

ESTUDIO QUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE LA FRACCIÓN  
POLIFENÓLICA (ANTOCIANINAS) AISLADA DE LOS GRANOS, HOJAS Y  
CORONTA DEL MAÍZ MORADO (*Zea mays L.*) CULTIVADO EN EL  
DEPARTAMENTO DE NARIÑO.

ESTEFANIA JOHANNA CARRERA HARO

Universidad de Nariño  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Programa Académico de Química  
San Juan de Pasto  
2019

ESTUDIO QUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE LA FRACCIÓN  
POLIFENÓLICA (ANTOCIANINAS) AISLADA DE LOS GRANOS, HOJAS Y  
CORONTA DEL MAÍZ MORADO (*Zea mays L.*) CULTIVADO EN EL  
DEPARTAMENTO DE NARIÑO.

ESTEFANIA JOHANNA CARRERA HARO

Trabajo de grado presentado como requisito parcial  
para optar el título de Químico

Director  
NELSON HUMBERTO HURTADO GUTIÉRREZ  
Doctor en Ciencias Químicas  
Universidad de Nariño

Universidad de Nariño  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Programa Académico de Química  
San Juan de Pasto  
2019

Las ideas y conclusiones aportadas en el presente trabajo de grado son responsabilidad exclusiva de los autores.

Artículo 1° del acuerdo No. 324 del 11 de octubre de 1966, emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

---

---

---

---

---

---

---

Nelson Humberto Hurtado Gutiérrez  
Director

---

Juan José Lozada  
Jurado

---

Olga Lucia Benavides  
Jurado

San Juan de Pasto, 28 de junio de 2019.

## **DEDICATORIA**

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres Iván Carrera y Mónica Haro.

Por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi amado esposo Fernando Guacales.

La persona con quien día a día, juntos y de la mano caminamos por el mágico sendero de la vida, por sus palabras y confianza, por su gran amor, permanente cariño, y sobre todo por su infinita paciencia durante mi formación profesional.

A mis amados hijos Joan y Fernanda Guacales.

Por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más y buscar lo mejor para ustedes, por ayudarme a ver el lado dulce de la vida y por ser mi mayor orgullo y el motivo más grande para culminar con éxito esta etapa.

A mis familiares.

A mi hermana Ivonne por sus consejos y palabras de aliento, a mi hermano Willy por hacerme saber que soy un buen ejemplo para seguir, a mis abuelitos Clemencia Flores y Hugo Haro (QEPD) por haber sido parte de mi vida, a mis tías Elizabeth, Carolina y Marisol, por ser el ejemplo de perseverancia y de lucha constante y por ser partícipes directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

¡Gracias a ustedes!

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi director de tesis, Dr. Nelson Humberto Hurtado por haberme brindado la oportunidad de desarrollar este proyecto dentro de su grupo de investigación, por ofrecerme su confianza y apoyo durante de mi proceso de investigación y por sus sustanciales aportes a la escritura del documento final.

A mis Jurados, Dra. María del Pilar Guauque y al Dr. Jesús Adriano Romo por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y las sugerencias realizadas al informe, que conllevaron a una sustancial mejora del documento.

A todos mis profesores del Departamento de Química de la Universidad de Nariño por sus enseñanzas y por ser parte de mi proceso de formación profesional.

A mis compañeros de carrera que sin esperar nada a cambio estuvieron a mi lado ayudándome a crecer personal y profesionalmente especialmente a Esteban Rosero, Natalia Solarte, María Claudia Montalvo, Jennifer Muñoz, Andreina Samper, Natalia Delgado gracias por su compañía y apoyo incondicional para lograr esta meta.

A mis compañeros del Grupo de investigación GIPIB de la universidad de Nariño, por su guía y compañía de principio a fin.

A la vicerrectoría de investigaciones, postgrados y relaciones internacionales (VIPRI) por el apoyo financiero que permitió el desarrollo de este trabajo bajo la dirección del Dr. Nelson Humberto Hurtado Gutiérrez en el grupo de investigación en productos naturales (GIPIB) de la universidad de Nariño, a los técnicos académicos y a todo el personal que permitieron que todo esto sea posible.

## RESUMEN

Mediante técnicas cromatográficas se realizó un análisis cualitativo y cuantitativo de los pigmentos antociánicos del grano, hojas y corontas de maíz morado (*Zea mays L.*) cultivado en el departamento de Nariño, evidenciando que el extracto purificado de coronta presentó el mayor contenido fenólico total con 318,09 mg de EAG/g de extracto y el mayor contenido de antocianinas monoméricas totales (AMT) con un valor de 173,86 mg de cy-3-glu/g de extracto. Estos resultados muestran una relación estadísticamente significativa con la capacidad de captura de los radicales libres ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>, donde el extracto de coronta purificado ECP presento los valores más altos con (4,04 ± 0,296 mM trolox/g Extr. y 17,43 ± 0,46 EC<sub>50</sub>) respectivamente.

Los extractos purificados sometidos a cromatografía de exclusión por tamaño molecular (Sephadex LH-20), mostraron que la fracción de coronta eluída con acetona al 60% (FCA60%) de mayor peso molecular, fue la fracción mas antioxidante.

Mediante espectroscopia UV-Vis y HPLC-ESI-MS, se identificó parcialmente la presencia de 17 compuestos antociánicos en el ECP, como: Cianidina-3-O-glucósido, Pelargonidina-3-O-(6"-malonilhexosido), Peonidina-3-O-(6"-malonilhexosido) entre otros, estos mismos compuestos fueron identificados en el EHP (16 antocianinas) y en el EGP (11 antocianinas), y mediante el uso de estándares se confirmó la presencia de dos antocianinas mayoritarias: Cianidina-3-O-glucósido y Pelargonidina-3-O-(6"-malonilhexosido) en granos, hojas y corontas de maíz morado, adicionalmente se identificaron flavonoles como: Quercetin-3-O-rutinoside, Isorhamnetin-3-O-rutinoside, Kaempferol-3-O-hexoside y Quercetin tanto en granos, hojas y corontas de maíz morado.

## ABSTRACT

Using chromatographic techniques, a qualitative and quantitative analysis of the anthocyanin pigments of the grain, leaves and crowns of purple corn (*Zea mays* L.) cultivated in the department of Nariño was carried out, showing that the purified extract of corona had the highest total phenolic content with 318.09 mg of EAG / g of extract and the highest content of total monomeric anthocyanins (AMT) with a value of 173.86 mg of cy-3-glu / g extract. These results show a statistically significant relationship with the capture capacity of the free radicals ABTS • + and DPPH •, where the ECP purified crown extract showed the highest values with ( $4.04 \pm 0.296$  mM trolox / g Extr. ,  $43 \pm 0.46$  EC50) respectively

Purified extracts subjected to molecular size exclusion chromatography (Sephadex LH-20), showed that the crown fraction eluted with 60% acetone (FCA60%) of higher molecular weight, was the most antioxidant fraction.

Using UV-Vis spectroscopy and HPLC-ESI-MS, the presence of 17 anthocyanin compounds in the ECP was partially identified, such as: Cyanidin-3-O-glucoside, Pelargonidin-3-O- (6 "-mononylhexoside), Peonidin -3-O- (6 " - malonylhexosido) among others, these same compounds were identified in the EHP (16 anthocyanins) and in the EGP (11 anthocyanins), and by the use of standards the presence of two major anthocyanins was confirmed : Cyanidin-3-O-glucoside and Pelargonidin-3-O- (6 "-malonylhexoside) in grains, leaves and corms of purple corn, additionally flavonols were identified as: Quercetin-3-O-rutinoside, Isorhamnetin-3 O-rutinoside, Kaempferol-3-O-hexoside and Quercetin in both grains, leaves and corms of purple corn.



