, 2009; Serna-Saldívar et al., 2011).

El procesamiento del maíz con diferentes perfiles nutraceuticos afecta significativamente la cantidad y biodisponibilidad de estos compuestos. Por ejemplo, el proceso de nixtamalización propicia que parte de la fibra dietética y muchos compuestos fenolicos simples y antocianinas se pierdan en la cocción alcalina, pero los compuestos que quedan asociados al nixtamal tienen una mejor biodisponibilidad (Serna-Saldívar, 2009).

1.9. Compuestos fenolicos en maíces pigmentados

El grano de maíz produce diversos tipos de compuestos fenolicos que son categorizados como simples, flavonoides y antocianinas. Todos los maíces contienen fenolicos simples, mientras que solamente los maíces pigmentados como el azul o morado contienen cantidades significativas de antocianinas. El ácido ferúlico es el compuesto fenolico presente en mayor cantidad en maíz, donde se le puede encontrar en forma ligada, libre y condensada. Otro importante grupo de antioxidantes son los carotenoides y xantofilas. Adicionalmente, los β -carotenos son convertidos en la forma activa de la vitamina A o retinol. El maíz amarillo es rico en carotenos y xantofilas, en contraste con el blanco que contiene cantidades insignificantes de estos importantes nutraceuticos (Serna-Saldívar et al., 1990; Serna-Saldívar, 2009; 2011).

Los compuestos fenolicos son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Los compuestos fenolicos están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Robbins, 2003; Kähkönen et al., 2001).

1.9.1. Estructuras de los compuestos fenolicos

El término compuestos fenolicos comprende aproximadamente 8000 compuestos que aparecen en la naturaleza. Todos ellos poseen una estructura común: un anillo fenol -un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo, como se puede observar en la figura 4. (Robbins, 2003).

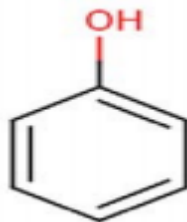


Figura 4. Estructura básica de un compuesto fenólico

Se pueden clasificar estructuralmente estos compuestos de acuerdo a la tabla 4 , la mayoría de los cuales se pueden encontrar en las frutas, siendo estos una excelente fuente de polifenoles mayor a las verduras (Macheix et al. 1990), siendo la mejor fuente algunas bebidas como el vino tinto, café y té (Scalbert y Williamson, 2000).

Tabla 4. Principales clases de compuestos fenólicos

Átomos de carbono	Estructura Básica	Clase	Ejemplo	Fruto (Ejemplo)
7	C ₆ - C ₁	Ácido hidroxibenzoico	p-hidroxibenzóico	Fresa
9	C ₆ - C ₃	Ácido hidroxibenzoico cumarinas	cafeico scoolina	Manzana Citrícos
10	C ₆ - C ₄	Naftoquinonas	Juglona	Nuez
13	C ₆ - C ₁ - C ₆	Xantonas	Mangiferina	Mango
14	C ₆ - C ₂ - C ₆	Estibenos	Resveratrol	Uva
15	C ₆ - C ₂ - C ₆	Flavoniodes	quercetina	Cereza
		Isoflavonoides	cianidina	Frijol de soya
		Ligninas	daidzeina	Frutos con hueso
		Taninos		

Macheix et al. 1990.

Otros polifenoles que se consideran importantes en los alimentos y en la misma alimentación, son el ácido gálico, sináptico, ferúlico, cafeico, p- cumárico, y sus derivados así como los flavonoides y sus glucósidos. Las antocianinas y flavonoles son pigmentos importantes en una gran variedad de frutas y verduras. (Lee, 1992).

1.9.2. Biosíntesis de compuestos fenólicos

Estos compuestos se sintetizan a partir de dos principales rutas metabólicas: la ruta del shikimato la cual origina directamente fenilpropanoides como los ácidos hidroxicinámicos (figura 5 y figura 6); y la ruta del acetato, la cual produce fenoles simples y algunas quinonas (Decker, 1997).

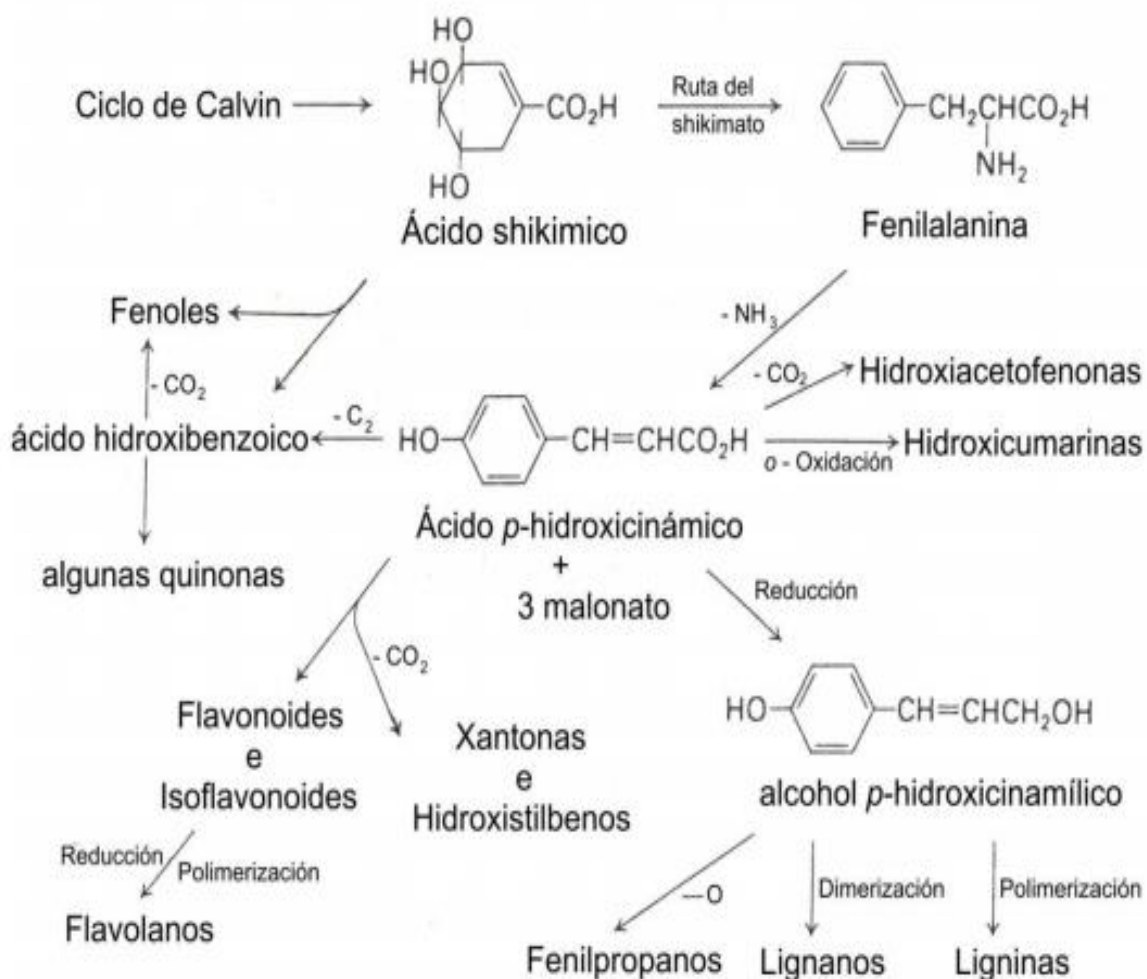


Figura 5. Biosíntesis de los compuestos fenólicos a partir de la vía del shikimato y fenilalanina
Fuente; Harborne, 1989.

El grupo más importante de los compuestos fenólicos son los flavonoides, incluyendo flavonas, isoflavonas y antocianidinas, las que se forman vía condensación del fenilpropano (C6 – C3), con la participación de 3 moléculas de malonil coenzima A, la cual permite la formación de chalconas, que posteriormente se ciclan en condiciones ácidas. Por lo que los flavonoides tienen la estructura básica de los difenilpropanoides (C6 – C3 – C6) que consiste en dos anillos aromáticos unidos a 3 carbonos que forman un anillo heterocíclico oxigenado. El estado oxidativo de esta cadena de 3 carbonos, determinan las diferentes clases de flavonoides. Los flavonoides incluyen antocianinas (glucósidos ó acilglucósidos de las antocianidinas), flavanoles (catequinas), flavonoles, flavonas, isoflavonas, flavononoles y sus derivados como se indica en la figura 6.

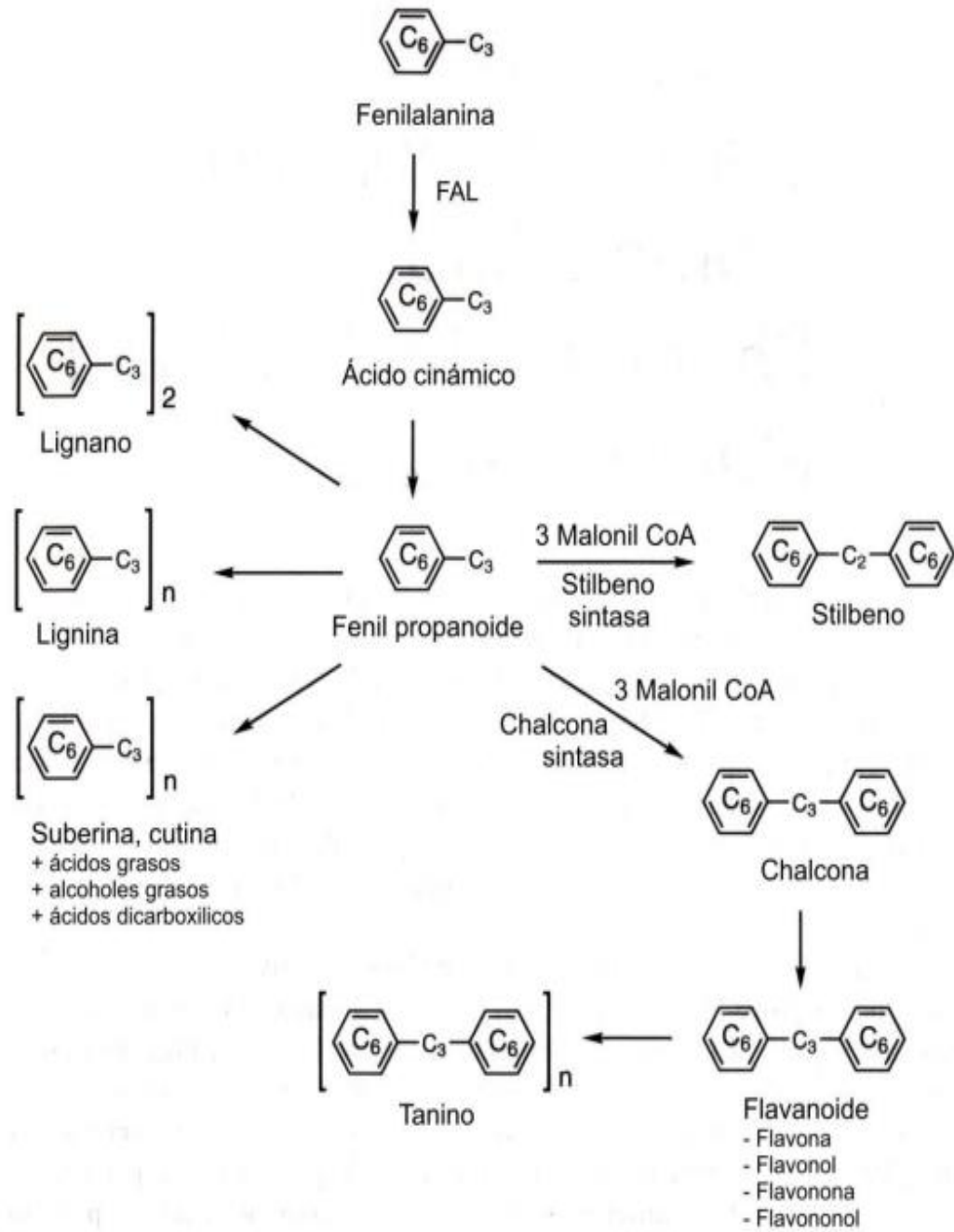


Figura 6. Formación de fenilpropanoides, estilbenos, lignanos, ligninas, suberinas, cutinas, flavonoides y taninos a partir de la fenilalanina. FAL: Fenilalanina amonio liasa.

Fuente; Shahidi y Naczk 2004.

1.9.3 Actividad biológica de los compuestos fenólicos

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienviejecimiento (Velioglu et al, 1998; Proestos et al, 2005).

Un aumento en la ingesta de antioxidantes fenólicos naturales se correlaciona con una reducción de las enfermedades coronarias. Dietas ricas en compuestos fenólicos se asocian con mayor expectativa de vida. Estas propiedades incluyen actividad anti- cáncer, antiviral, antiinflamatoria, efectos sobre la fragilidad capilar, y habilidad para inhibir la agregación de las plaquetas humanas. Estos compuestos pueden moderar la peroxidación de los lípidos involucrados en la aterogénesis, trombosis y carcinogénesis. Sus propiedades conocidas incluyen la captura de radicales libres, fuerte actividad antioxidante, inhibición de las enzimas hidrolíticas y oxidativas (fosfolipasa A2, ciclooxigenasa, lipoxigenasa) y acción antiinflamatoria (Siddhuraju et al., 2003).

1.9.4. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

El comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos parece estar relacionado con su capacidad para quelar metales, inhibir la lipoxigenasa y captar radicales libres, aunque en ocasiones también pueden promover reacciones de oxidación *in vitro* (Decker, 1997). Por lo que los polifenoles pueden prevenir a la oxidación lipídica, la mutación del DNA y el daño del tejido (Figura 7).

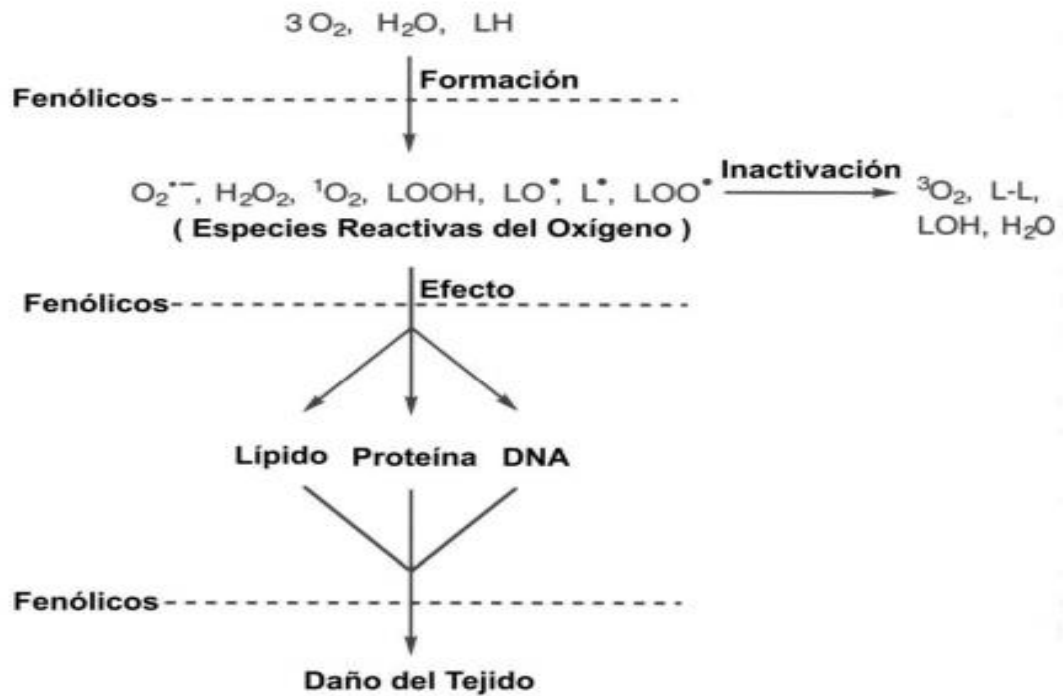


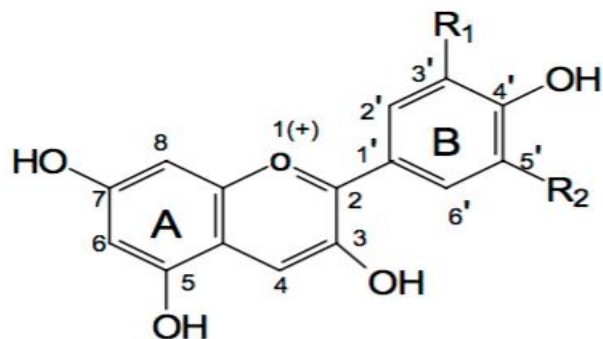
Figura 7. Consecuencias de las ERO en enfermedades y el papel preventivo de los polifenoles
Fuente; Shahidi y Naczk, 2004.