## TABLA DE CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>19</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
OBJETIVO GENERAL.....	21
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	21
<b>3. ESTADO DEL ARTE</b> .....	<b>22</b>
3.1. ANTECEDENTES.....	22
3.3. MARCO CONTEXTUAL.....	30
3.3.1. <i>FAMILIA POACEAE</i> .....	30
3.3.2. <i>IMPORTANCIA</i> .....	31
3.3.3. <i>MAIZ (Zea mays L.): Origen, botánica y estructura.</i> .....	32
3.4. VARIEDADES DE MAIZ REPORTADOS COMO PERDIDOS Y ESCASOS 36	
3.5. MAIZ MORADO ( <i>ZEAMAYS L.</i> ).....	37
3.5.1. <i>COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MAÍZ MORADO</i> .....	39
<i>Tabla 6. Composición química de granos y corontas de maíz morado en base seca</i> .....	39
<b>4. MARCO TEORICO</b> .....	<b>40</b>
4.1. COLORANTES: CARACTERISTICAS, USOS Y EFECTOS.....	40
4.2. CLASES DE PIGMENTOS EN ORGANISMOS. ....	41
4.3. CLASIFICACION DE LOS COLORANTES .....	41
4.4. COLORANTES NATURALES.....	42
4.5. COLORANTES SINTETICOS.....	43
4.6. COLORANTE DEL MAIZ MORADO.....	44
4.6.1. <i>EL MAIZ MORADO COMO ALIMENTO FUNCIONAL</i> .....	45
4.7. COMPUESTOS POLIFENOLICOS.....	45
4.7.1. <i>FLAVONOIDES</i> .....	46
4.7.2. <i>ANTOCIANINAS</i> .....	47
4.7.3. <i>RUTA DE BIOSINTESIS DE LAS ANTOCIANINAS EN MAIZ</i> .....	49
4.8. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE .....	52
4.8.1. <i>LOS ANTIOXIDANTES Y SU ACTIVIDAD</i> .....	52

<b>5. AISLAMIENTO Y ANALISIS DE LOS COMPUESTOS FENOLICOS DE FUENTES VEGETALES. ....</b>	<b>53</b>
5.1. EXTRACCION SOLIDO-LIQUIDO .....	54
<b>6. PURIFICACION DE LOS COMPUESTOS FENOLICOS .....</b>	<b>54</b>
6.1. CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO IONICO .....	54
6.2. CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSION POR TAMAÑO (CET) .....	55
6.3. ANALISIS POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC).....	56
6.4. ANALISIS POR ESPECTROSCOPIA UV-VIS .....	57
7. MATERIALES Y METODOS.....	59
<b>8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>69</b>
8.1. CARACTERISTICAS DEL MAIZ MORADO .....	69
7.2. EXTRACTOS Y FRACCIONES POLIFENOLICAS DE MAIZ MORADO. ..	70
7.3. CROMATOGRAMA HPLC DE LAS FRACCIONES PURIFICADAS EGP, EHP Y ECP.....	73
7.4. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LAS ANTOCIANINAS POR UV-VIS Y HPLC-ESI-MS. ....	75
7.5. CUANTIFICACION DE FENOLES TOTALES (CFT).....	87
7.6. DETERMINACION DE ANTOCIANINAS MONOMERICAS TOTALES (AMT).....	92
7.7. DETERMINACION DE ANTOCIANINAS POLIMERICAS .....	93
<b>7.8. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> DE LOS EXTRACTOS CRUDOS Y PURIFICADOS DE MAIZ MORADO. ....</b>	<b>94</b>
7.8.2. CAPACIDAD ANTIRADICAL DPPH (2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL) DE LOS EXTRACTOS CRUDOS Y PURIFICADOS. ....	98
<b>8. CONCLUSIONES .....</b>	<b>103</b>
<b>9. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>106</b>
<b>10. ANEXOS. ....</b>	<b>117</b>

## **Lista de figuras**

FIGURA 1. MAÍZ MORADO (ZEA MAYS L.).....	38
FIGURA 2. CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES. ....	42
FIGURA 3. ESTRUCTURA BÁSICA Y SUSTITUYENTES DE LAS ANTOCIANINAS. ....	44
FIGURA 4. ESTRUCTURAS DE LOS PRINCIPALES FLAVONOIDES.....	47
FIGURA 5. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LAS ANTOCIANINAS Y ANTOCIANIDINAS. ....	48
FIGURA 6. RUTA DE BIOSÍNTESIS DE LAS ANTOCIANINAS MONOGLUCOSIDAS EN EL CITOPLASMA DE MAÍZ PIGMENTADO. ....	51
FIGURA 7. ESTRUCTURAS QUÍMICAS DE LAS RESINAS AMBERLITA XAD-7 (A) Y SEPHADEX LH-20 (B). ....	56
FIGURA 8. ESPECTROS UV-VIS DE LAS ANTOCIANINAS ACILADAS Y 3,5-GLUCOSILADAS (LÍNEA CONTINUA); NO ACILADAS Y 3-GLUCOSILADAS (LÍNEA DISCONTINUA). ....	58
FIGURA 9. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA (534,04G GRANOS, 157,74 G HOJAS Y 115,15G CORONTAS) .....	59
FIGURA 10. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS CRUDOS DE GRANOS, HOJAS Y CORONTAS DE MAÍZ MORADO. ....	60
FIGURA 11. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS PURIFICADOS (EP) MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE RETENCIÓN SELECTIVA CON AMBERLITA XAD-7.....	61
FIGURA 12. OBTENCIÓN DE LAS FRACCIONES POR CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑO MOLECULAR CON SEPHADEX LH-20.....	62
FIGURA 13. ESQUEMA DE FRACCIONAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL. ....	63
FIGURA 14. TRANSFORMACIÓN ESTRUCTURAL DE LAS ANTOCIANINAS CON EL CAMBIO DE PH (PH:1 COLOREADAS, PH 4,5: INCOLORAS). ....	65
FIGURA 15. ANTOCIANINAS POLIMÉRICAS (MÉTODO PH SUSTRATIVO), SE OBSERVA CAMBIO DE COLOR.....	66
FIGURA 16. CULTIVO EXPERIMENTAL DE MAÍZ MORADO DEPARTAMENTO DE NARIÑO (LA FLORIDA). ....	69
FIGURA 17. ASPECTO FÍSICO DE LAS DIFERENTES FRACCIONES AISLADAS DEL MAÍZ MORADO.....	72
FIGURA 18. PERFILES CROMATOGRÁFICOS DE LOS EXTRACTOS PURIFICADOS (EGP, EHP Y ECP) A 520 NM (ANTOCIANOS). ....	73
FIGURA 19. ESPECTRO UV-VIS DEL COMPUESTO FENÓLICO <b>4</b> .....	77
FIGURA 20. ESPECTRO UV-VIS DEL COMPUESTO FENÓLICO <b>9</b> .....	77
FIGURA 21. ESPECTRO DE MASAS DEL COMPUESTO <b>4</b> (TR: 17,670).....	78
FIGURA 22. ESPECTRO DE MASAS DEL COMPUESTO <b>9</b> (TR: 28,062 MIN).....	80