1.10. Antocianinas

Las antocianinas son un grupo de pigmentos de color rojo, hidrosolubles, ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Fennema, 2000). Son parte de los compuestos fenólicos conocidos como flavonoides con un anillo-A benzoil y un anillo-B hidroxicinamoil (Strack y Wray, 1989).

1.10.1 Tipos de antocianinas

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 C. Variaciones estructurales del anillo B resultan en seis antocianidinas conocidas como se muestra en la figura 8.



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

Figura 8. Estructura y sustituyentes de las antocianinas (Durst y Wrolstad, 2001).

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas.

En la naturaleza, las antocianinas siempre presentan sustituciones glicosídicas en las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos que incrementan su solubilidad. Dentro de los sacáridos glicosilantes se encuentran la glucosa, galactosa, xilosa, ramnosa, arabinosa, rutinosa, soforosa, sambubiosa y gentobiosa. Otra posible variación en la estructura es la acilación de los residuos de azúcares de la molécula con ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos pueden ser alifáticos, tales como: malónico, acético, málico, succínico u oxálico; o aromáticos: p-coumárico, caféico, ferúlico, sinápico, gálico, o p-hidroxibenzóico. (Stintzing *et al.*, 2002), demostraron que el tipo de sustitución glicosídica y de acilación producen efectos en el tono de las antocianinas; es así como sustituciones glicosídicas en la posición 5 al igual que acilaciones aromáticas, producen un desplazamiento hacia las tonalidades púrpura.

1.10.2. Fuente de Antocianinas

La principal fuente de antocianinas son frutas rojas, principalmente bayas y uvas rojas, cereales, principalmente maíz morado, vegetales y vino rojo entre las bebidas (Harbone, 1993; Escribano-Bailon *et al.*, 2004).

1.10.3. Acción de las antocianinas

Las antocianinas tienen la habilidad de capturar radicales libres como el superóxido (O_2^-), oxígeno (O_2), peróxido (ROO^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radicales de hidroxilo (OH^-). La acción antioxidante de las antocianinas es atribuida específicamente a la presencia de grupos hidroxilos en la posición 3 del anillo C y en las posiciones 3', 4' y 5' del anillo B (Cone, 2007). En general, la capacidad antioxidante de las antocianidinas (agliconas) es superior al de antocianinas, capacidad que se incrementa al aumentar el número de azúcares en la molécula. Los efectos antioxidantes de las antocianinas *in vitro* se han demostrado en varios cultivos celulares de células de colon, endoteliales, hepáticas y leucocitos (Wang y Stoner, 2008).

1.10.4. Antocianinas en maíz

En maíz la mayoría de las antocianinas derivan de cianidina. Hay antocianinas cuya estructura está conformada por la antocianidina y un azúcar unido comúnmente a la posición 3' de la estructura de tres carbonos, y son las de tipo no acilado. Sin embargo, es posible que al azúcar se una un radical acilo proveniente de ácidos orgánicos, ya sean alifáticos o aromáticos; cuando esto ocurre se generan las antocianinas de tipo aciladas (De Pascual-Teresa y Sanchez-Ballesta, 2008). La presencia de grupos acilo en la molécula de antocianina le confiere estabilidad al pigmento ante condiciones extremas de pH y temperatura (Dougall *et al.*, 1997). En las antocianinas no aciladas el principal azúcar es glucosa (Aoki *et al.*, 2002), aunque algunos investigadores han identificado también al disacárido rutinosa (Abdel-Aal *et al.*, 2006; Zilic *et al.*, 2012).

En el grano se ha reportado la presencia de antocianinas principalmente en el pericarpio, en la capa de aleurona, o en ambas estructuras (Salinas *et al.*, 2005; Cui

et al., 2012). El contenido de antocianinas totales en los granos de maíz puede variar en función del color del grano. En los maíces con tonalidades azul/morado, púrpura o magenta el contenido es mayor que en los granos de color rojo (Lopez-Martinez *et al.*, 2009; Zilic *et al.*, 2012). En la figura 10 se muestra la estructura química de las antocianinas más abundantes en los granos de maíz azul y morado.

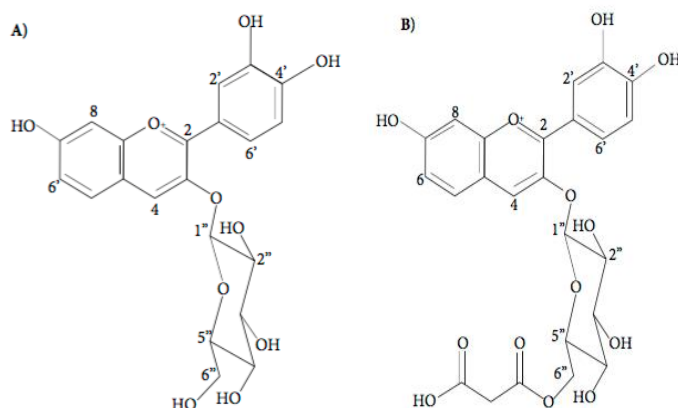


Figura 9. Estructuras químicas de las antocianinas más abundantes en el grano de maíz de color azul/morado.

A) cianidina 3-glucósido, B) cianidina 3-(6''-malonilglucósido).

Fuente: Fossen *et al.*, 2001.

1.10.5. Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas

1.10.5.1 Efecto del pH

Las antocianinas pueden encontrarse en diferentes formas químicas dependiendo del pH, es decir que este factor influye en su estructura y por lo tanto en su estabilidad (Figura 10). A pH 1 predomina el catión flavilio que es de color rojo y es la forma más estable de las antocianinas (Figura 10 A), a valores de pH entre 2 y 4 ocurre la pérdida de un protón y adición de agua, encontrándose las antocianinas preferentemente bajo la formas quinodales (Figura 10 B, C y D) de color azul. A pH entre 5 y 6 se observan las especies pseudobase carbinol, que es incolora (Figura 10 E), y chalcona, de color amarillo (Figura 10 F), ambas bastante inestables. A pH superiores a 7 se produce la degradación rápida de las antocianinas por oxidación con el aire.

Esta reacción se ve afectada, además del pH, por la presencia de sustituyentes presentes en el anillo B (Moldovan *et al.*, 2012; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009a;

Garzón, 2009).

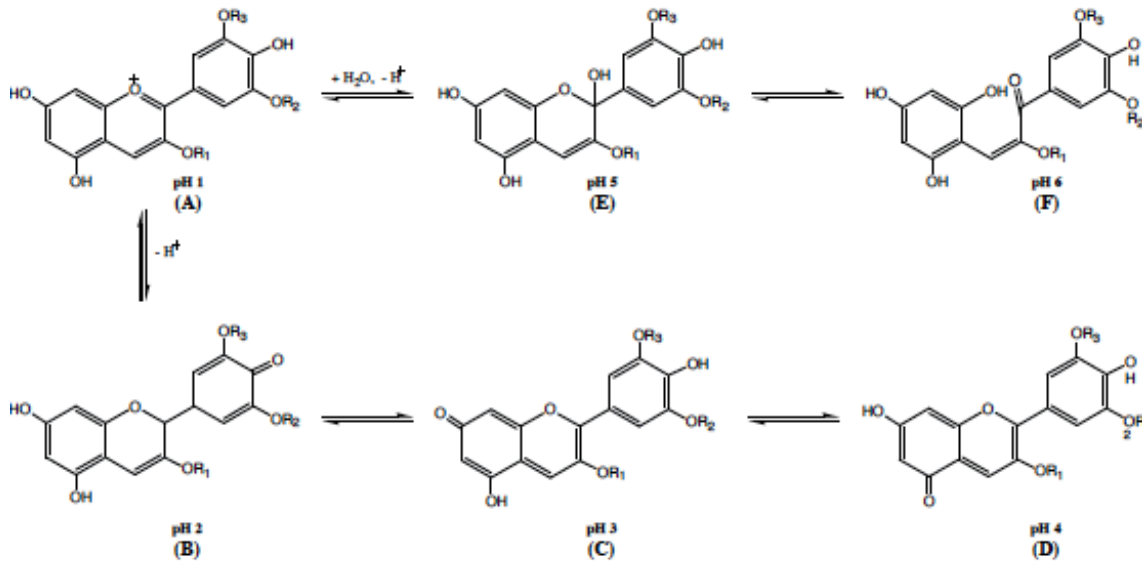


Figura 10. Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH. Dónde R1= H o glúcido, R2 y R3= H o metilo (Castañeda-Ovando et al., 2009a).

1.10.5.2 Efecto de la temperatura

La temperatura es otro de los factores críticos que influyen en la degradación de antocianinas (Min-Sheng y Po-Jung, 2007). Las conversiones estructurales de las antocianinas son reacciones endotérmicas. Resisten bien procesos térmicos a altas temperaturas durante cortos periodos de tiempo. Por efecto del calor (a temperaturas por encima de los 60°C) se degradan según una cinética de primer orden. En general las características estructurales que conducen a una mayor estabilidad al pH son las mismas que conducen a una mayor estabilidad térmica. Por lo tanto las antocianinas altamente hidroxiladas son menos estables térmicamente que las metiladas, glicosidadas o acetiladas (Fennema, 2000). Incrementos de temperatura provocan pérdidas del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y apertura de anillo, con la consecuente producción de chalconas incoloras (Garzón, 2008).

1.10.5.4 Copigmentación

La copigmentación es uno de los principales factores de estabilización de la estructura del catión flavilio in vivo (Sari et al., 2012; Kopjar et al., 2011; Gradinaru et al., 2003). Las formas coloreadas de las antocianinas pueden estabilizarse por interacción con componentes, llamados copigmentos, que existen en las células de las flores, frutas y berries (Rein, 2005). Los copigmentos pueden ser flavonoides, polifenoles, alcaloides, aminoácidos, ácidos orgánicos y grupos acilo aromáticos, entre otros (Sari et al., 2012; Lewis y Walker, 1995).

La copigmentación se lleva a cabo en un rango de pH ácido (Mazza, 1995) y puede ocurrir a través de una serie de interacciones. Los mecanismos más importantes son las: copigmentación intermolecular, copigmentación intramolecular, autoasociación y formación de complejos de metales (Figura 11).

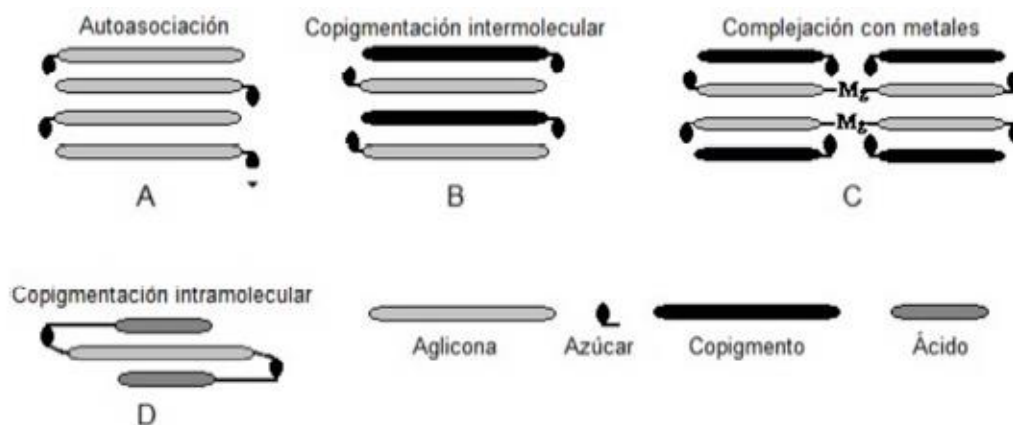


FIGURA 11. Interacciones de Antocianinas (Rein, 2005)

1.11. Nixtamalización

Este es el principal proceso de transformación del maíz para su consumo y fue desarrollado por los aztecas antes de la época precolombina: *nixtamalización* (del náhuatl, *next li*, cal de cenizas; y *tamalli*, masa cocida de maíz) (Cabrera, 1992).

El maíz nixtamalizado es molido en un metate para producir la masa que se utiliza para formar a mano discos que luego son cocidos en un comal de barro. Es importante indicar que el proceso de molienda requiere la adición de agua y que la masa llega a tener de 48 a 55% de humedad. Finalmente el disco de masa, de aproximadamente 20 centímetros de diámetro, se cuece permitiendo que un lado

de la tortilla esté en contacto con el calor de 30 a 45 segundos, se voltea para cocer el otro lado durante un minuto y otra vez el lado inicial por otros 30 segundos para completar la cocción. El producto resultante era llamado en nahuatl *tlaxcalli* y fue nombrado *tortilla* por los españoles. (Paredes et al.,, 2009)

El proceso de nixtamalización tradicional involucra cambios químicos, estructurales y nutricionales en los diversos constituyentes del grano (Gómez *et al.*, 1989; Bressani, 1990; Serna-Saldívar *et al.*, 1990; Ramírez-Wong *et al.*, 1994; Rojas-Molina *et al.*, 2007).

1.11.1. Factores que influyen en el proceso de nixtamalización

Los factores que influyen en el proceso de nixtamalización son: tiempo y temperatura de cocimiento, clase y concentración de cal, características físicas y químicas del maíz (tipo de endospermo, estructura del grano, dureza, homogeneidad en tamaño ,porcentaje de grano dañado, relación amilosa:amilopectina) frecuencia de agitación durante el cocimiento, así como procedimientos de lavado y reposo (Trejo et al. 1982; López y Segurajaúregui, 1986; Rooney y Serna et al., 1988; Baéz y Martínez, 1990).

1.11.2. Efecto de la nixtamalización sobre la biodisponibilidad de nutrientes

Los procesos de conversión de un alimento crudo a uno listo para su consumo pueden afectar la biodisponibilidad de los nutrientes y en el caso de la nixtamalización del maíz, las condiciones alcalinas, las temperaturas, el tiempo de cocción y la presencia de altos niveles de calcio, podrán interferir con la bioutilización de nutrientes en la tortilla (Contreras, 2009).

1.11.3. Cambios en el maíz inducidos por el proceso

La conversión del maíz en masa y luego en tortilla involucra un proceso en el cual además del tipo de maíz, participan la adición de agua, de hidróxido de calcio, tratamiento térmico, periodo de remojo y la acción de la molienda. Estos factores inducen cambios en la estructura del grano, en su composición química, en sus propiedades de funcionalidad y en valor nutritivo.

1.11.4. Cambios estructurales en el grano de maíz

La cocción alcalina del maíz por periodos de tiempo de alrededor de 35-60 min, asociada al remojo en medio alcalino por 8–14 h, causa un rompimiento parcial del pericarpio, que se remueve fácilmente con una simple frotación y lavado del grano. La eliminación del pericarpio facilita la absorción de agua y de calcio, ya que representa la primera barrera a este proceso. Esta estructura de grosor variable entre maíces está formada por celulosa, hemicelulosa, lignina y proteínas fijadas en estos compuestos. El pH alcalino solubiliza y desintegra esa estructura, contribuyendo a darle a la masa características de suavidad y plasticidad.