FIGURA 23. PERFILES CROMATOGRÁFICOS UV-VIS DE LOS EXTRACTOS PURIFICADOS (EGP, EHP Y ECP) A 360 NM (FLAVONOLES).....	82
FIGURA 24. ESTRUCTURA DE LA QUERCETINA-3-O-RUTINÓSIDO ( <b>18</b> ).....	85
FIGURA 25. ESTRUCTURA DE LA QUERCETINA-3-O-GLUCÓSIDO ( <b>19</b> ). ....	86
FIGURA 26. RECTA DE CALIBRADO PARA LA DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES (CFT). .....	87
FIGURA 27. GRÁFICO DE MEDIAS PARA EL CFT DE LAS MUESTRAS DE CORONTA ECC, ECP Y SUS FRACCIONES CM30%, CM60% Y CA60%.....	89
FIGURA 28. GRÁFICO DE MEDIAS (PRUEBA DE MÚLTIPLES RANGOS) PARA EL CONTENIDO DE AMT DE LOS EXTRACTOS PURIFICADOS AISLADOS DE LOS GRANOS, HOJAS Y CORONTA. ....	93
FIGURA 29. GRÁFICO DE MEDIAS (PRUEBA DE MÚLTIPLES RANGOS) PARA EL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS POLIMÉRICAS DE LOS EXTRACTOS PURIFICADOS AISLADOS DE LOS GRANOS, HOJAS Y CORONTA. ....	94
FIGURA 30. CURVA DE CALIBRACIÓN TEAC: (ABSORBANCIA VS CONCENTRACIÓN DE TROLOX). ....	95
FIGURA 31. GRÁFICO DE MEDIAS DE LOS VALORES TEAC PARA LAS MUESTRAS DE CORONTA ECC, ECP Y SUS FRACCIONES CM30%, CM60% Y CA60%.....	97
FIGURA 32. RELACIÓN ENTRE EL CFT Y LOS VALORES TEAC DE LAS MUESTRAS DE CORONTA. ....	97
FIGURA 33. CURVA DE CALIBRACIÓN DPPH. ....	98
FIGURA 34. GRAFICAS DE PORCENTAJE DE DPPH REMANENTE VS LA CONCENTRACIÓN DE ANTIOXIDANTE PARA LOS EXTRACTOS CRUDOS DE GRANOS, HOJAS Y CORONTAS. ....	99
FIGURA 35. GRAFICO DE MEDIAS PARA LOS VALORES EC <sub>50</sub> DE LOS EXTRACTOS PURIFICADOS DE GRANOS, HOJAS Y CORONTAS DE MAIZ MORADO.....	101
FIGURA 36. GRÁFICA DE CORRELACIÓN ENTRE LOS ENSAYOS CFT Y DPPH PARA LOS EXTRACTOS CRUDOS Y PURIFICADOS. ....	101

## **LISTA DE GRAFICAS**

GRAFICA 1. CULTIVO DE MAÍZ EN NARIÑO .....	35
GRAFICA 2. CFT DE ECC, ECP Y FRACCIONES CM30%, CM60% Y CA60%. .....	90
GRAFICA 3. CFT DE CORONTAS DEL PRESENTE ESTUDIO FRENTE AL CFT DE OTROS ESTUDIOS DE CORONTA DE MAÍZ MORADO. ....	91
GRAFICA 4. CONTENIDO DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS TOTALES (AMT) EN LOS EXTRACTOS CRUDOS Y PURIFICADOS. ....	92
GRAFICA 5. VALORES TEAC DE LOS EXTRACTOS DE CORONTA Y LAS FRACCIONES AISLADAS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑO.....	96

## **LISTA DE TABLAS**

TABLA 1. ESTUDIOS QUÍMICOS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y APLICACIÓN DE LOS COMPUESTOS POLIFENÓLICOS DE MAÍZ MORADO (ZEA MAYS L.).	26
TABLA 2. VARIEDADES DE MAÍZ PRESENTES EN COLOMBIA.	34
TABLA 3. DIVERSIDAD DE MAÍCES EN COLOMBIA.	36
TABLA 4. ABUNDANCIA DE MAÍCES EN NARIÑO.	37
TABLA 5. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL MAÍZ.	39
TABLA 6. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE GRANOS Y CORONTAS DE MAÍZ MORADO EN BASE SECA.	39
TABLA 7. ALGUNOS VEGETALES Y SU FUNCIÓN NUTRACEÚTICA.	43
TABLA 8. INFORMACIÓN DE LOS RENDIMIENTOS OBTENIDOS EN LOS DIFERENTES PROCESOS DE EXTRACCIÓN DE LOS POLIFENOLES DE MAÍZ MORADO.	70
TABLA 9 . PARÁMETROS ESPECTROSCÓPICOS UV-VIS DE LAS ANTOCIANINAS AISLADAS. (RELACIÓN DE ABSORBANCIAS.	76
TABLA 10. SEMI-CUANTIFICACIÓN (% ÁREA RELATIVA), ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y PRINCIPALES COMPUESTOS POLIFENÓLICOS IDENTIFICADOS EN EL EXTRACTO PURIFICADO (ECP) DE CORONTA, HOJAS Y GRANOS DE MAÍZ MORADO.	79
TABLA 11. SEMI-CUANTIFICACIÓN (% ÁREA RELATIVA), ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y PRINCIPALES COMPUESTOS DE TIPO FLAVONOL IDENTIFICADOS EN EL EXTRACTO DE CORONTA PURIFICADO (ECP).	84
TABLA 12. CONTENIDO FENÓLICO TOTAL (CFT), ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS TOTALES (AMT) Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TEAC Y DPPH.	88
TABLA 13. CONTENIDO DE ANTOCIANINAS POLIMÉRICAS EXPRESADAS EN % DE COLOR POLIMÉRICO DE EXTRACTOS CRUDOS Y PURIFICADOS DE GRANOS, HOJAS Y CORONTAS DE MAÍZ MORADO.	93

## **LISTA DE ANEXOS**

ANEXO A. CERTIFICADO DE CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL HERBARIO DE LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO. ....	117
ANEXO B. PERFILES CROMATOGRÁFICOS DE LAS FRACCIONES AISLADAS CON METANOL 30% Y 60% MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑO MOLECULAR (GRANOS, HOJAS Y CORONTAS). ....	118
ANEXO C. GRÁFICO DE MEDIAS PARA EL CFT DE LAS MUESTRAS DE HOJAS EHC, EHP, EHM30%, EHM60% Y EHA60%. ....	119
ANEXO D. GRÁFICO DE MEDIAS PARA EL CFT DE LAS MUESTRAS DE GRANOS EGC, EGP, EGM30%, EGM60% Y EGA60%. ....	120
ANEXO E. GRÁFICO DE MEDIAS PARA EL CFT DE LOS EXTRACTOS CRUDOS DE GRANOS, HOJAS Y CORONTAS. ....	120
ANEXO F. VALORES TEAC DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS Y LAS FRACCIONES AISLADAS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑO. ....	120
ANEXO G. VALORES TEAC DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS Y LAS FRACCIONES AISLADAS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑO. ....	121
ANEXO H. GRÁFICO DE MEDIAS PARA LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TEAC DE LAS MUESTRAS DE HOJAS EHC, EHP, EHM30%, EHM60% Y EHO60%. ....	121
ANEXO I. GRAFICO DE MEDIAS PARA LOS VALORES EC <sub>50</sub> DE LOS EXTRACTOS CRUDOS DE GRANOS, HOJAS Y CORONTAS DE MAIZ MORADO. ....	122

## GLOSARIO

**AGLICONA:** Parte no glucídica de un heterósido.

**ANTIOXIDANTES:** Moléculas capaces de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos. La oxidación de tales sustratos puede ser iniciada por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres y aquellas especies que sin ser radicales libres son suficientemente reactivas para inducir la oxidación de los sustratos mencionados.