La cocción alcalina induce una hinchazón y debilitamiento de la pared celular y de los componentes de la fibra, lo que permite y facilita la eliminación del pericarpio. Esta se inicia durante la cocción, continua durante el remojo del grano y se completa durante el lavado del maíz cocido para dar el nixtamal. El peso seco del grano del maíz al inicio disminuye con el tiempo de cocción para luego aumentar a valores similares a los iniciales. Este comportamiento puede deberse a pérdidas de materiales orgánicos que salen del grano al medio de cocción. El incremento en peso deberse posiblemente a la absorción del calcio que se inicia durante la cocción y continúa durante la fase de remojo.

La capa aleurónica y sus células quedan intactas y pegadas a la superficie del endospermo, sirviendo como una estructura de retención del mismo. Posiblemente debido a la característica de semipermeabilidad de la capa aleurónica, se reduce la pérdida de proteínas del endospermo y el nitrógeno que se pierde puede ser de proteínas de muy bajo peso molecular (Paredes y Saharopulos, 1982; Serna et al., 1990; Rojas et al., 2007).

1.11.5. Cambios en el contenido de antocianinas de productos nixtamalizados

La estabilidad de las antocianinas depende principalmente de la presencia de luz, oxígeno, pH, presencia de iones metálicos (Ca^{2+}) y de la temperatura (Bordignon-Luiz *et al.*, 2007), y por ello los maíces que contienen estas biomoléculas son difíciles de procesar. Durante la NT y otros procesos alternos, ocurren varios de los

factores antes mencionados.

Durante el procesamiento por NT el maíz es sometido a condiciones de alto contenido humedad, calor (80 a 105 °C) y un pH elevado (11 a 12). La NT reduce significativamente el contenido de antocianinas en los maíces pigmentados, pérdida que se debe a que gran cantidad de estos compuestos se solubilizan en el agua de cocción con pH elevado y temperatura extrema, lo que degrada a los compuestos. Además, otras estructuras químicas derivadas de los polifenoles son afectadas por el rompimiento de enlaces éster, y como consecuencia se liberan los fenoles a la solución de cocimiento. La mayor parte de estos compuestos se encuentran en el pericarpio del grano, y son eliminados durante el lavado del nixtamal (De la Parra *et al.*, 2007).

Salinas-Moreno *et al.* (2007) reportaron mayores contenidos de fenoles totales y libres en muestras de masas y tortillas nixtamalizadas mediante el método tradicional, comparados con los valores encontrados en el grano crudo, y también describieron algunos de los efectos de la NT en el oscurecimiento de masas y tortillas elaboradas con maíces comerciales.

Por su parte, López-Martínez *et al.* (2011) evaluaron el efecto de la NT sobre el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante en tortillas elaboradas con maíz blanco, azul, rojo y morado. Encontraron una disminución en el contenido de antocianinas y fenoles debida al tratamiento térmico alcalino. Sin embargo, la masa y tortilla del maíz morado 'Veracruz 42' presentaron una mayor capacidad antioxidante, lo que atribuyeron al elevado contenido de antocianinas y fenoles presentes en esta variedad de maíz, demostrando así que la pérdida de antocianinas está relacionada con la variedad de maíz utilizada. Estos autores también reportaron un incremento en la capacidad antioxidante al cocer la masa para obtención de tortillas, debido probablemente al aumento de fenoles solubles.

1.12. Tortilla

La tortilla de maíz es uno de los alimentos tradicionales más importantes en México, el proceso mediante el cual se obtiene es conocido como nixtamalización. Las

tortillas se pueden encontrar en color blanco, amarillo, rojo y azul, esto se debe a los pigmentos naturales contenidos en las distintas variedades de maíz con el que se elaboran.

Dichos pigmentos que se encuentran en el maíz están constituidos por fenoles, antocianinas y flavonoides, a los cuales, presentes en otros alimentos, se les ha atribuido la propiedad de inducir enzimas de fase 2 como la glutathion-S-transferasa (GST) y quinona oxidoreductasa 1 (QR). Además la tortilla contiene un contenido significativo de fibra, a la cual se le atribuye la capacidad de reducir los niveles de colesterol y triglicéridos y disminuye la actividad de la enzima llamada β -glucuronidasa en el colon. Las enzimas de fase 2 son enzimas quimioprotectoras que funcionan desintoxicando y eliminando metabolitos carcinógenos en diferentes tejidos corporales, especialmente en el hígado e intestinos, disminuyendo el riesgo de contraer cáncer. De manera similar la disminución de la actividad de la β -glucuronidasa en el intestino disminuye el riesgo de contraer cáncer. Por otro lado existe una relación alta entre los niveles bajos de colesterol y triglicéridos y el riesgo de contraer cáncer. Por lo tanto, el consumo de tortilla podría tener un efecto quimio protector contra el cáncer y enfermedades coronarias (Guerrero y Loarca, 2011).

1.12.1. Ingesta de tortilla en la dieta

Guerrero y Loarca, (2011) realizaron pruebas en ratas y en general, los tratamientos con las dietas adicionadas con tortilla de maíz rojo y blanco mostraron un significativo cambio en los parámetros relacionados con el riesgo de contraer cáncer, lo que demuestra la importancia de consumir tortilla en la dieta diaria. En base a los resultados mostrados se encontró que la concentración de 27% mejora significativamente los marcadores de riesgo asociados a cáncer de colon.

1.13 Detección e identificación de Antocianinas

Las propiedades espectrales son a menudo usadas para la caracterización de antocianinas, especialmente para identificar el tipo de antocianina. El análisis espectrométrico UV es la técnica usada comúnmente para identificar y cuantificar antocianinas. Como se describió anteriormente, el espectro de absorción de las antocianinas depende del pH. La absorción máxima a 520-540 nm en la región

visible es la longitud de onda más común usada en la medición espectrofotométrica de antocianinas (Horbowicz *et al.*, 2008).

2._Objetivo

2.1 Evaluar el efecto de la nixtamalización sobre los compuestos fenólicos totales, antocianinas y actividad antioxidante de las variedades de maíz amarillo, rojo y azul.

Objetivos Específicos

2.1.1 Cuantificar y comparar el contenido de compuestos fenólicos totales en el grano crudo, masa y tortilla de las variedades de maíz amarillo, rojo y azul

2.1.2 Determinar el contenido de antocianinas de los granos crudos, la masa resultante de la nixtamalización y las tortillas de las 3 variedades de maíz.

2.1.3 Determinar la actividad antioxidante de los granos crudos, la masa resultante de la nixtamalización y las tortillas de las 3 variedades de maíz.

3._Hipótesis

La nixtamalización afectará el contenido de compuestos fenolicos, antocianinas y actividad antioxidante de las tres variedades de maíz.

4._Materiales y Métodos

4.1 Reactivos

Reactivo de Folin-Ciocalteu, ácido gálico, carbonato de sodio, etanol, persulfato de potasio, 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico (Trolox), metanol, DPPH⁻ (2,2-difenil-1-picrilhidro), peróxido de hidrógeno H₂O₂, 2-2'-azinobis (3-etilbenzotoline-6-ácido sulfónico (ABTS), β-caroteno, cloroformo, α-tocoferol, tween 20, ácido linoleico.

El agua utilizada en el experimento fue grado potable, utilizando una marca comercial.

4.2 Maíz

Las variedades de maíz utilizadas en este estudio se obtuvieron de mercados regionales del estado de México entre los meses de Mayo y Julio de 2015, se utilizaron 3 variedades (Figura 12).

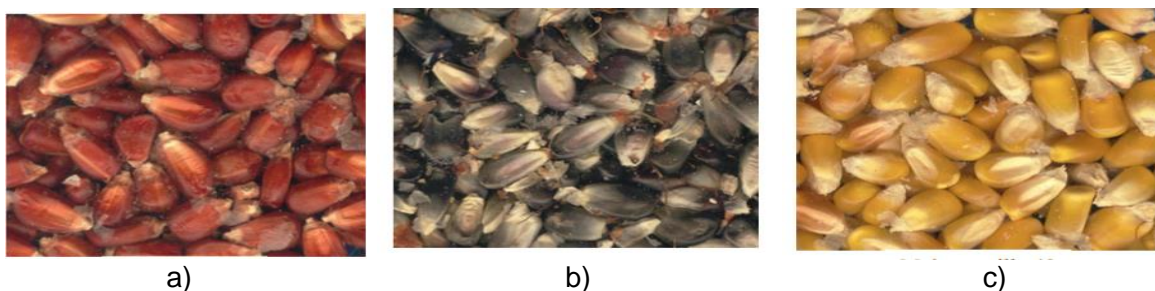


Figura 12. Variedades de granos de maíz utilizados en el estudio
a) maíz rojo; b) maíz azul ; c) maíz amarillo

Se seleccionaron los granos de tamaño y color uniforme, libre de daño visible y hongos.

En el caso de los granos crudos se molieron en un molino de granos (Krupstyp 408) hasta obtener una harina fina y posteriormente se almacenó a temperatura ambiente en frascos de plástico y protegidos de la luz hasta el momento de ser utilizados.

4.3. Propiedades físicas de los granos

4.3.1. Peso

Dentro de las propiedades físicas se evaluó el peso del grano de maíz con la técnica de peso de los 1000 granos. Para esta determinación se pesaron 100 granos de cada una de las variedades en una balanza analítica marca Ohaus y el resultado obtenido se multiplicó por 10 para obtener el peso total de los granos (Mohamed *et*

al., 1993)

4.3.2 Dureza

La dureza del endospermo se determinó al evaluar la proporción de granos que flotan en una solución de nitrato de sodio ($d = 1.275 \text{ g/cm}^3$.)

(Martínez, 1992). El método se fundamenta en que el endospermo duro contiene mayor cantidad de proteínas, lo que le da mayor densidad al grano haciendo que los mismos se depositen en el fondo de la solución.

4.3.3. Densidad

La densidad del grano se determinó colocando 10 granos de maíz previamente pesados en una probeta que contenía 50 mL de etanol, se determinó el incremento de volumen y se expresó la densidad en g/mL. (Aguirrezábal y Andrade, 1998).

4.4. Nixtamalización y producción de masa y tortillas

Se seleccionaron granos sanos, sin rajaduras e impurezas o dañados por hongos o insectos, de color brillante y sin daños de secado. El proceso de nixtamalizado para cada tipo de maíz fue determinado de acuerdo al método de la bolsa de nylon (Serna-Saldivar et al., 1993; González, et al., 2004).

3 kg de maíz blanco fueron colocados en 9 L de una solución de hidróxido de calcio (3.3 g por litro), durante 20 min a 90 °C, mientras que las variedades coloreadas se colocaron en una solución similar de hidróxido de calcio hasta que la solución alcanzó los 90 °C, lo cual es reportado como 90°C por 0 min. Los nixtamalizados se dejaron reposar por 12 h y posteriormente se lavaron con agua de la llave para remover el pericarpio y el exceso de la solución de hidróxido de calcio. Se molieron en un molino para producir la masa, adicionándose agua durante el proceso para incrementar la humedad del producto.

La masa se dividió en 2 partes.

De una parte se tomaron porciones de 25 g a modo de una bola, y se colocaron junto con un papel plástico sobre una máquina para tortillas, la cual consta de 2 discos metálicos redondos y una palanca que ejerce presión a modo de obtener una forma plana y redondeada, posteriormente se colocó sobre un comal caliente.

Después de la elaboración una muestra de la masa producto del nixtamal y una

muestra de las tortillas, fueron trituradas en pedazos pequeños para posteriormente deshidratarse en una estufa a una temperatura de 40°C por 48h . Una vez finalizado el tiempo las muestras se dejaron reposar por 2 h y después se molieron en un molino para granos hasta obtener un polvo fino, las muestras fueron almacenadas en frascos de plástico a temperatura ambiente y protegidas de la luz hasta el momento de ser utilizadas.

4.5. Extracciones

4.5.1. Preparación de los extractos acuosos.

Los extractos acuosos fueron obtenidos de acuerdo a la adaptación de la técnica de Wettasinghe et al. (2002) y modificado por Lopez-Martinez et al (2010).

Cinco gramos de harina de maíz fueron mezclados con 25 mL de agua y homogenizados con agitación constante en un agitador orbital (Lab-Line Orbiton Environ, Modelo 3520) a temperatura ambiente durante 2 h.

Se retiró el sobrenadante de los extractos y posteriormente se colocó en tubos Eppendorf y se centrifugo por 15 min a 15000 xg en una centrifuga (Eppendorf 5810R). Los extractos fueron almacenados en refrigeración protegidos de la luz 4°C por no más de 2 días, hasta el momento de ser analizados.

4.5.2. Preparación de los extractos etanólicos.

Los extractos etanólicos fueron extraídos de acuerdo a lo establecido por Cevallos-Casals y Cisneros-Zevallos, (2003) y modificado por López Martínez et al 2009.

Cinco gramos harina de maíz, masa y tortilla fueron extraídos con 25 mL de etanol acuoso (5:95 v/v, agua: etanol) se colocaron en tubos de plástico y cubiertos de la luz en agitación constante en un agitador orbital a temperatura ambiente durante 2 h.

Posteriormente se dejaron reposar en refrigeración a 4°C por 24 h.

Se retiró el sobrenadante de los extractos y posteriormente se colocaron en tubos Eppendorf y se centrifugaron por 15 min a 15000 xg en una centrifuga. Los extractos fueron almacenados en refrigeración a 4°C protegidos de la luz por no más de 1 día, hasta el momento de ser analizados.

4.6 Determinación de compuestos fenólicos totales

Para la determinación de los compuestos fenólicos totales se adaptó la técnica de Swain y Hillis (1959) modificada por Vinson et al (2001), y se determinaron en base a una curva estándar (Anexo 2).

En tubos de ensayo de vidrio se colocaron 100 μ L de los extractos, se agregó 650 μ L de agua, posteriormente se agregaron 375 μ L de una solución 0.1 N del reactivo de Folin-Ciocalteu y 1.875 mL de solución de carbonato de sodio al 7%, se agitaron en un Vortex, y se dejaron en reposo por 30 minutos a temperatura ambiente y en ausencia de luz, una vez transcurrido el tiempo se determinó la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro UV-VIS (Velab VE5600UV).

El contenido de compuestos fenólicos totales fue expresado como mg de ácido gálico por cada 100 gramos de harina. Los resultados son reportados como la media de tres réplicas.

4.7 Determinación de antocianinas totales

Para el análisis de las antocianinas totales se adaptó la técnica espectrofotométrica de Abdel-Aaal y Hucl (1999) (Anexo 1), por la medición de absorbancia de los extractos etanólicos del maíz y sus productos a pH 1.0.

Cinco gramos de los productos a determinar fueron homogenizados con 25.0 mL de una solución ácida de etanol (etanol acuoso al 85%), en tubos protegidos de la luz, colocados en agitación constante por 2 h en un agitador orbital a temperatura ambiente, los extractos se mantuvieron en reposo a 4°C durante 24 h y posteriormente se colectó el sobrenadante y se colocó en tubos eppendorf y se centrifugaron a 13000 xg durante 15 min en una centrifuga. Para las lecturas se realizaron las diluciones siguientes 2:2 (2mL de extracto y 2mL de la solución extractora), 1:3 (1mL de extracto y 3mL de solución extractora) 3:1 (3mL de extracto y 1mL de solución extractora) se diluyo y posteriormente se determinaron absorbancias a 535 nm. Las antocianinas totales son expresadas como mg de cianidina 3-glucósido por cada 100 gramos de harina. Los resultados son reportados como la media de tres réplicas.