**BIOACTIVO:** Componente que tienen una actividad biológica dentro del organismo, que se traduce en beneficios para la salud.

**BRÁCTEAS:** Órgano foliáceo en la proximidad de las flores y diferente a las hojas normales.

**CORONTAS:** f. amer. Mazorca de maíz después de desgranada.

**EXTRACTO:** Sustancia muy concentrada que se obtiene de otra por distintos procedimientos.

**LANCEOLADAS:** Hoja de una planta que tiene forma de punta de lanza.

**NUTRACEUTICO:** Producto de origen natural con propiedades biológicas activas beneficiosas para la salud; con una capacidad preventiva y/o terapéutica definida.

**RADICAL LIBRE:** Especie química que tienen electrones desapareados en sus orbitales externos y que puede existir de forma independiente.

### **CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA**

**EFICIENCIA(HPLC):** Técnica analítica que permite separar, aislar e identificar los analitos de una mezcla de compuestos químicos.



- MASAS (MS):** Técnica analítica que permite identificar compuestos desconocidos, cuantificar compuestos conocidos, y para elucidar la estructura de diferentes moléculas
- IN VITRO:** Que tiene lugar en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente fuera de un organismo vivo.
- PERICARPIO:** Parte del fruto que recubre su semilla y consiste en el ovario fecundado.
- POLIFENOLES:** Sustancias químicas presentes en las plantas, caracterizados por la presencia de uno o más grupos fenólicos en su estructura.
- HPLC-PAD:** Del inglés High-performance Liquid Chromatography with Pulsed Amperometric Detector, técnica analítica que permite separar, aislar e identificar los analitos de una mezcla de compuestos químicos y debido a su rapidez, son capaces de registrar la totalidad del espectro proporcionando un cromatograma tridimensional que muestra la absorbancia en función de la longitud de onda en pequeños intervalos de tiempo.
- HPLC-MS-ESI:** Del inglés High-performance Liquid Chromatography mass-coupled and ESI, técnica de ionización suave que se utiliza para la determinación del peso molecular de una amplia variedad de analitos

## ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
%	Porcentaje
MeOH	Metanol
Ace	Acetona
EC	Extracto Crudo
EP	Extracto Purificado
ECC	Extracto crudo de maíz coronta
ECP	Extracto purificado de maíz coronta
EHC	Extracto crudo de maíz hoja
EHP	Extracto purificado de maíz hoja
EGC	Extracto crudo de maíz grano
EGP	Extracto purificado de maíz grano
CM	Fracción coronta Metanol
CA	Fracción coronta acetona
HM	Fracción hoja metanol
HA	Fracción hoja acetona
GM	Fracción grano metanol
GA	Fracción grano acetona
EM	Espectrometría de masas
h	Hora
min	Minutos
MS	Espectrometría de masas
ppm	Partes por millón
CFT	Contenido Fenólico Total
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
TEAC	Capacidad antioxidante equivalente a Trolox
ABTS	2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
AMT	Antocianinas Monoméricas Totales
HCl	Ácido clorhídrico
rpm	Revoluciones por minuto

## 1. INTRODUCCIÓN

La presencia de antioxidantes en frutas y verduras ha demostrado su efectividad en la prevención de algunas enfermedades en los seres humanos y en animales. Las hortalizas, frutas y sus semillas son ricas en vitaminas C y E,  $\beta$ -caroteno y polifenoles como las antocianinas. Estos compuestos ayudan a proteger a los organismos contra lesiones causadas por radicales libres debido a su destacada capacidad antioxidante<sup>1</sup>. Dentro de los polifenoles, las antocianinas son pigmentos naturales que se clasifican dentro del grupo de los flavonoides. Se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y son responsables de los colores rojo, violeta y azul de frutas y flores. Su principal función es la de atraer insectos y pájaros para propósitos de polinización y dispersión de semillas<sup>2</sup>. Estos compuestos polifenólicos son solubles en agua, lo cual facilita su incorporación como colorantes naturales en una gran variedad de sistemas alimenticios acuosos.

Por tal razón, el estudio de estos compuestos polifenólicos ha tomado importancia no solo por su alto potencial como colorantes sino también debido a sus implicaciones sobre la salud humana: este tipo de compuestos se ha relacionado con la reducción de ciertas enfermedades como el cáncer, enfermedades cardiovasculares entre otras patologías<sup>3</sup>. Estudios realizados sobre la actividad biológica de las antocianinas muestran la viabilidad de estas como sustitutos de algunos fármacos usados en el tratamiento de diferentes enfermedades. Algunos artículos indican que las antocianinas monoglicosiladas y no aciladas son los mayores inhibidores de la proliferación y crecimiento de las células de cáncer de colon<sup>4</sup>. Por lo tanto, la ingesta diaria de frutas y verduras podría ayudar a prevenir importantes enfermedades no transmisibles. Sin embargo, un tema controversial es la disponibilidad de las antocianinas en el ser humano, ya que metabólicamente las

---

<sup>1</sup> PRIOR R. L. W., X., Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, vol. 53, p. 4290-4302.

<sup>2</sup> GROSS J. *Pigments in Fruits*. Academic Press, 1987, London, p. 59-85.

<sup>3</sup> ANDERSEN, Ø. M. J., M. The anthocyanins. En *Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications*. In: CRC Taylor and Francis: Boca Raton, FL, 2005. P. 471.

<sup>4</sup> JING P., J. A., Schwartz S., He J., Magnuson B., Giusti M. Structure function relationships of anthocyanins from various anthocyanin-rich extracts on the inhibition of colon Cancer cell growth. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, vol. 56, p. 9391-9398.

antocianinas difieren de otros flavonoides con cantidades de excreción en la orina mucho mayores en relación con la cantidad consumida<sup>5</sup>.

La geografía colombiana ofrece una variedad de pisos térmicos que determinan la gran biodiversidad en plantas, bayas, flores y frutos, siendo una ventaja competitiva que nos ofrece nuestra riqueza natural y así plantear el presente trabajo con el objeto de evaluar y cuantificar la composición antociánica de la especie agronómica casi extinta de maíz morado (*Zea mays L.*) cultivado en el departamento de Nariño. Agregando a lo anterior, Colombia importa el 84% del maíz para consumo, debido a que su cultivo ha disminuido considerablemente en casi todo el territorio nacional y aún más la especie de maíz morado (*Zea mays L.*), el cual es de especial interés debido a que posee varios metabolitos secundarios, como carotenoides y compuestos fenólicos<sup>6</sup>, en especial un pigmento natural denominado cianidina-3- $\beta$  glucósido, el cual pertenece a las denominadas antocianinas, promisorias para el desarrollo de productos benéficos para la salud humana y como colorantes naturales. Además, todas las variedades de maíz de color púrpura, negro y rojo son ricos en antocianinas y exhiben una importante actividad antioxidante<sup>7</sup>.

Por lo anterior, el interés investigativo sobre el maíz morado (granos, hojas y coronta) surgió teniendo en cuenta que según la literatura científica la coronta, en comparación a los granos, presenta un mayor contenido fenólico y capacidad antioxidante<sup>8</sup>, sin embargo, los estudios sobre el aislamiento y caracterización de las hojas (brácteas) y en general del maíz morado en Colombia son relativamente nulos, adicional a esto las hojas y corontas al ser subproductos de su consumo, constituyen una materia prima favorable desde el punto de vista económico y ambiental.