Para calcular la concentración en la muestra original se sigue la siguiente fórmula:

Antocianina (mg L) = $(A * \text{Peso molecular} * FD * 1000) / (\epsilon * 1)$

PM: 449.2 g/mol

A = Es la absorbancia antes calculada

FD = Es el factor de dilución

ϵ = El coeficiente de extinción molar (26900 g/mol cm)

4.8 Determinación de la actividad antioxidante total por el método de ABTS^{•+}. 2-2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazonilo-6-ácido sulfónico)

El ensayo de actividad antioxidante total fue adaptado del método de Rice-Evans y Miller (1994) (Anexo 3). Este método se basa en la inhibición por los antioxidantes de la absorbancia del radical catión ABTS^{•+} que es formado por la interacción de ABTS con radicales de la ferrilmioglobina, los cuales son generados por la activación de metmioglobina con peróxido de hidrógeno. Los antioxidantes suprimen la absorbancia del radical catión ABTS^{•+}, dependiendo de la capacidad de la sustancia investigada. Todos los reactivos fueron preparados en un amortiguador salino de fosfato 10 mM (PBS pH 7.4). Los extractos fueron probados a una concentración 0.1 mM de compuestos fenólicos, utilizando trolox como testigo y el ensayo se inició agregando peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Se tomaron medidas de absorbancia a 734 nm cada 30 s durante 10 min, y el porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{Inhibición} = \left(\frac{\text{Abs inicial} - \text{Abs final}}{\text{Abs inicial}} \right) \times 100$$

4.9 Determinación de la actividad antioxidante total por el método de DPPH[•] (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)

La capacidad de inhibir la acción del radical DPPH[•] de los extractos fue determinada por el método de Kim et. al (2003) (Anexo 4). El radical DPPH[•] fue disuelto en etanol acuoso (etanol: agua, 80:20 v/v) para obtener una concentración final 200 nM. 100 μ L de una serie de concentraciones de cada extracto (0 a 1 mg/mL de compuestos fenólicos) se adicionaron a 2.9 mL de la solución del radical DPPH[•]. Se utilizó como control 100 μ L de metanol acuoso (metanol: agua, 80:20 v/v) adicionado a 2.9 mL

de la solución del radical DPPH. La mezcla fue suavemente homogenizada, posteriormente fue puesta en reposo a 25°C en la oscuridad durante 30 min. La absorbancia de las mezclas se determinó a 517 nm.

La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de inhibición del radical. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

4.10 Blanqueamiento de β -Caroteno

Este ensayo se basa en el blanqueamiento de la solución de β -caroteno y de la habilidad de los antioxidantes para inhibir la decoloración de la solución propiciada por la oxidación del ácido linoléico. Se adaptó del método descrito por Miller (1968) y modificado por López Martínez (2009) (Anexo 6). 1 mL de una solución de β -caroteno (0.2 mg/mL en cloroformo) fue adicionada a un matraz de fondo plano de 50 mL que contenía una solución de 0.2 mL de Tween 20 y 0.02 mL de ácido linoléico, se agitó la mezcla y se le agregaron los extractos a diferentes concentraciones de compuestos fenólicos totales. La mezcla se agitó manualmente y se evaporó hasta sequedad bajo vacío a 25 °C, posteriormente se le agregó 50 mL de una solución de H₂O₂ al 3% y se agitó vigorosamente por 45 s hasta formar un liposoma. Las muestras fueron incubadas a 50 °C en ausencia de luz, se tomaron lecturas de absorbancia a 470 nm cada 10 min hasta 2 horas a partir del momento de la adición de peróxido de hidrógeno H₂O₂. La actividad antioxidante fue expresada como porcentaje de retención de β -caroteno.

Todos los análisis fueron realizados por triplicado.

4.11 Análisis Estadístico

Todos los resultados fueron analizados en el paquete estadístico SPSS, el análisis factorial de los extractos contemplo los factores: grano crudo, masa producto de la nixtamalización y tortilla. Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan ($p < 0,05$), se realizó un ANOVA para cada grupo de datos de acuerdo a la variedad de maíz analizada durante el experimento y la hipótesis planteada en los experimentos fue que los tratamientos de nixtamalización y elaboración de la tortilla provocan diferencias significativas sobre la concentración de antocianinas totales, compuestos fenólicos totales y actividad

antioxidante en las distintas variedades.

5.0

Resultados y discusiones

5.1 Características del grano

Es fundamental determinar las características físicas y químicas del maíz, dado que influyen en la estabilidad del grano durante el almacenamiento, determinan los parámetros de procesamiento y la calidad de la masa y la tortilla y además eficiencia de conversión a productos (Rojas-Molina et al., 2008).

El peso es un indicador de la dureza del grano de maíz y de la composición del endospermo (Agama-Acevedo et al., 2011), a menor dureza mayor proporción de endospermo harinoso, el cual contiene gránulos de almidón débilmente empaquetados en una matriz de proteína, a diferencia del endospermo vítreo, el cual origina granos más duros debido al alto empaquetamiento de los gránulos de almidón (Gonzalez et al., 2005; Singh et al., 2011).

En el presente estudio, el peso de cien granos (PCG) de las variedades se encontró entre 27.4 y 33.3 g. Salinas-Moreno y Vázquez-Carrillo (2006) clasificaron los granos de maíz en base al PCG, los granos grandes tienen un PCG mayor a 38 g, los medianos entre 33 y 38 g, en tanto que los pequeños presentan valores menores a 33 g, por tanto, las variedades del presente estudio entraron en la categoría de granos pequeños, los cuales podrían ser aptos para la industria de la masa y la tortilla, ya que por su tamaño se hidratan más fácilmente que los grandes, lo cual disminuye el tiempo y energía requeridos para su cocción (Salinas-Moreno et al., 2010).

Cabe mencionar que el índice de flotación representa el número de granos de maíz que flotan en una solución de nitrato de sodio a una densidad de 1.25 g mL. Los granos duros presentan bajos índices de flotación, mientras que los maíces suaves presentan índices altos (Aragón et al., 2012). En la tabla 5 se observa que el maíz amarillo muestra la mayor densidad y en consecuencia mayor problema para flotar.

Muestra	Peso cien granos (PCG)	Peso mil granos (PMG)	Índice de flotación	Densidad (g/ml)
---------	------------------------	-----------------------	---------------------	-----------------

Grano amarillo	27.4	274	12.8	1.115
Grano azul	28.8	288	6.1	1.120
Grano rojo	33.3	333	5.8	1.23

Tabla 5. Características físicas de los granos

En las razas de maíz se ha detectado que las de granos más grandes (como Cacahuacintle y maíz Ancho) son de textura suave, en tanto que las de granos pequeños (como maíz Palomero Toluqueño, Arrocillo y Reventador) son de textura dura (Wellhausen *et al.*, 1951). Se han reportado correlaciones positivas de la dureza con densidad, tamaño del gránulo de almidón, y con el porcentaje de endospermo (Gaytán *et al.*, 2006).

El maíz (*Zea mays L*) por sus características sensoriales es consumido como tortilla, producto resultado de la nixtamalización. Al respecto López-Martínez *et al.* (2011) evaluaron el efecto de la nixtamalización sobre el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante en tortillas elaboradas con maíz blanco, azul, rojo y morado. Ellos encontraron una disminución en el contenido de antocianinas y fenoles debida al tratamiento térmico alcalino. Sin embargo, la masa y tortilla del maíz morado 'Veracruz 42' presentaron una mayor capacidad antioxidante, lo que atribuyeron al elevado contenido de antocianinas y compuestos fenólicos totales presentes en esta variedad de maíz, demostrando así que la pérdida de antocianinas está relacionada con la variedad de maíz utilizada. Estos autores también reportaron un incremento en la capacidad antioxidante al cocer la masa para obtención de tortillas, debido probablemente al aumento de compuestos fenólicos totales.

5.2 Compuestos fenólicos totales

En México, el maíz debe ser procesado para ser consumido en forma de tortilla, según cifras de SAGARPA el maíz mas consumido es el amarillo. El estudio de los compuestos fenólicos es importante por sus propiedades antioxidantes,

antimutagénicas y anticancerígenas. El estudio de los compuestos fenólicos totales se efectuó en 3 variedades de maíz.

Para efectos de este estudio se determinaron los compuestos fenólicos totales en el grano, masa y tortilla a con la finalidad de evaluar el impacto que tiene sobre la concentración de dichos compuestos la exposición a las condiciones alcalinas del proceso de la nixtamalización y posterior cocción

5.2.1 Maíz rojo

El contenido de compuestos fenólicos totales vario notablemente presentandose el porcentaje mas alto en la masa con 1055.26 mg de acuerdo a la figura 13 esto puede ser debido a que la exposición a la temperatura de la nixtamalización y las condiciones alcalinas inducen la liberación de la mayoría de los compuestos fenólicos ligados a las hemicelulosas del pericarpio (Doner y Hickcs, 1997). También es posible que los restos de pericarpio adheridos al grano después del lavado del nixtamal contribuyan a aumentar el contenido de estos compuestos, sin embargo esta concentracion fue afectada durante el proceso de la formacion de la tortilla, la concentracion disminuyo a 578.44 mg este comportamiento se debe a que las tortillas se elaboran a altas temperaturas afectando la estabilidad de los compuestos fenolicos y como consecuencia su perdida.

5.2.2 Maiz azul

El contenido de compuestos fenólicos totales para este maiz, se encontró entre 594.59 mg/100g para la tortilla y 1336.34 mg/100g como lo muestra la figura 13. Si bien es muy conocido que los granos pigmentados presentan concentraciones mas altas de compuestos fenolicos totales se observo una tendencia similar a la del grano rojo, con un aumento en la etapa que corresponde a la coccion.

5.2.3 Maiz amarillo

En el caso del maiz amarillo se observaron los valores mas bajos de compuestos fenolicos totales y una notable disminucion en la etapa que corresponde a la nixtamalizacion con 483.2 mg/100g (caso contrario a la tendencia de los maices

pigmentados) de acuerdo a la figura 13, el comportamiento observado se debe a que a diferencia de las variedades pigmentadas el maíz amarillo en sus componentes contiene carotenos que son los pigmentos responsables de conferir su color característico y en menor cantidad compuestos fenólicos, los maíces pigmentados por su parte se conforman en su mayoría por compuestos fenólicos mayormente el grupo de las antocianinas las cuales confieren las tonalidades azul y rojo, a estos compuestos se pueden encontrar en la capa de la aleurona y el pericarpio, y al ser expuestos a la nixtamalización se liberan en mayor cantidad.

El contenido de compuestos fenólicos totales en masa para este estudio se encontró entre 483.2 y 1336.34 mg de ácido gálico/100g y en tortilla de 578.45 a 688.8 mg ácido gálico/100mg de acuerdo a la figura 13. Respecto al contenido de compuestos fenólicos totales en el grano de maíz, los valores en masa aumentaron considerablemente en las muestras de masa azul y roja. Esto se debe a la hidrólisis alcalina que sufren las diferentes estructuras del grano durante el cocimiento con agua más Ca(OH) en la nixtamalización.

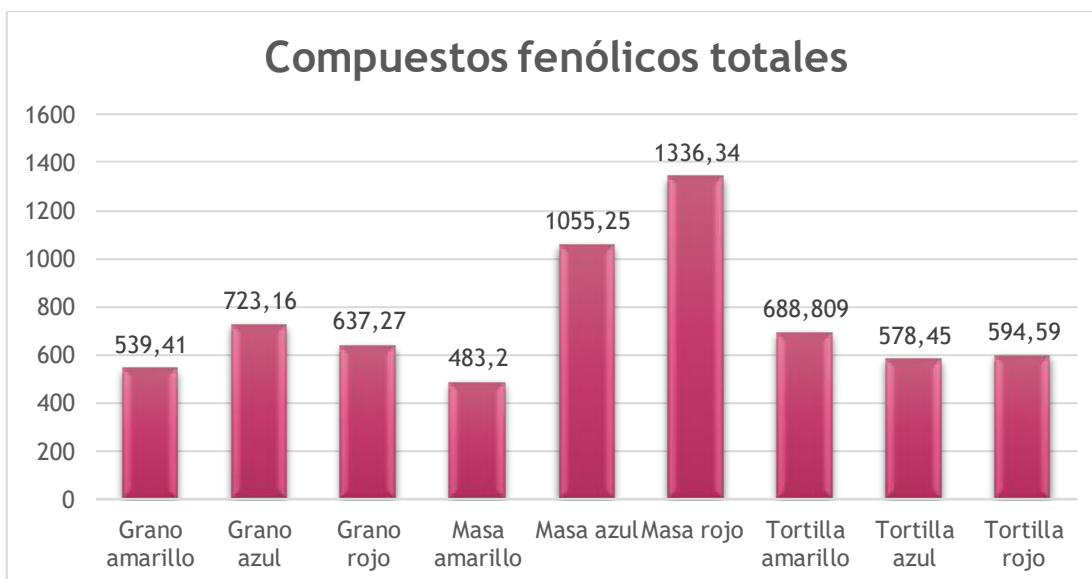


Figura 13. Contenido de compuestos fenólicos totales (mg de ácido gálico/100g masa seca de maíz)

5.4 Antocianinas totales

En el proceso de la elaboración de tortillas se debe considerar que las antocianinas del grano no se destruyan durante la etapa de la nixtamalización y cocción, conservando sus propiedades tanto físicas como nutricionales, así el objetivo del análisis fue determinar la concentración de antocianinas en grano, maíz y tortilla y evaluar el impacto que tiene el proceso de nixtamalización sobre las antocianinas.

5.4.1 Maíz rojo

El color se relaciona con el contenido de antocianinas y los granos rojos presentaron el contenido más alto 53.43 mg/100 mg para la tortilla y 470.57 mg/100g para el grano, como se observa en la figura 14 sin embargo las antocianinas se vieron afectadas durante la etapa que comprende el proceso de la nixtamalización presentándose un porcentaje de pérdida del 88.9% de acuerdo a la tabla 6, al respecto De la Parra *et al.*, (2007) concluyen que la nixtamalización reduce significativamente el contenido de antocianinas en los maíces pigmentados, debido a que gran cantidad de estos compuestos se solubilizan en el nejayote (solución de cocimiento del maíz) la cual posee un pH elevado y temperatura extrema, lo que degrada a los compuestos.

5.4.2 Maíz azul

Para el maíz azul los resultados muestran que el contenido más alto de antocianinas se presenta en el grano crudo con 280.7 mg /100g, mientras que en la masa se muestra una concentración de 82.32 mg/100 mg según la figura 14 valor que se mantuvo hasta la etapa de la cocción, siendo el contenido de antocianinas en la tortilla de 85.33 mg, al respecto la mayor pérdida se da en la etapa de la nixtamalización el equivalente a una pérdida del 71.1% sin embargo en la cocción el porcentaje de pérdida llegó hasta 73% siendo este mucho más favorable que para el maíz rojo en la misma etapa (98%), de acuerdo a la tabla 7, este comportamiento podría estar relacionado con que el pH durante la nixtamalización es de entre 11 y 12, y la temperatura de cocimiento supera 90°C, de manera que en este proceso se

conjugar dos de los factores a los que las antocianinas son más susceptibles (Markakis, 1982), y aunque el tiempo es corto, las condiciones son muy drásticas, y suficientes para destruir 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, dependiendo del pH. Una vez que se alcanza este estado, aun cuando se acidifique el medio, ya no es posible regenerar la estructura de la antocianina, y se puede decir que el pigmento se ha destruido (Brouillard, 1982).

Adicional la mayor parte de estos compuestos se encuentran en el pericarpio del grano, y son eliminados durante el lavado del nixtamal. Sin embargo las antocianinas se encuentran presentes en el pericarpio, en la capa de aleurona o en ambas estructuras del grano (Wellhausen *et al.*, 1951; Salinas, *et al.*, 1999). Los maíces pigmentados en el pericarpio presentan mayores pérdidas de antocianinas durante la nixtamalización, debido a que esta capa se encuentra más expuesta.