---

<sup>5</sup>WU X. P., R. L. Anthocyanidin and glycoside moieties alter anthocyanin absorption and metabolism following a meal of berries in the weanling pigs. *J. Nutr.* 2005, vol. 135, p. 2417-2424.

<sup>6</sup> CUEVAS MONTILLA E., Hillebrand, S., Antezana A., & Winterhalter P. Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn (*Zea mays L.*) cultivars. *J Agric Food Chem*, 2011. Vol. 59(13), p. 7068-7074.

<sup>7</sup>CALLEJO M. "industrias de cereales y derivados", editorial mundo-Prensa libros, S.A, Madrid, España, 2002. p.18, 19.

<sup>8</sup> GORRITI ARILMI., et. al. Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (*Zea mays L.*): Método de extracción, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marco, Lima, Perú. 2009, Vol. 8(6), p. 509-518.

## 2. OBJETIVOS

### Objetivo general

Caracterizar, cuantificar y evaluar la actividad antioxidante *in Vitro* de la fracción polifenólica (antocianinas) aislada de los granos, hojas y coronta del maíz morado (*Zea Mays*) cultivado en el departamento de Nariño.

### Objetivos específicos

- Extraer la fracción fenólica (antocianinas) de los granos, hojas y coronta del maíz morado (*Zea mays L*) cultivado en Nariño mediante combinación de diferentes técnicas cromatográficas.
- Cuantificar las antocianinas monoméricas y poliméricas de los granos, hojas y coronta del maíz morado (*Zea mays L*).
- Caracterizar químicamente las antocianinas mayoritarias presentes en los granos, hojas y coronta del maíz morado mediante UV-Vis, HPLC y HPLC-ESI-MS.
- Evaluar la capacidad de captura de radicales libres sintéticos de las fracciones fenólicas aisladas de los granos, hojas y coronta del maíz morado mediante los métodos TEAC y DPPH.

### 3. ESTADO DEL ARTE

#### 3.1. ANTECEDENTES

Son muchos los estudios realizados con relación a la composición y actividad antioxidante *in vitro* de la fracción polifenólica tipo antocianina del maíz morado (*Zea mays L.*) en diversos países; sin embargo, al encontrarse pocos cultivos de la especie de maíz morado en Colombia los estudios de este tipo reportados en la literatura científica colombiana son prácticamente nulos.

A continuación, se mencionan algunos de los principales trabajos que hacen referencia a la extracción, cuantificación y determinación de la capacidad antioxidante de los granos, hojas (brácteas) y corontas de maíz morado (*Zea mays L.*).

Entre las primeras investigaciones relevantes, realizadas con maíz morado, se encuentran las desarrolladas por Straus, 1959<sup>9</sup> que mediante técnicas cromatográficas de capa fina y de papel, identificó la cianidina 3-glucósido, pelargonidina 3-monoglucósido y algunos derivados acilados, como las antocianinas predominantes en la variedad de maíz 'Negro mexicano dulce'. Por su parte, Harborne y Self (1987)<sup>10</sup> mediante el uso de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés), confirmaron la presencia de dos antocianinas aciladas [cianidina 3 – (6" malonil glucósido) y cianidina 3 dimalonilglucósido] en hojas coloreadas de maíz.

Sonia de Pascual-Teresa, *et al*, 2002 realizaron los análisis LC–MS de antocianinas provenientes de una muestra comercial de corontas de maíz morado<sup>11</sup>, preparada por una compañía peruana, la cual fue macerada con etanol al 60% acidificado con 1% de ácido cítrico por 3 horas a 60°C. La cuantificación de antocianinas se realizó por el método espectrofotométrico, obteniendo (34g/100g cyanidin-3-glucoside). Mediante el espectro UV-Vis determinaron la presencia de cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido, las cuales fueron confirmadas mediante el análisis LC-MS. Además, se aislaron otros compuestos por HPLC semipreparativa obteniendo pelargonidina-3-(6"-

---

<sup>9</sup> STRAUS J. Anthocyanin synthesis in corn endosperm tissue culture. I: Identity of the pigments and general factors. *Plant Physiol*, 1959. p. 536-540.

<sup>10</sup> HARBORNE, J. B., R. Self. Malonated cyanidin 3 glucosides in *Zea mays* and other grasses. *Phytochemistry*, 1987, vol. 26, p. 417-418.

<sup>11</sup> DE PASCUAL-Teresa S., Celestino B. y C. Rivas G. LC–MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2002. vol. 22, p. 1003-1006.

malonilglucósido) y peonidina-3-(6" malonil glucósido) las cuales no han sido descritas hasta el momento en ese tipo de maíz pigmentado.

Posteriormente otra investigación realizada por Romina Pedreschi, L. C.-Z. en 2005. Acerca de los perfiles fenólicos de maíz morado (*Zea mays* L.) andino<sup>12</sup>. Mediante HPLC-DAD y en dos principales fracciones: una fracción con agua (WF-100mL) a -50°C y otra fracción con etil acetato (EAF-400mL) a 40°C y a 240mbar de presión. La WF rica en antocianinas revelo la presencia de cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido, la respectiva antocianina glucósido acilada fue detectada mediante hidrólisis alcalina. De la fracción (EAF) se determinaron ácidos fenólicos como p-cumárico, ácido vinílico, ácido protocatechuic, flavonoides como derivados de la quercetina y un derivado de la hesperina. La hidrólisis alcalina de esta última fracción reveló la presencia de ácido p-cumárico y ácido ferúlico como componentes principales además de cuatro formas de ácido hidroxicinámico.

Mas adelante El Sayed M. *et al*, 2006, estudiaron la composición antociánica de granos de cereales: negros, azules, rosados, morados y rojos<sup>13</sup>. El contenido total de antocianinas durante este estudio varia significativamente en un rango de 7-3276mg/g. Algunos granos como el arroz negro y rojo contienen un número limitado de pigmentos y otros como los maíces negros, azules, rosados, rojos y morados tienen perfiles complejos de antocianinas. Se observaron 42 antocianinas y de estas solo 9 fueron caracterizadas por comparación de propiedades espectroscópicas y cromatográficas; los compuestos restantes fueron identificados tentativamente mediante bases de propiedades espectroscópicas y por espectros de masas acoplado a ionización electrospray. Así mismo como se ha mencionado anteriormente la antocianina mayoritaria en este tipo de cereales pigmentados es la cianidina-3-glucósido.

En relación con el estudio de la actividad antioxidante del maíz morado, Zhendong Yang, 2009, realizó la identificación y la determinación de la capacidad antioxidante de antocianinas extraídas de los granos y corontas del maíz morado (*Zea mays* L.)<sup>14</sup>. Mediante maceración química con metanol por 24 horas a 4°C obtuvo los extractos crudos de coronta (PCCAs) y de semillas (PCSA), que fueron usados para determinar la capacidad antioxidante mediante los métodos de pH diferencial, DPPH, FRAP y TEAC. Posteriormente determino que el contenido

---

<sup>12</sup> PEDRESCHI Romina, L. C. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). Elsevier, 2005. P. 956–963.

<sup>13</sup> EL-SAYED M. Abdel-Aal, J. C., y IWONA Rabalski. Anthocyanin Composition in Black, Blue, Pink, Purple, and Red Cereal Grains. En: Agric. Food Chem, 2006. p. 4696-4704.

<sup>14</sup>ZHENDONG YANG ., W. Z. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). Elsevier, 2009, p. 169-176.

total de antocianinas (TAC) fue mayor en las corontas (92.3±1.5 mg/100 g cyanidin-3-glucoside) que en las semillas del maíz morado (55.8±2.1 mg/100 g cyanidin-3-glucoside), lo cual mostro una satisfactoria correlación entre el contenido total de antocianinas y la capacidad antioxidante evaluada por los tres métodos.

Con relación al proceso de extracción Gorriti-Gutiérrez *et al.*, (2009)<sup>15</sup> estudiaron las mejores condiciones de extracción de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado. Ensayaron extracciones con soluciones etanólicas al 20 % y pH 2 acondicionadas según un diseño factorial con los factores temperatura y tiempo de extracción. Los resultados obtenidos indicaron que las condiciones adecuadas de extracción correspondieron a una temperatura de 45 °C y un tiempo de extracción de entre 120 y 240 minutos. Los resultados indican antocianinas entre 11,567 y 37,127 mg/g de coronta, fenoles totales expresados como EAG entre 23,426 y 76,962 mg EAG/g de coronta, y DPPH remanente entre los 17,06 y 68,80 %. El análisis de regresión lineal indica dependencias altamente significativas entre la actividad antioxidante y fenoles totales ( $r^2 = 0,9974$ ).

De igual forma Gorriti-Gutiérrez *et al.* (2009b)<sup>16</sup> También estudiaron la influencia de otras variables de proceso como el tipo de solvente de extracción y el pH. Así, concluyeron que la extracción se ve favorecida por la utilización de un medio etanólico al 20% como agente de extracción y un pH entre 2 y 4.

Otra investigación realizada con base en el método de extracción de Bridgers *et al.*, (2010)<sup>17</sup>, determinaron que las condiciones de extracción, tales como relación sólido-líquido, temperatura, tiempo, tipo de disolvente y concentración de disolvente influyen en la estabilidad de las antocianinas, así como también que en la concentración de antocianinas extraídas, se debe maximizar la recuperación de pigmentos, minimizar los compuestos adjuntos extraídos y limitar la degradación o alteración del estado natural del extracto. El conocimiento de los factores involucrados en su estabilidad y de los mecanismos de degradación es sumamente vital para una eficiente extracción, purificación y uso de las antocianinas como colorantes de alimentos o bien para sustituyente de fármacos.

---

<sup>15</sup> GORRITI A, Quiñones F., Arroyo JL, Córdova A, Jurado B, Santiago I, Taype E. Extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays L.* Maíz morado. En: Ciencia e Investigación, 2009. Vol. 12, p. 64-74

<sup>16</sup> GORRITI A, Q. F., Arroyo JL, Córdova A, Jurado B, Santiago I, Taype E., Op. Cit., p. 68.

<sup>17</sup> BRIDGERS E. N.; CHINN, M.S.; TRUONG, V.D. Extraction of anthocyanins from industrial purple-fleshed sweetpotatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars. Industrial, en: Crops and Products, 2010, Vol. 32 (3): p. 613–620.



En estudios recientes, Cuevas Montilla *et al.* (2011)<sup>18</sup> estudiaron los compuestos fenólicos y contenido de antocianinas en nueve variedades de maíz morado (*Zea mays L.*) bolivianos. En esta investigación se encontraron 4 variedades rojas y 5 azules: (Kulli, Ayzuma, Paro, Tuimuru, Oke, Huaca Songo, Colorado, Huillcaparu y Checchi). Durante la investigación determinaron un rango del contenido fenólico entre 311.0 y 817.6 mg equivalentes ácido gálico (EAG)/100 g peso seco, y un total de antocianinas monoméricas entre 1.9 y 71.7 mg equivalentes a cianidina-3-glucósido /100 g peso seco y la presencia de la cianidina-3-glucósido como antocianina mayoritaria además de mono glucósidos de cianidina, peonidina y pelargonidina presentes en menor proporción.

En investigaciones sucesivas, Fernández, citado por Medina (2012)<sup>19</sup>, cita sobre la extracción y pre-purificación de antocianinas de maíz morado: En una primera etapa se estudió la influencia de los parámetros de maceración de la coronta y la combinación de maceración y calentamiento en el rendimiento de la extracción de antocianinas. Las condiciones óptimas para la extracción de antocianinas de la coronta fueron: tamaño de partícula 2 mm, solvente de maceración agua con 0,1 % de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (pH=2), relación materia prima/solvente de maceración 1/12, 12 horas de maceración a 20 °C y extracción en tres etapas a 80 °C por 30 minutos cada una de ellas. En una segunda etapa, se estudió la purificación del extracto, mediante precipitación con acetato de plomo básico y resinas de intercambio iónico: Amberlita IRC -50 y CG-50 (intercambiadores catiónicos débiles) y Tulsion T-42 (intercambiador catiónico fuerte). Se obtuvieron buenos resultados mediante la precipitación con acetato de plomo básico a pH 6,0, recuperándose 90 % de antocianinas; cuando la precipitación se realizó a pH ácido (2 a 4) los rendimientos fueron bajos mientras que a pH alcalino (7 a 9) éstos fueron altos, pero con índices de degradación elevados”.

Quiñones y Barrera (2015)<sup>20</sup>, determinaron la composición de antocianinas monoméricas de cinco fenotipos de maíz coloreado (*Zea mays L.*). En Colombia, el maíz coloreado es poco conocido y escasamente aprovechado, el cual si ha sido investigado en otros países. Como parte de los estudios del aprovechamiento de materiales vegetales nativos, cinco accesiones locales de maíz coloreado, provenientes de la región cundiboyacense, fueron recuperadas y cultivadas en condiciones agroecológicas. Se caracterizaron los extractos metanólicos obtenidos

---

<sup>18</sup> CUEVAS MONTILLA E., Hillebrand, S., Antezana A., & Winterhalter P., Op. Cit., p. 7071

<sup>19</sup> MEDINA R. Extracción de la colorante antocianina a partir del maíz morado y su aplicación en la industria alimentaria. En: Ing. ind. alim., 2012. p. 67

<sup>20</sup> QUIÑONES R., Coy- Barrera E. Composición de antocianinas monoméricas de cinco fenotipos de maíz coloreado (*Zea mays L.*) de la región central colombiana. Revista Facultad de Ciencias Universidad Nacional de Colombia, 2015, p. 38-61.

de sus granos, evaluando el contenido de antocianinas totales y la capacidad captadora de radicales DPPH, cuyos valores estuvieron entre 21-168 mg eq cianidina 3-glucósido/kg grano seco y 195- 412  $\mu$ M Trolox/g grano seco, respectivamente. Se determinaron los perfiles de antocianinas de cada fenotipo mediante HPLC-DAD-MS. Se identificaron tentativamente nueve antocianinas, cuatro de ellas presentes en todos los fenotipos. Tales perfiles permitieron realizar una discriminación de los cinco fenotipos a partir de análisis multivariado. La información estructural se apoyó en el aislamiento y elucidación de cuatro de las antocianinas a partir del extracto enriquecido del fenotipo púrpura.

Recientemente Flores- Aguilar., y Flores-Rivera, (2018) <sup>21</sup> elaboraron cuatro tipos de bebidas funcionales empleando Stevia y sacarosa como edulcorantes a partir de combinaciones de extractos de tusa de maíz morado. Se determinaron sus características antioxidantes y estabilidad durante 86 días a 4 y 18 °C protegidas de la luz. La concentración de antocianinas se determinó con el método diferencial de pH, fenoles totales por el método de Folin, la capacidad antioxidante por la reducción del ion cúprico y captura del radical catión del ácido 2,2'-azino-bis- (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico). Las antocianinas se degradaron en menor proporción en refrigeración que a temperatura ambiente siguiendo una cinética de primer orden. Los fenoles totales y capacidad antioxidante mostraron estabilidad con respecto al tiempo en el periodo evaluado independientemente de la temperatura de almacenamiento. Las bebidas presentaron resultados favorables en cuanto al contenido de antocianinas, y características sensoriales.