Nuestros resultados muestran que el maíz rojo presentó los mayores porcentajes de pérdida, lo que nos indica que los pigmentos asociados con el color se encuentran en su mayoría en el pericarpio, las tortillas de la masa roja también mostraron una coloración amarilla grisácea y evidente pérdida del color rojo característico.

5.4.3 Maíz amarillo

Para el caso del maíz amarillo se obtuvieron resultados no detectables debido a que el maíz amarillo por sus características no contiene antocianinas, como se mencionó anteriormente las antocianinas son las responsables de impartir las tonalidades azul y rojo características de los maíces pigmentados, a pesar de que el maíz amarillo también contiene en su estructura compuestos fenólicos estos no son del tipo antocianínico y por consiguiente no se detectaron en la prueba.

Tabla 6. Pérdida de Antocianinas totales en las etapas de procesamiento

Muestras	Concentración en grano mg/ 100g	%Pérdida total Etapa 1 (Masa)	%Pérdida Total Etapa 2 (Tortilla)
Maiz azul	112.14	71.10%	73%
Maiz rojo	188.22	88.90%	98%

Dado que todas las muestras fueron nixtamalizadas bajo las mismas condiciones las variaciones en el porcentaje de pérdida se deben posiblemente a la protección que la capa de aleurona pudiera proporcionar a los pigmentos en el maíz azul y la alta exposición de los pigmentos del maíz rojo en el pericarpio. (Moreno et.al., 2003)

Mendoza-Díaz *et al.* (2012) evaluaron contenido de antocianinas, capacidad antioxidante y antimutagénica en tortillas elaboradas mediante la nixtamalización en granos de maíces pigmentados criollos de varios colores (blanco, amarillo, rojo y azul) estos autores encontraron resultados similares a los descritos anteriormente respecto a la pérdida de antocianinas durante el procesamiento del grano a masa (83 %) y a tortilla (64 %).

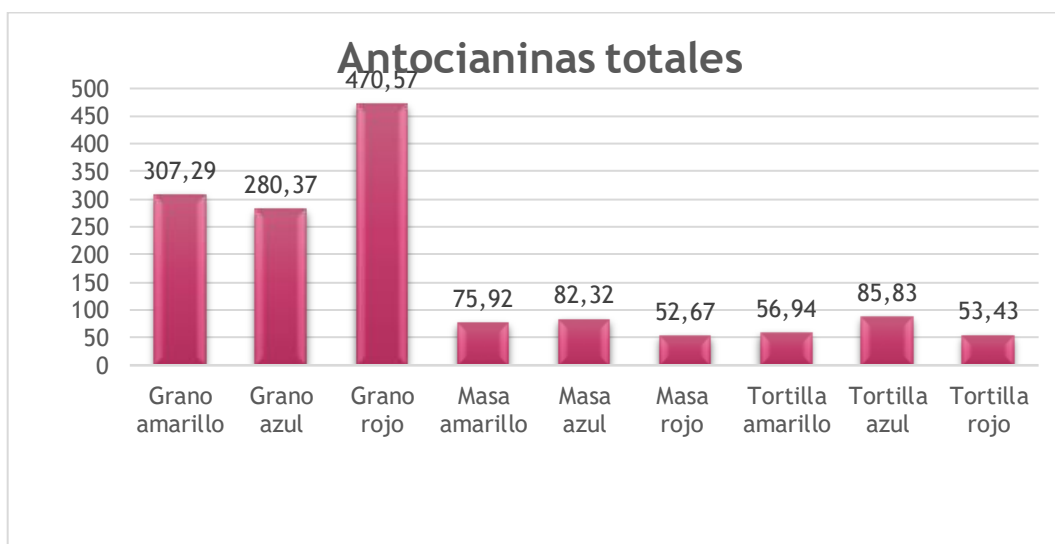


Figura 14. Contenido de Antocianinas totales (mg de cianidina3-glucosido /100 g)

Los fenoles en el grano de maíz están compuestos por ácidos fenólicos y flavonoides y pueden estar en forma libre o soluble, o ligados a biomoléculas como proteínas y carbohidratos estructurales (Adom y Liu, 2002). Las antocianinas son un grupo de flavonoides que como se estudió en el punto 1.10.4 son inestables a

diversas condiciones, la pérdida de antocianinas influye en gran medida con la disminución de los compuestos fenólicos.

5.4 Actividad Antioxidante

Debido a que la generación de radicales libres está directamente relacionada con la oxidación en alimentos y en sistemas biológicos, la búsqueda de métodos para determinar la forma y la capacidad de atrapar radicales libres es muy importante.

5.4.1 Potencial de inhibición sobre $ABTS^{\cdot+}$

El ensayo de ABTS se basa en la transferencia de electrones; por lo cual los diferentes compuestos antioxidantes presentes en los extractos, donan uno o dos electrones para reducir el radical catión $ABTS^{\cdot+}$, dando una medida precisa de la capacidad antioxidante total en el punto final de reacción (Wootton-Beard et al., 2011). Para este ensayo se midió el porcentaje de actividad antioxidante de grano, masa y tortilla frente al $ABTS^{\cdot+}$ radical catión.

5.4.1.1 Maiz amarillo

La actividad antioxidante está relacionada con la habilidad para atrapar radicales libres, en el caso del maíz amarillo se observa que el grano muestra un alto porcentaje 67.21%, este disminuye en la etapa de la nixtamalización 49.18%, aumenta cuando se somete a la cocción 80.01%, de acuerdo a la figura 3, es decir en la formación de la tortilla. Aunque el maíz amarillo no contiene antocianinas, si presenta contenido de carotenoides que ejercen actividad antioxidante, en los granos de maíz de color amarillo predominan cuatro carotenoides: β -caroteno, β -criptoxantina, zeaxantina y luteína (Wong et al., 2004).

5.4.1.2 Maiz azul

El grano del maíz azul fue el que presentó un mayor porcentaje de inhibición 78.97% comparado con la variedad roja y amarilla, y se observó una diferencia significativa entre la masa, el grano y la tortilla, se observó también que la masa producto de la nixtamalización presentó la menor actividad antioxidante 38.46%, mientras que la tortilla presentó el porcentaje mayor con 75.43% valor muy cercano al del grano de maíz de acuerdo a la figura 15. Al respecto López-Martínez et al. (2011) también reportaron un incremento en la capacidad antioxidante al cocer la masa para obtención de tortillas, debido probablemente al aumento de compuestos fenólicos totales que son liberados.

5.4.1.3 Maíz rojo

En el maíz rojo se observó el mismo comportamiento, es decir, la actividad antioxidante disminuye en la etapa de la nixtamalización y en la etapa de la formación de la tortilla nuevamente aumenta, mostrando valores incluso superiores que en el grano con un porcentaje de 86.26% mientras que en el grano 52.86 y la masa 54.45% según la figura 15. Es bien conocida la propiedad de las antocianinas de presentar alta capacidad antioxidante, sin embargo en el presente estudio no se observó dicho comportamiento, ya que a pesar de que el grano rojo tuvo la mayor cantidad de antocianinas (comparado con el azul y el amarillo) este no presentó el mayor potencial de reducción, por el contrario el grano amarillo presentó un alto potencial de reducción además del papel que juegan componentes como el ácido ferúlico y la presencia de antocianinas específicas, así como la interacción entre sus componentes, es un factor que probablemente impacta en sus niveles de capacidad antioxidante y la eficiencia general de un compuesto antioxidante es dependiente de la interacción con otros constituyentes de la matriz, la polaridad del sistema de pruebas, la naturaleza del radical y el tipo de sustrato protegido por el antioxidante (Del Pozo - Insfran et al., 2006; López- Martínez et al., 2009).

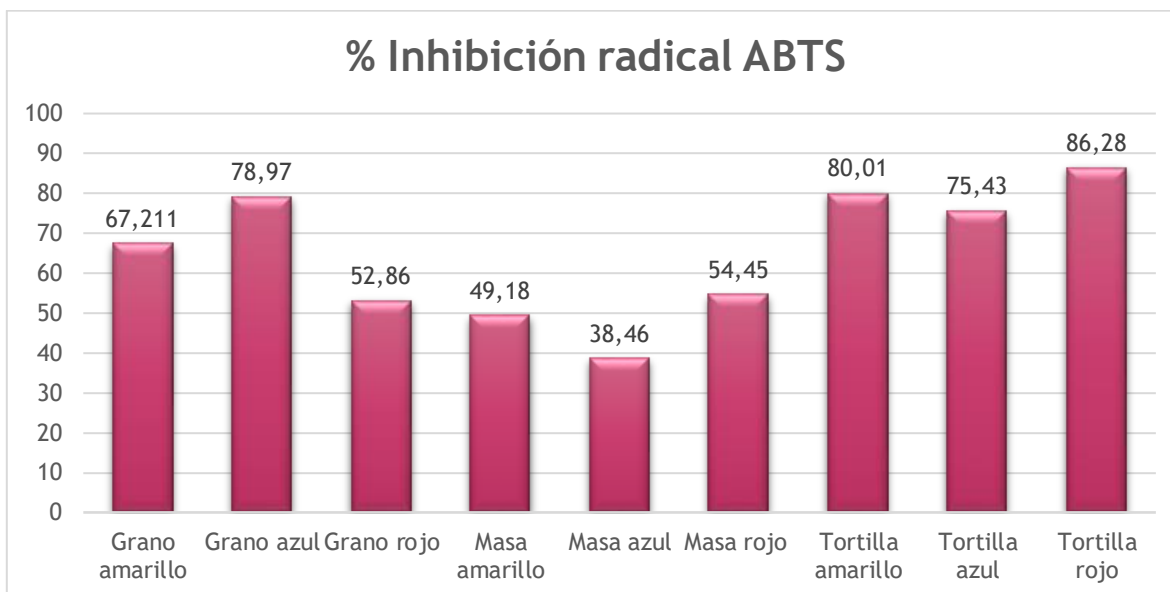


Figura 15 .Porcentaje de Potencial de Reducción sobre ABTS+

5.4.2 Porcentaje de inhibición sobre DPPH

El ser humano debe ingerir en su dieta alimentos con propiedades antioxidantes que neutralicen las especies reactivas oxidantes para mantener el equilibrio redox del organismo; además de las vitaminas antioxidantes (C y E) y los carotenoides, existen otros compuestos denominados metabolitos secundarios, presentes en los alimentos que ejercen una fuerte actividad antioxidante como son los polifenoles, entre ellos, las antocianinas, los flavonoides y los taninos (Gutiérrez Maydata, 2002; Jing, 2006; Beltrán-Orozco et al., 2009; Escamilla Jiménez et al., 2009).

Así el objetivo de este análisis fue determinar el % inhibición del radical DPPH en grano, maíz y tortilla para evaluar el impacto que representa el proceso de elaboración de tortillas en la actividad antioxidante de los granos de maíz. el efecto que tiene sobre

5.4.2.1 Maíz rojo

En el maíz rojo no se mostraron diferencias significativas de la capacidad anti radical en los tratamientos del grano 12.45% y la masa 13.93% pero si de estos con la tortilla 35.12% de acuerdo a la figura 16.

5.4.2.2 Maiz azul

El grano azul mostro la mayor capacidad anti radical de las tres variedades sin embargo se mostraron diferencias significativas en los tres tratamientos obteniendose valores de actividad antioxidante de 18.58% para el grano, 5.84% para la masa y 35.22% para la tortilla según la figura 16.

5.4.2.3 Maiz amarillo

En el maíz amarillo no se observaron diferencias significativas en la actividad antioxidante entre el grano 14.77% y la masa 9.46% pero si entre el grano y la masa con la tortilla 25.22% de acuerdo a la figura 16. En el presente estudio se realizo el ensayo para determinar antocianinas y contenido de compuestos fenólicos, factores que representen una mayor actividad antioxidante ya que diversos estudios demuestran una relación entre polifenoles y capacidad antioxidante; sin embargo el maiz amarillo no posee antocianinas pero presenta actividad antioxidante, factor que puede deberse a que el maiz amarillo contiene carotenos que son compuestos que confieren actividad antioxidante, a pesar de presentar valores de actividad actioxidante estos valores son mucho mas bajos que los que presentaron las variedades pigmentadas.

El maíz morado y rojo fueron las variedades con mayor actividad antioxidante (35.12% Y 35.22% respectivamente); pero la variedad de maíz amarillo analizada tuvo una actividad un poco menor (25.22%) de acuerdo a la figura 16, esto indica que la actividad inhibidora de radicales libres no sólo depende de la cantidad de compuestos fenólicos como las antocianinas si no tambien de los carotenoides. En general, se ha reportado que maíces pigmentados más oscuros presentan una más alta actividad antioxidante (De la Parra et al., 2007, López- Martínez et al., 2009; Zilić et al., 2012), aunque algunas referencias reportan una alta actividad antioxidante en variedades amarillas (López-Martínez et al., 2009).

En las tres variedades de maíz se observó el mismo comportamiento, la capacidad anti radical disminuye en el proceso de la nixtamalización y aumenta en la elaboración de la tortilla, incluso con niveles casi del doble de lo que presentan los

granos sin procesar, lo que sugiere que el proceso de nixtamalización incrementa la biodisponibilidad de los carotenoides y antocianinas según lo observado en la figura 16.

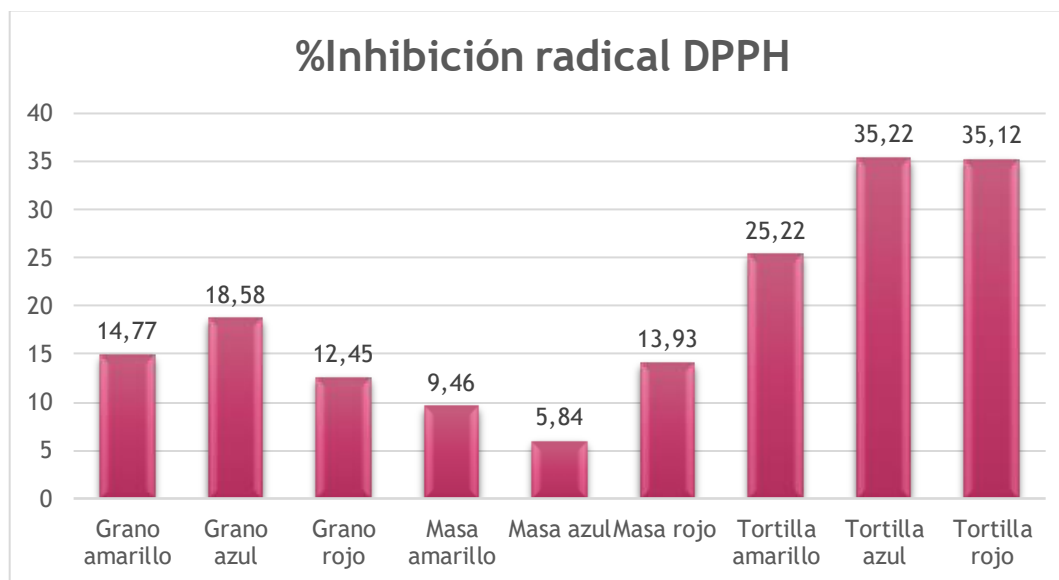


Figura 16. Porcentaje de Potencial de Reducción sobre DPPH

5.4.3 Correlación entre los ensayos de Actividad Antioxidante ABTS^{•+} y DPPH[•].

Se encontró una correlación significativa entre los porcentajes de actividad antioxidante obtenidos tanto por el ensayo DPPH[•], como por el ensayo ABTS^{•+} con el contenido de fenoles totales de los extractos.

Se observó también que mediante el ensayo ABTS^{•+} se obtuvieron porcentajes de actividad antioxidante mucho más altos que por medio del ensayo DPPH[•], lo cual concuerda con datos reportados por Floegel et al., (2011). Hay algunas razones por medio de las cuales se podría dar explicación a este hecho, la primera se basa en la longitud de onda a la cual se realizaron las medidas para cada ensayo.

Para en el ensayo ABTS^{•+} se tomó una longitud de onda de 732 nm, mientras que, para el ensayo DPPH[•] se midió a 517 nm. Desde la región del visible hay interferencias en la medición de compuestos coloreados como antocianinas y carotenoides que estén presentes en los extractos evaluados a 517 nm (Beserra et al., 2011).

MUESTRA	ABTS ^{•+}	DPPH [•]
	% Potencial de Reduccion	% Capacidad Antirradical
Grano amarillo	67.211	14.77
Grano azul	78.97	18.58
Grano rojo	52.86	12.45
Masa amarillo	49.18	9.46
Masa azul	38.46	5.84
Masa rojo	54.45	13.93
Tortilla amarilla	80.01	25.22
Tortilla azul	75.43	35.22
Tortilla roja	86.28	35.12

Tabla 7. Actividad Antioxidante por los métodos de ABTS^{•+} y DPPH[•]

En términos de tiempo, los extractos reaccionan más lentamente con el radical DPPH[•] necesitando 30 minutos para alcanzar su estado estacionario lo cual lo pone en desventaja con el radical catión ABTS^{•+}, el cual alcanza su estado estacionario muy rápidamente (Mathew et al., 2005); por tanto, la estequiometría de las reacciones y el mecanismo de reacción son muy distintos.

Pérez-Jiménez et al., (2006) analizaron la influencia del solvente en la capacidad antioxidante; encontraron que en el ensayo ABTS^{•+}, los extractos en agua presentaron 40% más actividad antioxidante que aquellos disueltos en metanol-agua (50:50 v/v); por el contrario, en el ensayo DPPH[•] se pudo observar claramente una disminución de la actividad en los extractos acuosos. Cabe destacar que todos los extractos del presente estudio fueron únicamente agua lo que explica claramente el comportamiento entre los 2 métodos de análisis.

5.5 Método de blanqueamiento de β -caroteno.

Este método se basa en la capacidad de diversos extractos de disminuir la decoloración oxidativa del β -caroteno en una emulsión ácida de betacaroteno/linoleico. El ácido linoléico se oxida fácilmente en presencia de agua oxigenada y los radicales generados atacan al β -caroteno provocando su oxidación con la correspondiente pérdida de absorbancia a 470 nm. (Velioglu et al. 1998)

Así el objetivo de este experimento fue determinar las capacidades antirradicales de grano, maíz y tortilla de las tres variedades tomando lecturas cada 10 minutos hasta

2 horas a partir del momento de la adición de peróxido de hidrógeno H_2O_2 . La actividad antioxidante fue expresada como porcentaje de retención de β -caroteno.

5.5.1 Maíz rojo

En el caso del maíz rojo la tortilla mostro los porcentajes mas altos desde los 10 minutos hasta las 2 horas siendo el valor mas alto 53% alcanzado en el minuto 120, en los tres tratamientos se observo una tendencia de aumento proporcional al tiempo de la reacción, sin embargo el grano y la masa se estabilizaron a partir del minuto 100, mostrando valores de 43.56% para el grano y 40.45% para la masa según la figura 17.

5.5.2 Maíz azul

Para el maíz azul se obtuvieron los porcentajes de inhibición más altos de las tres variedades, la tortilla por su parte mostro el porcentaje mas alto con 62.96% de los tres tratamientos en el minuto 120 mostrando una tendencia al aumento proporcional al tiempo de reacción, en el grano se mostro estabilidad en el minuto 90 y el valor mas alto alcanzado de inhibición fue 57.92% en el minuto 120, mientras que la masa mostro estabilidad desde el minuto 80 con valor maximo de 59.96% en el minuto 120 de acuerdo a la figura 18.

Maíz amarillo

Por el contrario el maíz amarillo resulto ser el que menor % de inhibición presentó de las tres variedades analizadas, entre los tres tratamientos el grano y la tortilla mostraron porcentajes similares por encima de la masa, el grano de maíz mostro una tendencia al aumento incluso con valores superiores a la tortilla pero solo hasta el minuto 110 donde el porcentaje de inhibición de la tortilla amarilla se mostro más alto de acuerdo a la figura 19.

En todos los experimentos se observó el mismo comportamiento, el aumento del tiempo fue directamente proporcional al % de inhibición, En el caso de la tortilla azul y roja estos presentaron porcentajes más altos de inhibición por encima de los tres

tratamientos lo que indica una mayor habilidad para inhibir la decoloración de la solución propiciada por la oxidación del ácido linoléico

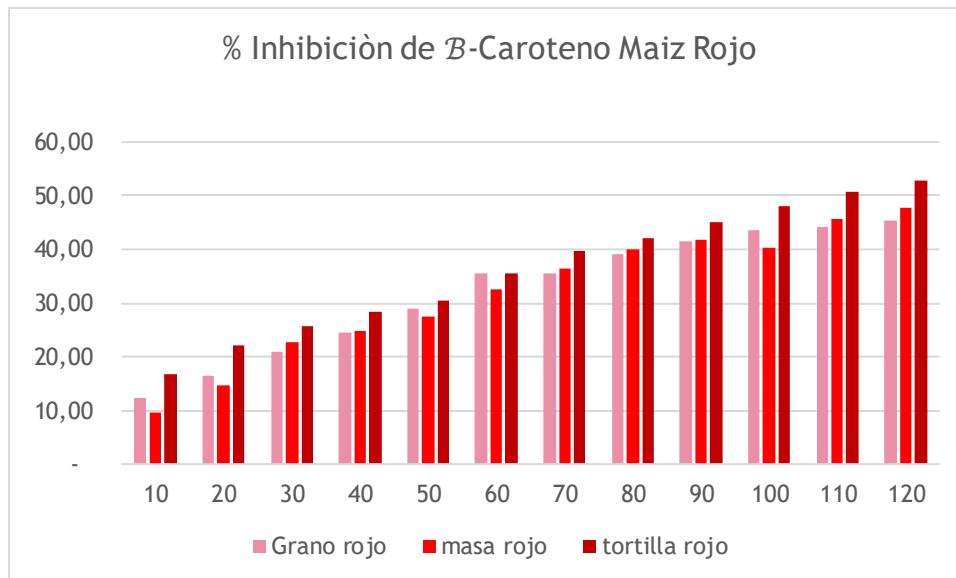


Figura 17. Porcentaje de Inhibición de β -Caroteno en maíz rojo
El eje X representa el % de inhibición de β -caroteno y el eje Y el tiempo en minutos.

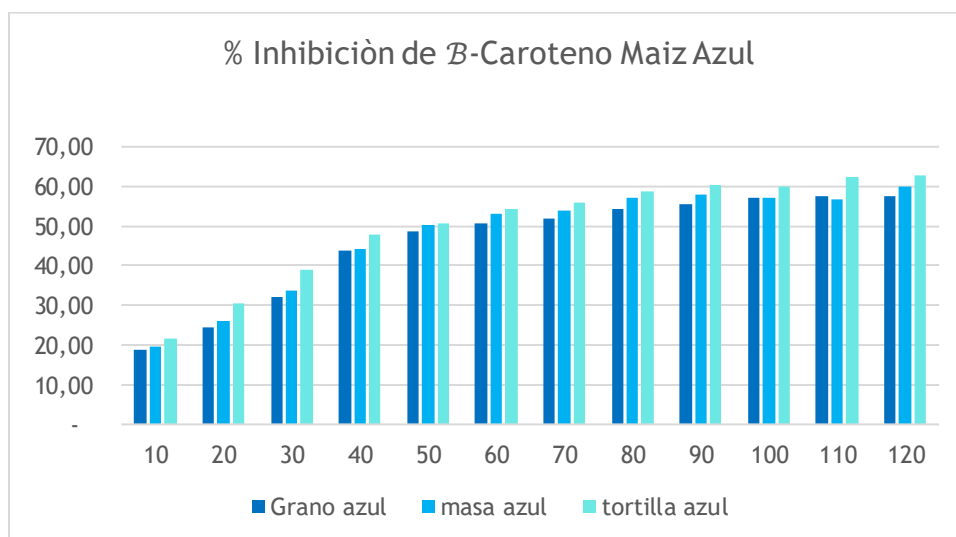


Figura 18. Porcentaje de Inhibición de β -Caroteno en maíz azul

El eje X representa el % de inhibición de β -caroteno y el eje Y el tiempo en minutos.

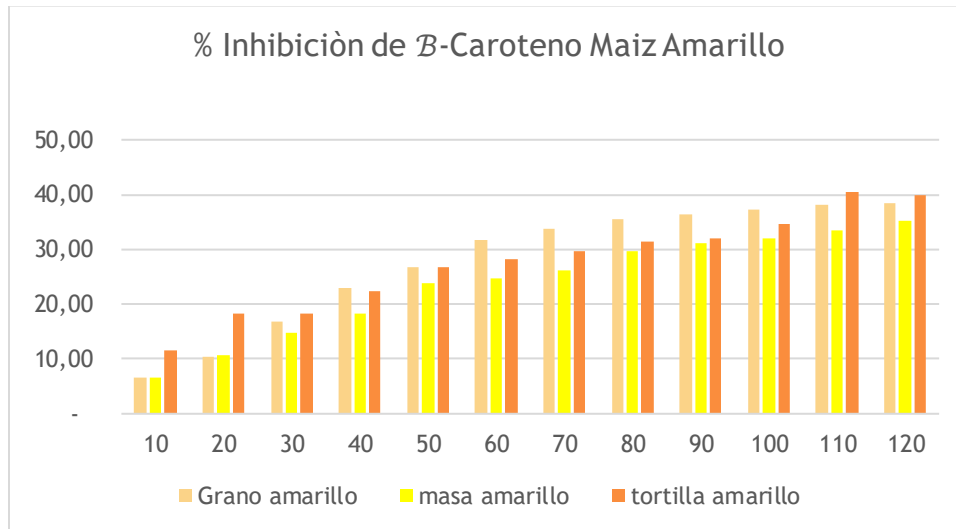


Figura 19. Porcentaje de Inhibición de β -Caroteno en maíz amarillo.

El eje X representa el % de inhibición de β -caroteno y el eje Y el tiempo en minutos.

6.0

Conclusiones

La nixtamalización no afectó la concentración de los compuestos fenólicos totales de las variedades pigmentadas, por el contrario se observó un aumento en esta etapa, el maíz rojo presentó el contenido mas alto con 1336.34 mg de ácido gálico/100mg, mientras que en el maíz amarillo se observó una disminución.

El proceso de nixtamalización afecto el contenido de antocianinas en las tres variedades de maíz, el grano rojo mostró el mayor contenido de antocianinas con 470.57mg de cianidina3-glucosido /100 g y fue el más afectado en esta etapa disminuyendo hasta 52.76mg de cianidina3-glucosido /100 g.

La actividad antioxidante fue afectada por el efecto de la nixtamalización, se presento disminución en las tres variedades de maíz, el maíz azul fue la variedad que se mostró mas afectada con una dismunución de 78.97% (grano) a 38.46% por el método de ABTS y de 18.58% (grano) a 9.46% por el método de DPPH.

A pesar de que la nixtamalización provoca disminución de las antocianinas, durante la elaboración de tortilla se liberan otro tipo de compuestos fenólicos que imparten actividad antioxidante, la variedad azul mostró mayor concentración de antocianinas en la tortilla, mayor concentración de compuestos fenólicos totales y mayor actividad antioxidante durante su procesamiento por lo que se recomienda el consumo de tortilla azul.

7.0 Referencias

Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **90**(17), 7915-7922.

Aoki, H., Kuze, N., Kato, Y., & Gen, S. E. (2002). Anthocyanins isolated from purple corn (*Zea mays* L.). *Foods and Food Ingredients Journal of Japan*, 41-45.

Abdel-Aal, E. S. M., Young, J. C., & Rabalski, I. (2006). Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**(13), 4696-4704.

Adom, K. K., and R. H. Liu. (2002). Antioxidant activity of grains. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 6182-6187.

Allen RG, Tresini M. (2000). Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic Biol Med*; **28**(3): 463-499.

Aragón C F, J D C Figueroa, M Flores Z, M Gaytán M, M J J Véles. (2012). Calidad Industrial de Maíces Nativos de la Sierra Sur de Oaxaca. Libro Técnico No. 15. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Santo Domingo Barrio Bajo, Etna, Oaxaca, México. 249 p.

Aubad P, Rojano BA, Lobo Echeverri T. (2007). Actividad antioxidante en musgos. *Scientia et Technica* **13**: 23 - 26.

Aviram M, Rosenblat M, Gaitini D. (2004). Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clin Nutr* **23**(3), 423- 33.

Lopez, P. A., Rojano, B. A., & Echeverri, T. L. (2007). Actividad antioxidante en musgos. *Scientia Et Technica*, **1**(33).

Baéz R. O. A., y Martínez, B. A. (1990). Estudio de la influencia de proceso sobre la calidad de harina de maíz nixtamalizado para tortilla. Tesis de Licenciatura. Ingeniería Agroindustrial. UACH. Chapingo, México.

Beltrán-Orozco MC, Oliva-Coba TO, Gallardo- Velázquez T, Osorio-Revilla G. (2009). Ascorbic acid, phenolic content, and antioxidant capacity of red, cherry, yellow and white types of pitaya. *Agrociencia* **43**: 153 - 162.

Benítez Zequeira, D. E. (2006). Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. *Revista cubana de investigaciones biomédicas*, **25**(2), 0-0.

Bonomini F y cols. (2008). Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol*; **23**: 381-390

Bordignon-Luiz M T, C Gauche, E F Gris, L D Falcao. (2007). Colour stability of anthocyanins from Isabel grapes (*Vitis labrusca* L.) in model systems. *LWT-Food Sci. Technol.* **40**:549-599.

Boyer C D, J C Shannon. (1987). Carbohydrates of the kernel. *In*: Corn: Chemistry and Technology. S A Watson, P E Ramstad (eds). AACC. St. Paul, MN. USA. pp:253-272.

Bressani R. (1990). Chemistry, technology and nutritive value of maize tor- tillas. *Food Rev. Int.* **6**:225-264.

Bressani, R. (2008). Cambios nutrimentales en el maíz inducidos por el proceso de nixtamalización. En: Nixtamalización, del maíz a la tortilla: Aspectos nutrimentales y toxicológicos. Rodríguez-García, M. E., Serna-Saldivar, S. O., y Sánchez-Sinencio, F. (Eds.), (pp. 19–80). Querétaro, México: UAQ - Series Ingeniería.

Cabrera L. (1992). Diccionario de Aztequismos. COLOFON, México, D. F.

Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández ML, Páez-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. (2009a). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, **113**: 859–871.

Ceriello A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy. *Diabetes Care* 2003; **216**: 1589-1596.

Chang R. 1992. Química 4ª ed. Reacciones químicas. Mc Graw-Hill-Interamericana; 104-117.

Contreras J.B.L. 2009. Caracterización de harina de maíz instantánea obtenida por calentamiento óhmico. Tesis de maestría. Centro de Investigación en Ciencia aplicada y Tecnología Avanzada.

Cooke, D., Steward, W. P., Gescher, A. J., & Marczylo, T. (2005). Anthocyanins from fruits and vegetables—Does bright colour signal cancer chemopreventive activity?. *European Journal of Cancer*, **41**(13), 1931-1940.

Cone KC. (2007). Anthocyanin synthesis in maize aleurone tissue. *Plant Cell Monogr.* **8**:121-139.

COULTATE TP. FOOD: The chemistry of its components. Burlington House, London: The Royal Society of Chemistry. 1984. p. 113.

Christianson, D.D., Wall, J.S., Dimler, R.J. y Booth, A.N. (1968). Nutritionally available niacin in corn. Isolation and biological activity. *J. Agric. Food Chem.*, **16**: 100-104.