Con el fin de facilitar el estudio de los antecedentes de los trabajos realizados sobre maíz morado a través de los años, en la tabla 1 se resume la anterior información.

Tabla 1. Estudios químicos, actividad antioxidante y aplicación de los compuestos polifenólicos de maíz morado (*Zea mays L.*).

<b>AUTOR</b>	<b>AÑO</b>	<b>TITULO</b>	<b>RESUMEN</b>
Straus J.	1959	Anthocyanin synthesis in corn endosperm tissue culture. I: Identity of the pigments and general factors	Identifico la cianidina-3-O-glucósido mediante cromatografía de capa fina en maíces negros.
Harborne y Self	1987	Malonated cyanidin 3 glucosides in <i>Zea mays</i>	Mediante HPLC confirmaron la presencia de antocianinas aciladas

<sup>21</sup>FLORES AGUILAR E., & Flores-Rivera, E. del P. Estabilidad de Antocianinas, Fenoles totales y Capacidad Antioxidante de Bebidas de Maíz Morado (*Zea mays L.*) y Uña de Gato (*Uncaria tomentosa sp.*). Información Tecnológica, 2018, vol. 29(2), 175–184.

		and other grasses.	en hojas coloreadas de maíz.
Sonia de Pascual-Teresa, <i>et al</i> ,	2002	LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob	Mediante UV-Vis determinaron la presencia de cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido, confirmadas mediante el análisis LC-MS.
Romina Pedreschi, L. C.-Z.	2005	Phenolic profiles of Andean purple corn ( <i>Zea mays L.</i> ).	Mediante HPLC-DAD en WF revelo la presencia de cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido, en la fracción (EAF) se determinaron ácidos fenólicos como p-coumarico, ácido vanílico, ácido protocatechuic, flavonoides como derivados de la quercetina y un derivado de la hespertina.
El Sayed M. <i>et al</i> ,	2006	Anthocyanin Composition in Black, Blue, Pink, Purple, and Red Cereal Grains.	Estudiaron la composición antociánica de granos de cereales: negros, azules, rosados, morados y rojos, Se observaron 42 antocianinas y de estas solo 9 fueron caracterizadas por comparación de propiedades espectroscópicas y cromatográficas, los compuestos restantes fueron identificadas tentativamente mediante bases de propiedades espectroscópicas y por espectros de masas acoplado a ionización electrospray.
Zhendong Yang	2009	Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn ( <i>Zea mays L.</i> ).	Determinó que el contenido total de antocianinas (TAC) fue mayor en corontas (92.3±1.5 mg/100 g cianidin-3-glucósido) que en semillas del maíz morado (55.8±2.1 mg/100 g cianidin-3-glucoside), mostro una correlación entre el contenido total de antocianinas y la capacidad antioxidante.
Gorriti-Gutiérrez <i>et al</i>	2009	Extracción de antocianinas de las corontas de <i>Zea mays L.</i> Maíz morado	Ensayaron extracciones con soluciones etanólicas al 20 % y pH 2 acondicionadas según un diseño factorial con los factores temperatura y tiempo de extracción. Los resultados obtenidos indicaron que las mejores condiciones de extracción correspondieron a una temperatura

			de 45 °C y un tiempo de extracción de entre 120 y 240 minutos, mientras que las condiciones más desfavorables fueron 25 °C y 30 minutos.
Bridgers <i>et al.</i>	2010	Extraction of anthocyanins from industrial purple-fleshed sweet potatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars	Determino las condiciones de extracción, tales como relación sólido-líquido, temperatura, tiempo, tipo de disolvente y concentración de disolvente influyen en la estabilidad de las antocianinas, así como también en la concentración de antocianinas extraídas, se debe maximizar la recuperación de pigmentos, minimizar los compuestos adjuntos extraídos y limitar la degradación o alteración del estado natural del extracto.
Cuevas Montilla <i>et al.</i>	2011	Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn ( <i>Zea mays L.</i> ) cultivars	Determinaron un rango del contenido fenólico entre 311.0 y 817.6 mg equivalentes ácido gálico (EAG)/100 g peso seco. Y un total de antocianinas monoméricas entre 1.9 y 71.7 mg equivalentes a cianidina-3-glucósido /100 g peso seco y la presencia de la cianidina-3-glucósido como antocianina mayoritaria además de mono glucósidos de cianidina, peonidina y pelargonidina presentes en menor proporción.
Medina R.	2012	Extracción del colorante antocianina a partir del maíz morado y su aplicación en la industria alimentaria.	Determinaron las condiciones óptimas para la extracción de antocianinas de la coronta fueron: tamaño de partícula 2 mm, solvente de maceración agua con 0,1 % de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (pH=2), relación materia prima/solvente de maceración 1/12, 12 horas de maceración a 20 °C y extracción en tres etapas a 80 °C por 30 minutos cada una de ellas.
Quiñones y Barrera	2015	Composición de antocianinas monoméricas de cinco fenotipos de maíz coloreado ( <i>Zea mays L.</i> ) de la región central	Se caracterizaron los extractos metanólicos obtenidos de sus granos, evaluando el contenido de antocianinas totales y la capacidad captadora de radicales DPPH, cuyos valores estuvieron entre 21-168 mg

		colombiana	eq cianidina 3-glucósido/kg grano seco y 195- 412 _M Trolox/g grano seco, respectivamente.
Flores-Aguilar, E., & Flores-Rivera, E. del P.	2018	Estabilidad de Antocianinas, Fenoles totales y Capacidad Antioxidante de Bebidas de Maíz Morado ( <i>Zea mays L.</i> ) y Uña de Gato ( <i>Uncaria tomentosa sp.</i> ).	Elaboraron cuatro tipos de bebidas funcionales empleando Stevia y sacarosa como edulcorantes a partir de combinaciones de extractos de tusa de maíz morado. Se determinaron sus características antioxidantes y estabilidad durante 86 días a 4 y 18 °C protegidas de la luz.

Fuente. Esta investigación.

### 3.2. APLICACION DE LAS ANTOCIANINAS DE MAIZ MORADO

A continuación, se describen las investigaciones más relevantes con relación a la aplicación biológica de las antocianinas como antioxidantes.

En 2001 Hagiwara *et al*<sup>22</sup> estudió el potencial de color del maíz morado (PCC), con una antocianina natural, en la carcinogénesis colorrectal de ratas macho inicialmente tratados con 1,2-dimetilhidrazina (DMH). Encontraron que, bajo estas condiciones experimentales, el 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) promueve el DMH induciendo la carcinogénesis colorrectal, que puede ser reducido al adicionar 5.0% de PCC a la dieta de los roedores.

Posteriormente Bolívar A. *et al.* (2004)<sup>23</sup>, estudiaron y compararon la estabilidad de extractos acuosos a base de antocianinas de maíz morado andino y patata dulce roja con colorantes naturales y sintéticos. La antocianina mayoritaria identificada en la patata roja fue la cianidina acilada y derivados de peonidina glucósido, mientras que el maíz morado presenta cianidina-3-glucósido en mayor proporción y con pequeñas contribuciones de pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido y sus respectivos derivados de malonil. Concluyeron que los extractos de patata roja presentan mayor resistencia a los factores de luz, temperatura y pH que los extractos de maíz morado, adicional a esto los extractos de patata roja mantienen el color rojo-violeta por un periodo de tiempo más largo, mostrando así una comprable estabilidad con el colorante comercial de zanahoria morada.