De la Parra, C., S. O. Serna Saldívar, and L. R. Hai. (2007). Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *J. Agric. Food Chem.* **55**:4177-4183.

De Pascual-Teresa, S., & Sanchez-Ballesta, M. T. (2008). Anthocyanins: from plant to health. *Phytochemistry reviews*, **7**(2), 281-299.

Decker, E.A.(1997). Phenolics: prooxidants or antioxidants?. *Nutritional Reviews.* **55** (1): 396-398

Del Pozo- Insfran, D., Brenes, C. H., Serna Saldívar, Talcott, S. T. (2006). Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. *FoodResearch International*, **39**(6), p.p. 696- 703.

Doner, L. W., and K. B. Hicks. (1997). Isolation of hemicellulose from corn fiber by alkaline hydrogen peroxide extraction. *Cereal Chem.* **74**: 176-181.

Dougall, D. K., Baker, D. C., Gakh, E., & Redus, M. (1997). Biosynthesis and stability of monoacylated anthocyanins. *Food technology (USA)*.

Duodu, K. G. K., J. R. N. Taylor, P. S. Belton, and B. R. Hamaker. (2003). Factors affecting sorghum protein digestibility. *J. Cereal Sci.* **38**:117-131.

Durst R, Wrolstad RE. (2001). Separation and Characterization of Anthocyanins by HPLC. In: *Handbook of Food Analytical Chemistry*. New Jersey: John Wiley & Sons; p. 33-45.

Escamilla Jiménez CI, Cuevas Martínez EY, Guevara Fonseca J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Rev Fac Med Unam* **52**: 77 - 75.

Escribano-Bailon M. T., Beulga-Santos C. y Rivas-Gonzalo J. C. (2004). Anthocyanins in Cereals. *Journal Chromatography*, **1054**:129-141.

FAO, Food and Agriculture Organization (2012) FAOSTAT Base de Datos Estadísticos. <http://faostat.fao.org>. Roma, Italia. (Junio 2015)

FAO, Food and Agriculture Organization. El maíz en la nutrición humana. [Base de datos en internet]. [Fecha de acceso: 22 de septiembre de 2015]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/t0395s/t0395s00.htm>

Fennema OR. *Química de los Alimentos*, 2a ed. Zaragoza: Acribia SA, 2000.

Figuroa J D C, R A Mauricio, S Taba, E Morales, A Mendoza-Gaytán, F Rincón-Sánchez, L M Reyes, J J Véles. (2005). Kernel characteristics and tortilla making quality of maize accessions from Mexico, the Caribbean, and South and Central America. In: *Latin American Maize Germplasm Conservation: Regeneration, in situ Conservation, Core Subsets, and Prebreeding*. S Taba (ed). Proceedings of a Workshop held at CIMMYT, April 7-10, 2003. México, D.F.: CIMMYT. 71 p

Fossen T, R Slimestad, Ø M Andersen . (2001). Anthocyanins from maize (*Zea mays*) and reed canarygrass (*Phalaris arundinacea*). *J. Agric. Food Chem.* 49:2318-2321.

Garzón, G. A. (2009). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biológica Colombiana*, **13**(3), 27-36.

Gómez M H , C M McDonough, L W Rooney, R D Wanishka. (1989). Changes in corn and sorghum during nixtamalization and tortilla baking. *J. Food Sci.* **53**:330-336.

Gonzalez, R. J., Torres, R., De Greef, D., y Bonaldo, A. (2005). Efecto de la dureza del endospermo del maíz sobre las propiedades de hidratación y cocción. *ALAN*, **55**: 354- 360.

Gradinaru G, Biliaderisb CG, Kallithrakac S, Kefalasa P, Garcia-Viguera C. (2003). Thermal stability of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins in solution and in solid state: effects of copigmentation and glass transition. *Food Chemistry*, **83**: 423–436.

Guerrero Villanueva M, Loarca-Piña M, Mendoza Díaz S, Ramos Gómez M, Reinoso Camacho R & Figueroa Cardenas J (2011). “Efecto del consumo de tortilla de maíz pigmentado (*Zea mays* L.) en indicadores de riesgo de cáncer de colon.” *Revista de la Universidad del Sabes*, **02**, 1-2.

Halliwell B, Whiteman M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *Br J Pharmacol.*; **142**(2): 231–255.

Harbone J. B. (1993). *The Flavonoids: advances in research since 1986*. Chapman and Hall, London.

Harborne, (1989). General procedures and measurement of total phenolics. *Methods in plant biochemistry: Volume 1 Plant Phenolics*, Academic Press, London, pp: 1-28.

Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. (1993). Dietary antioxidants flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*, **342**: 1007-11.

Horbowicz M, Kosson R., Grzesiuk A. y Debski H. (2008). Anthocyanins of Fruits and Vegetables-their occurrence, analysis and role in human nutrition. *Vegetables Crops Research Bulletin*, **68**:5-22.

Jenshi Roobha J, Saravanakumar M, Aravindhana KM, Suganya devi P. (2011).

Jing P. (2006). Purple corn anthocyanins: chemical structure, chemoprotective activity and structure/function relationships. Dissertation in partial fulfillment of the requirements for the degree Doctor of Philosophy. The Ohio State University, USA.

Jugenheimer, R. W. (1988). Maíz, variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semillas. Limusa, México. 841p.

Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., & Heinonen, M. (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**(8), 4076-4082.

Knekt P, Jarvinen R, Reunanen A, Maatela J. (1996). Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *BMJ*, **312**: 478-81.

Kopjar M, Bilić B, Piližota V. (2011). Influence of different extracts addition on total phenols, anthocyanin content and antioxidant activity of blackberry juice during storage. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, **3**: 9-15.

Kopjar M, Piližota V. (2009). Copigmentation effect of phenolic compounds on red currant juice anthocyanins during storage. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, **1**: 16-20.

Krinski BS, Yu BP. (2000). Mechanism of action of biological antioxidants. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 248-254.

Landry, J. y Moureaux, T. (1970). Hétérogénéité des glutélines du grain de maïs: Extraction sélective et composition en acides aminés des trois fractions isolées. Bull. Soc. Chim. Biol. **52**: 1021 - 1037.

Landry, J. y Moureaux, T. (1982). Distribution and amino acid composition of protein fractions in opaque-2 maize grain. Phytochemistry. **21**: 11365- 1869.

Lee, C.Y. (1992). Phenolic Compounds en Encyclopedia of food Science and Technology. Vol 3. Hui, Y. H. (Editor), pp. 2055-2061. Wiley & Sons Inc., New York, EUA.

Levine RL, Stadtman ER. (2001). Oxidative modification of proteins during aging. Exp Gerontol; **36**(9): 1495-1502.

Lewis C, Walker J. (1995). Effect of polysaccharide on the colour of anthocyanins. Food Chemistry, **54**: 315-319.

López Martínez, L. X. y García-Galindo, H. S. (2009). Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintas variedades de maíz mexicano. Nova Scientia. **2**(3): 51-65.

Lopez-Martinez L X, K L Parkin, H S García. (2011). Phase II-Inducing, Polyphenols content and antioxidant capacity of corn (*Zea mays* L.) from phenotypes of white, blue, red, and purple colors processed into masa and tortillas. Plant Food Hum. Nutr. **66**:41-47.

Lopez-Martinez L X, R M Oliart-Ros, G Valerio-Alfaro, C H Lee, K L Parkin, S H Garcia. (2009). Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. LWT-Food Sci. Technol. **42**:1187-1192.

López-Martínez, L. X., Oliart-Ros, R. M., Valerio-Alfaro, G., Lee, C. H., Parkin, K. L. y Garcia, H. S. (2009). Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. LWT-Food Science and Technology, **42**(6), 1187-1192.

- Lopez-Martinez, L. X., Parkin, K. L., & Garcia, H. S. (2014). Antioxidant and quinone reductase inducing activities of ethanolic fractions from purple maize. *LWT-Food Science and Technology*, *59*(1), 270-275.
- Macheix, J., Fleuriet, A. and Billiot, J.(1990). Fruit Phenolics.CRC Press, Inc. Boca Raton, Fl. EUA.
- Madhavi, D.V. Despande, S.S. Salunkhe, D.K. (1996). In Food antioxidants, (Ed.). Marcel Dekker, New York, p. 1.
- Mazza G. (1995). Anthocyanins in grapes and grape products. Critical Review
- Min-Sheng S, Po-Jung Ch. (2007). Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chemistry* **104**: 182–187.
- Mohamed, A. A., R. B. Ashman, and A. W. Kirleis. (1993). Pericarp thickness and other kernel physical characteristics related to microwave popping quality of popcorn. *Journal of Food Science* **58**(2): 340-342.
- Moldovan B, David L, Chişbora C, Cimpoiu C. (2012). Degradation kinetics of anthocyanins from european cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent. *Molecules* 2012, **17**: 11655-11666.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **26** (2): 211-219.
- Hogg, N. (1997). Free radicals in disease. In *Seminars in reproductive endocrinology* (Vol. 16, No. 4, pp. 241-248).
- Muñiz Rodríguez, P. (2009). Contribución a la salud de los alimentos con compuestos antioxidantes. *Rev Electron Biomed*, *1*, 6-9.
- Nakatani N, H Fukuda, H Fuwa. (1979). Major anthocyanin of Bolivian purple corn (*Zea mays* L.). *Agric. Biol. Chem.* **43**:389-391.

Ojha H., Mishra K., Chaudhury N.K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*; **130**: 1036–1043.

Olivares-Corichi y cols. (2005). Reactive oxygen species (ROS) induce chemical and structural changes on human insulin invitro, including alterations in its immunoreactivity. *Frontiers in Bioscience*; 10: 838-843.

P. Font Q. (1993). *Diccionario de Botánica: Tomo I y II* Barcelona: Editorial Labor.

Paliwal, R. L. (2001) . Morfología del maíz tropical. En: Paliwal, R. L.; Granados, G.; Lafitte, H. R.; Violic, A. D. y Marathée J. P. (Eds.). *El maíz en los trópicos. Mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y Protección Vegetal 28. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.* pp. 13-19

Paredes L.O., and Saharapolus M.E., J. (1982). Scanning electron microscopy studies of limed corn kernels for tortilla making *Food Tech.* **17**: 687-693

Paredes López, Octavio y Guevara Lara Fidel, Bello Pérez Luis Arturo. (2009). La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias* **92**: 60-70.

Parson, D. B. (2001). *Manual para la educación agropecuaria: Maíz. 2a Edición.* México D.F.: Editorial Trillas.

Pennathur S y cols. (2001). A hydroxyl radical-like species oxidizes cynomolgus monkey artery wall proteins in early diabetic vascular disease. *J Clin Invest*; **107**(7): 853-860.

Proestos, C. ; N. Choriantopoulos; G. J. E. Nychas and M. Komaitis. (2005). RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *J. Agric. Food Chem*; **53**:1190-1195.

Ramírez-Wong B, V E Sweat, P I Torres, L W Rooney. (1994). Cooking time, grinding, and moisture content effect on fresh corn masa texture. *Cereal Chem*; **71**:337-343.

Ramos ML, Batista González CM, Gómez Media BC, Zamora López AL. (2006). Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Investigación en Salud* **8**: 7 – 15

Reed J. 2002. Cranberry flavonoids, atherosclerosis and cardiovascular health. *Critical reviews in food science and nutrition*. **42**(S3): 301-16.

Rein M. (2005). Copigmentation reactions and color stability of Berry anthocyanins. Academic dissertation. University of Helsinki. Department of Applied Chemistry and Microbiology Food Chemistry Division.

Robbins, R. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem.*; **51**: 2866-2887.

Roche E, Romero-Alvira D. (1997). Introducción a la bioquímica y citotoxicidad del desequilibrio oxidativo. II) Alteraciones oxidativas en las macromoléculas biológicas. En: Romero-Alvira D, Roche E. *Cardiología, estrés oxidativo, nutrición y biología molecular. Bases y aplicaciones sobre el estrés oxidativo, aspectos nutricionales y de la biología molecular en cardiología*. ENE Ediciones; pp. 91-104.

Rojas M.I., Gutiérrez-Cortez E., Palacios-Fonseca A., Baños L., Pons-Hernández J.L., Guzmán- Maldonado S.H., Pineda-Gómez P. and Rodríguez M.E. (2007). Study of the structural and thermal changes in the endosperm of quality protein maize during traditional nixtamalization process. *Cereal Chem.*, **84** (4): 304-312

Rojas-Molina I, E Gutiérrez-Cortez, A Palacios-Fonseca, L Baños, J L Pons-Hernandez, S H Guzmán-Maldonado, P Pineda-Gomez, M E Rodríguez. (2007). Study of structural and thermal changes in endosperm of quality protein maize during traditional nixtamalization process. *Cereal Chem.* 84:304-312.

Rojas-Molina, I., Gutiérrez-Cortez, E., y Rodríguez-García, M. E. (2008). Estudio de las transformaciones en la calidad de la proteína en harinas de maíz QPM elaboradas con el método tradicional de nixtamalización en función del tiempo de reposo. En: *Nixtamalización, del maíz a la tortilla: Aspectos nutrimentales y toxicológicos*. (1st ed., pp. 155–181), Rodríguez-García, M. E., Serna-Saldivar, S. O. y Sánchez-Sinencio, F. (Eds.). Querétaro, México: UAQ - Series Ingeniería.

Rooney L. W. and Serna-Saldívar S. O. (1987). Food uses of whole corn and dry milled fractions. Chapter 13. In: Corn chemistry and technology. Watson, S. A. and P. E. Ramstad. (Eds). AACC. Inc. St. Paul Minnesota, USA. pp: 399-430.

SAGARPA, (2013). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Agricultura de Autoconsumo.

Moreno, Y. S., Hernández, M. S., Bustos, F. M., Hernández, V. G., & Paczka, R. O. (1999). Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, **22**(2), 0.

Salinas M. Y., Soria R. J. y Espinosa T. E. (2010). Aprovechamiento y Distribución de Maíz Azul en el Estado de México. Disponible en www.sagarpa.gob.mx.

Salinas-Moreno Y, J J López-Reynoso, G González-Flores, G Vázquez-Carrillo. (2007). Compuestos fenólicos del grano de maíz y su relación con el oscurecimiento de masa y tortilla. *Agrociencia* **41**:295-305.

Salinas-Moreno, Y., y Vázquez-Carrillo, G. (2006). Metodologías de análisis de calidad nixtamalera-tortillera en maíz. Folleto Técnico (No. 24) (p. 91). INIFAP. Campo Experimental Valle de México. Chapingo, Edo. de México.

Sari P, Wijaya CW, Sajuthi D, Supratman U. (2012). Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in a beverage model system: Natural and copigmented anthocyanins. *Food Chemistry*, **132**: 1908–1914.

Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, **130**(8), 2073S-2085S.

Serna S.S.O., Gomez M.H., Rooney L.W. (1990). Technology, chemistry, and nutritional value of alkaline cooked maize products. pp. 243-307 in: *Advances in Cereal Science and Technology*. Vol. 10. Y. Pomeranz, ed. AACC International: St. Paul MN

Serna-Saldivar S O, D A Knabe, L W Rooney, T D Tanksley Jr. (1990). Effect of lime cooking on energy and protein digestibility of maize and sorghum. *Cereal Chem.* **64**:252-257.

Serna-Saldívar S O, S García Lara, J A Gutiérrez Uribe. (2011). Perfil fitoquímico y propiedades nutraceuticas de maíces pigmentados y sus tortillas. *In: Amplitud, Mejoramiento, Usos y Riesgos de la Diversidad Genética de Maíz en México.* R E Preciado Ortiz, S Montes Hernández (eds). Sociedad Mexicana de Fitogenética AC, Chapingo, Estado de México, México. pp:75-96.

Serna-Saldívar S O. (2009). Research developments in the science, technology and nutritional value of maize-based nixtamalized foods. *In: e ICC Book of Ethnic Cereal-Based Foods Across the Continents.* J Taylor, R Cracknell (eds). Published by the University of Pretoria, Pretoria, South Africa. pp:133-163.

Serna-Saldívar S O. (2010). *Cereal Grains: Properties, Processing, and Nutritional Attributes.* CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 747 p.

Serratos Hernández, José Antonio. (2009). "El origen y la diversidad del maíz en el continente americano".

Shahidi F., and Naczki, M, (2004). *Phenolics in Food and Nutraceuticals.* CRC Press, Inc. Boca Raton, FL. EUA.

Siddhuraju, P. and K. Becker. (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *J. Agric. Food Chem.*: **51**: 2144 – 2155.

Stintzing FC, Stintzing AS, Carle R, Frei B, Wrolstad RE. (2002). Color and Antioxidant Properties of Cyanidin-based Anthocyanin Pigments. *J Agric Food Chem.*; **50**:6172-81.

Strack D. y Wray V. (1989). Anthocyanins. *En Methods in Plant Biochemistry.* Vol I. Plant Phenolics. H. B. Harbone (ed.), pp 325-356. Academic Press.

- Straus J. (1959). Anthocyanin synthesis in corn endosperm tissue culture. I: Identity of the pigments and general factors. *Plant Physiol.* 536-540.
- Trejo G. A., Feria-Morales A. and Wild-Altamirano C. (1982). The role of lime in the alkaline treatment of corn for tortilla preparation. *Adv. Chem Ser:* **198**:245-263
- Valko M, y col. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*; **39**(1): 44- 84.
- Vázquez C M G, J P Pérez C, J M Hernández C, M L Marrufo D, E Martínez R. (2010). Calidad de granos y tortillas de maíces criollos del Altiplano y Valle del Mezquital, México. *Rev. Fitotec. Mex.*; **33**:49-56.
- Vázquez C M G, L Guzmán B, J L Andrés G, F Márquez S. (2003). Calidad de grano y tortillas de maíces criollos y sus retrocruzas. *Rev. Fitotec. Mex.* **26**:231-238.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*; **46**(10): 4113-4117.
- Villa-Caballero L, Nava-Ocampo A, Ponce-Monter H, Frati- Munari A. (2000). El estrés oxidativo. ¿Es necesario medirlo en el paciente diabético?. *Gac Med Mex*; **136**: 249-255.
- Voet D. (1992). *Bioquímica*. Omega, Barcelona. pp.439-453.
- Wang L S, G D Stoner. (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Lett.* **269**:281-290.
- Wellhausen E J, L M Roberts, E Hernandez X, P C Mangelsdorf. (1951). Razas de maíz en México. Su origen, características y distribución. In: *Xolocatzia*. Obras de Efraín Hernández Xolocotzi. *Rev. Geogr. Agríc.*; **02**: 609-732.
- White P, E J Weber. (2003). Lipids of the kernel. *In: Corn Chemistry and Technology*. P White, L Johnson (eds). American Association of Cereal Chemists, Second Edition. St. Paul, MN, USA. pp:39- 48.

Wootton-Beard P.C., Moran A., Ryan L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food Research International*; **44**: 217–224.

Žilić, S., Serpen, A., Akıllıoğlu, G., Gökmen, V., & Vančetović, J. (2012). Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *Journal of Agricultural and food chemistry*, **60**(5), 1224-1231.

Anexos

Anexo 1. Determinación de Antocianinas Totales

Preparación de Soluciones

-Solución etanólica pH 1: Se realizó una solución etanólica concentración 15:85 v/v y se ajustó el pH a 1 con HCL.

Se pesan 2,5 g de las 3 variedades de maíz y son extraídos con 200 mL de la solución etanólica (para cada una se tomó el grano molido, la masa producto de la nixtamalización y tortilla y se realizaron por triplicado).

Los extractos se dejan reposar durante 24 horas.

Transcurrido el tiempo se retira el sobrenadante.

Una alícuota del extracto es centrifugada.

La alícuota se diluye con solución extractora y son medidos en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 535nm.

Para calcular la concentración se sigue la siguiente fórmula:

$$\text{Antocianina (mg L)} = (A * \text{Peso molecular} * \text{FD} * 1000) / (\epsilon * 1)$$

A = Es la absorbancia antes calculada

FD = Es el factor de dilución

ϵ = El coeficiente de extinción molar

Las antocianinas totales son expresadas como mg de cianidina 3-glucósido por cada 100 gramos de harina de maíz.

Anexo 2. Curva de calibración para el método Folin Ciocalteu de determinación de fenoles totales.

Preparación de soluciones

-Folin: Se diluye directamente el reactivo de Folin con agua en una relación 1:1 (se utiliza agua purificada de marca comercial).

-Carbonato de sodio: Se prepara una solución al 7% por lo cual se pesan 0.7g de carbonato de sodio y se colocan en un vaso de precipitados, se miden 10ml de agua en una pipeta y se vierten en el vaso de precipitados, posteriormente se colocan en agitación hasta quedar totalmente disueltos.

-Ácido Gálico: Se preparó una solución 1:10, por lo cual se pesó 0.01g de ácido gálico y se disolvió con 10 ml de agua.

Posteriormente se acondicionaron 24 tubos de ensayo de vidrio, protegidos con papel metálico para evitar la entrada de luz.

Se realizaron 7 diluciones con concentraciones diferentes (cada una por triplicado y un blanco. El arreglo se muestra en la siguiente tabla:

Tubo	Ácido Gálico (μL)	Agua (μL)	Folin (μL)	Carbonato de sodio 7% (μL)	Total
Blanco	0	750	375	1875	3 mL
1	30	720	375	1875	3 mL
2	60	690	375	1875	3 mL
3	90	660	375	1875	3 mL
4	120	630	375	1875	3 mL
5	150	600	375	1875	3 mL
6	180	570	375	1875	3 mL
7	210	540	375	1875	3 mL

*** Para todos los experimentos se utilizó agua purificada de marca comercial.**

Una vez realizado las concentraciones, los tubos se taparon adecuadamente y se agitaron 30s en un agitador Bortex.

Posteriormente se colocaron los tubos en un lugar protegido de la luz por 30 min.

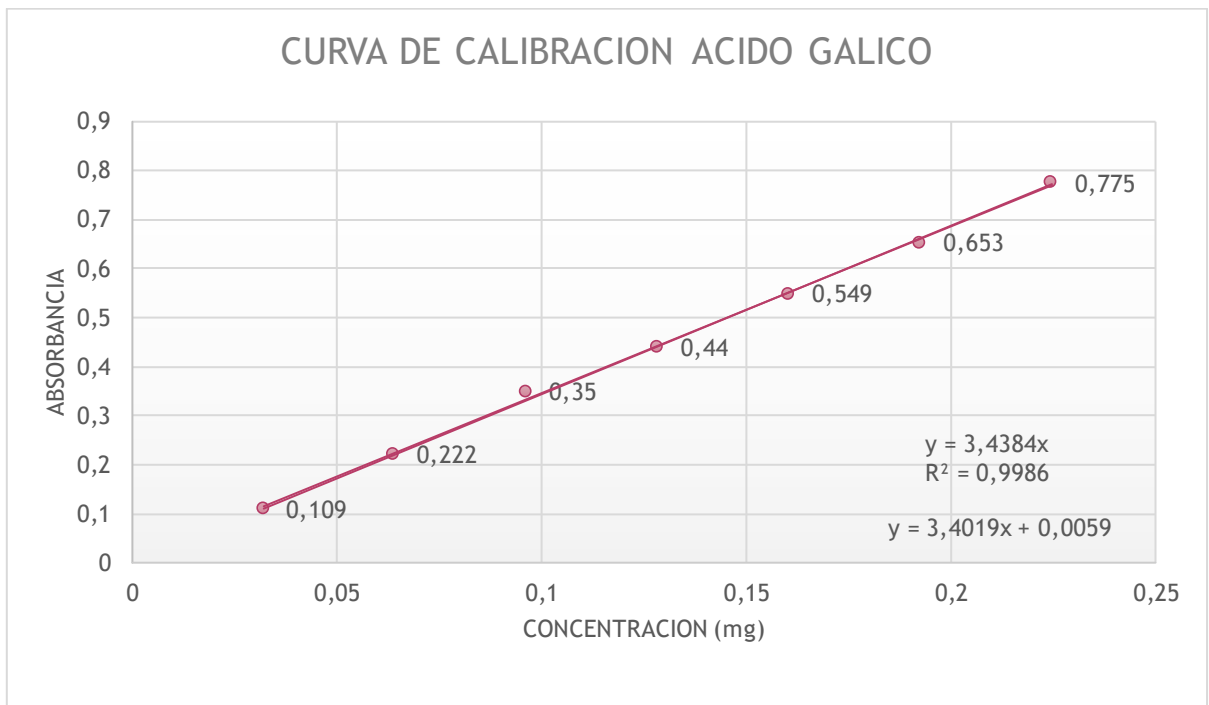
Transcurrido el tiempo se leyó a 760 nm en un espectrofotómetro.

Tubo	1	2	3	Promedio
B	0	0	0	0

1	0.111	0.111	0.106	0.108
2	0.223	0.221	0.221	0.221
3	0.341	0.351	0.342	0.344
4	0.444	0.449	0.428	0.440
5	0.544	0.548	0.555	0.549
6	0.650	0.655	0.655	0.653
7	0.815	0.758	0.754	0.775

Para la curva se calculó la concentración en mg de ácido gálico y se graficó contra los promedios de la absorbancia.

Concentración (mg ácido gálico)	Promedio
0	0
0.0321	0.108
0.0642	0.221
0.0963	0.344
0.1284	0.440
0.1605	0.549
0.1926	0.653
0.2247	0.775



Curva de calibración para el método Folin Ciocalteu de determinación de fenoles totales. La concentración se expresa en mg/L de ácido gálico.

Anexo 3. Determinación de Actividad Antioxidante por el método de ABTS (Inhibición de Radicales Libres)

Preparación de Soluciones

-Solución 7mM de ABTS en metanol= Se pesaron 195.96 mg del reactivo de ABTS con grado de pureza 98% y se diluyeron en 50 ml de metanol.

-Solución 140 mM de Persulfato de Potasio= Se pesaron 1.9g de persulfato de potasio con grado de pureza 99.6% y se diluyeron en 50 ml de agua.

- Formación del radical ABTS = Por cada 5 ml de ABTS se añadieron 88 μ L de persulfato de potasio y se dejó reposar 24 horas.

Se mide la absorbancia en un espectrofotómetro a $\lambda=734\text{nm}$ y se realiza un ajuste de absorbancia diluyendo con metanol hasta llegar a un rango de 0.7-0.75 nm.

3ml del radical son diluidos con 50 μ L de extracto y se dejan reaccionar durante 3 min.

Se lee absorbancia a $\lambda=734\text{nm}$.

Los resultados se reportan de la siguiente manera:

$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Absorbancia testigo} - \text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia testigo}} \times 100$

Anexo 4. Determinación de Actividad Antioxidante por el método de DPPH.

Preparación de Soluciones

-Reactivo DPPH= Se pesan 24mg de reactivo DPPH y se aforan a 100ml con metanol. Se cubren con papel metálico.

-Solución stock= Se mide la absorbancia y se realiza un ajuste con metanol hasta llegar a un rango de 1.0-1.1nm.

Se toman 2.8ml de la solución stock y se hacen reaccionar adicionando 50 μ L de extracto.

El blanco se preparó con metanol en agua al 80%.

Para el patrón se utilizó 1.5 mL de DPPH- y 0.75 mL de agua.

Se dejaron reposar por 30 min.

Se midió la absorbancia a 515 nm.

La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de inhibición del radical. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Anexo 5. Blanqueamiento de β -Caroteno

Preparación de soluciones

Solución de β -Caroteno: Pesar 0.5 gramos de β -Caroteno y disolver en 50 mL de cloroformo

Solución de tocoferol: Pesar 50 mg de tocoferol y diluirlos en 100 mL de metanol al 80%

- Tween 20
- Ácido linoleico al 99%
- Peróxido de hidrogeno al 30%

Se mezcla 1 mL de la solución de β -caroteno, con 0.02 mL de tween 20, 0.02 mL de ácido linoleico y el extracto.

Se evapora la mezcla hasta la sequedad con un flujo de nitrógeno

Se adiciona 50 mL de peróxido de hidrógeno al 30%

Se someten las muestras a auto oxidación térmica a 50 °C por 2 horas

Se mide la absorbancia de las muestras a 470 nm

Se calcula la oxidación del ácido linoleico por medio del blanqueamiento del β -caroteno de la siguiente forma

$$\% \text{ Retención de } \beta\text{-caroteno} = \frac{\text{Abs}_{\text{muestra (120)}} - \text{Abs}_{\text{control (120)}}}{\text{Abs}_{\text{control (0)}} - \text{Abs}_{\text{control(120)}}} \times 100$$

Se utiliza la solución de tocoferol como estándar.

1 mL de una solución de β -caroteno (0.2 mg/mL en cloroformo) fue adicionada a un matraz de fondo plano de 50 mL que contenía una solución de 0.2 mL de Tween 20 y 0.02 mL de ácido linoleico, se agitó la mezcla y se le agregaron los extractos a diferentes concentraciones de compuestos fenólicos totales.

La mezcla se agitó y se evaporó hasta sequedad bajo vacío a 25 °C.

Se le agregó 50 mL de una solución de H₂O₂ al 3% y se agitó vigorosamente por 45 s hasta formar un liposoma.

Las muestras fueron incubadas a 50 °C en ausencia de luz, se tomaron lecturas de absorbancia a 470 nm cada 10 minutos hasta 2 horas a partir del momento de la adición de peróxido de hidrógeno H₂O₂. La actividad antioxidante fue expresada

como porcentaje de retención de β -caroteno -Todos los análisis fueron realizados por triplicado.

Anexo 6. ANOVA Maíz amarillo

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
ACTANTIOX	Inter-grupos	67753.533	2	33876.766	3.885	.083
	Intra-grupos	52323.389	6	8720.565		
	Total	120076.921	8			
ABTS	Inter-grupos	1439.992	2	719.996	349.334	.000
	Intra-grupos	12.366	6	2.061		
	Total	1452.358	8			
Antocianinas	Inter-grupos	1372.821	2	686.410	573.586	.000
	Intra-grupos	7.180	6	1.197		
	Total	1380.001	8			
DPPH	Inter-grupos	385.184	2	192.592	11.156	.010
	Intra-grupos	103.582	6	17.264		
	Total	488.766	8			

Anexo 7. ANOVA Maíz Azul

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
ACTANTIOX	Inter-grupos	358569.634	2	179284.817	35.041	.000
	Intra-grupos	30698.563	6	5116.427		
	Total	389268.197	8			
ABTS	Inter-grupos	3019.633	2	1509.817	126.057	.000
	Intra-grupos	71.864	6	11.977		
	Total	3091.497	8			
Antocianinas	Inter-grupos	12977.644	2	6488.822	208.151	.000
	Intra-grupos	187.042	6	31.174		
	Total	13164.686	8			
DPPH	Inter-grupos	1302.101	2	651.050	159.334	.000
	Intra-grupos	24.516	6	4.086		
	Total	1326.617	8			

Anexo 8. ANOVA Maíz Rojo

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
ACTANTIOX	Inter-grupos	1040689.923	2	520344.962	63.132	.000
	Intra-grupos	49453.009	6	8242.168		
	Total	1090142.932	8			
ABTS	Inter-grupos	2133.443	2	1066.722	80.032	.000
	Intra-grupos	79.972	6	13.329		
	Total	2213.415	8			
Antocianinas	Inter-grupos	62983.861	2	31491.931	580.904	.000
	Intra-grupos	325.271	6	54.212		
	Total	63309.133	8			
DPPH	Inter-grupos	965.135	2	482.568	30.170	.001
	Intra-grupos	95.969	6	15.995		
	Total	1061.105	8			