<sup>22</sup>HAGIWARA A., *et al.* 2001. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5b] pyridine (PhIP)-associated colorrectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Letters*, 2001, vol. 171 (1), p.17–25.

<sup>23</sup> BOLIVAR A. Cevallos Casals L. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. En: *food chemistry*, 2004, p.69-77.

Salinas-Moreno, Rubio Hernández, & Díaz Velázquez, (2005) determinaron el uso potencial de las antocianinas extraídas de granos de maíz, como colorantes en yogur. Usando cuatro variedades nativas de maíz (Arrocillo, peruano, Purepecha y Cónico), los cuales poseen altas concentraciones de antocianinas en el pericarpio y en la capa de aleurona. Las antocianinas extraídas de la FPCA se añadieron a un yogur natural comercial, en concentración de 1 mg/100 g de yogur. Las muestras coloreadas de yogur se almacenaron bajo condiciones de refrigeración ( $4^{\circ} \text{C} \pm 1$ ) durante 25 días, midiéndose color y pH cada 5 días. El más alto contenido de antocianinas se obtuvo en la FPCA del maíz peruano con un valor de 259.4 mg/100 g de muestra. La tonalidad rojiza más intensa en el yogurt se dio con los extractos de los maíces peruano y Arrocillo que los obtenidos con los de Cónico y Purepecha. El color se mantuvo sin cambios durante los primeros cuatro días, pero entre los días 5 y 10 de almacenamiento, cambió a una tonalidad amarillenta. Sin embargo, estos cambios no fueron visualmente evidentes, por lo que es posible el uso de los pigmentos del grano de maíz para teñir alimentos de acidez intermedia como el yogur<sup>24</sup>.

### **3.3. MARCO CONTEXTUAL**

#### **3.3.1. FAMILIA POACEAE**

El maíz morado (*Zea mays L.*) pertenece a la familia Poaceae que comprende entre 10.000 y 11.924 especies y entre 651 y 800 géneros<sup>25</sup>. Son una de las familias de plantas vasculares más importantes, tanto por el número de especies que contiene como por su importancia económica y ecológica<sup>26</sup>. Representan uno de los grupos biológicos más ampliamente adaptados a diferentes ambientes. Se distribuyen en comunidades desde la tundra ártica, los bosques templados y cálido-húmedos, las zonas áridas y semi-áridas, hasta los hábitats acuáticos y marinos<sup>27</sup>. En el mundo, esta familia ocupa el tercer lugar en cuanto al número de géneros después de las Asteráceas y las Orchidáceas, el quinto lugar en cuanto al número de especies después de las Asteráceas, las Orchidáceas, las Fabáceas y las Rubiáceas, y el primer lugar desde el punto de vista económico, pues de algunas de sus especies derivan los cereales, la mayor parte del azúcar mundial,

---

<sup>24</sup> Salinas-Moreno, Y., Rubio Hernández, D., & Díaz Velázquez, A. (2005). Extracción y uso de pigmentos del grano de maíz (*Zea mays L.*) como colorantes en yogur" (Vol. 55).

<sup>25</sup> CLAYTON W. D. & S. A. Renvoize. Genera Graminum: Grasses of the World. Kew Bull., Royal Botanic Gardens, Kew, 3era. Edición, 1999, Additional series 13, p.1-389.

<sup>26</sup> Giraldo-Cañas, D. 2013. Las gramíneas en Colombia: riqueza, distribución, endemismo, invasión, migración, usos y taxonomías populares. Biblioteca José Jerónimo Triana, número 26. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C.

<sup>27</sup> VALDÉS REYNA Jesús, Dávila A., Patricia D., Clasificación de los géneros de gramíneas (Poaceae) mexicanas. En: Acta Botánica Mexicana, 1995, vol.33, p. 37-50.

el forraje de herbívoros domésticos y salvajes, celulosa para papel, los bambúes y las cañas para la construcción, entre otros<sup>28</sup>. Se estima que constituyen del 20 al 45% de la cubierta vegetal de la Tierra. Muy pocas formaciones ecológicas carecen de gramíneas y muchas, como las estepas, las sabanas y las praderas, están dominadas por ellas. Su difusión es uno de los típicos casos de adaptación recíproca, en primer lugar, por los animales herbívoros, y, en segundo lugar, por el hombre<sup>29</sup>.

### 3.3.2. IMPORTANCIA

Las gramíneas son la fuente más grande de bienestar en el mundo, ya que no sólo suministran el pan base de la alimentación de casi todos los pueblos, sino que además los principales constituyentes de praderas y sabanas que sirven de alimento para los ganados, así como a buena parte de la fauna silvestre. Por lo tanto, la carne, la leche, los derivados lácteos, el cuero y la lana son productos generales de las gramíneas.

En cuanto a la importancia ecológica, se puede destacar que las gramíneas impiden la erosión y son uno de los primeros grupos de plantas en los procesos de sucesión temprana según Chase y Luces de Febres (1972)<sup>30</sup>. Así, las gramíneas son fijadoras de los suelos, ya que poseen raíces, estolones y rizomas formando una red debajo de la superficie y, además, no sólo los fijan, sino que algunas de ellas constituyen el primer elemento en su formación. Del mismo modo, las gramíneas se pueden usar para la restauración de suelos agotados.

Sin embargo, no sucede lo mismo con el maíz morado en Colombia, dado que este tipo de mazorca coloreada no es considerado importante dentro de la producción<sup>31</sup>, llegando incluso a desaparecer completamente en la mayoría de los departamentos colombianos.

---

<sup>28</sup>GIRALDO D. Las gramíneas en Colombia: riqueza, distribución, endemismo, invasión, migración, usos y taxonomías populares. Biblioteca José Jerónimo Triana. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C. 2013, vol. 26, p. 1-386.

<sup>29</sup> GIRALDO D., Op. Cit., p. 17.

<sup>30</sup> CHASE A. y Z. Luces de Febres. Primer libro de las gramíneas. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, Lima, 1972.

<sup>31</sup> YANG Z., Fan G., Gu Z., Han Y., & Chen, Z. Optimization extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays L.*) cob using tristimulus colorimetry. En: European Food Research and Technology, 2007, vol. 227(2), p. 409-415.

### **3.3.3. MAIZ (*Zea mays L.*): Origen, botánica y estructura.**

#### **3.3.3.1. ORIGEN DEL MAIZ**

La evidencia arqueológica más antigua sobre la existencia del maíz (*Zea mays L.*) y su origen en el continente americano indica que tiene aproximadamente 5000 años de antigüedad. Representaciones de la planta o sus partes en esculturas, códices, cerámicas y en estudios de fósiles encontrados, indican que el maíz tuvo su origen geográfico en México, especialmente en el valle de Tehuacán, Puebla y el norte del estado de Oaxaca, es ahí donde inició su domesticación y posterior dispersión a otras regiones del continente, hacia el norte hasta Canadá y el sur hasta Argentina. A finales del siglo XV, tras la llegada al continente americano por Cristóbal Colón, el grano fue introducido en Europa a través de España<sup>32</sup>.

Por lo tanto, México es considerado como el centro de origen, domesticación y dispersión del maíz (*Zea mays L.*) a la fecha se han descrito 59 variedades potencialmente diferentes<sup>33-34</sup>. Siendo reportadas unas 300 variedades en el continente americano, de las cuales, la variación en México representa 22.7 % de la diversidad del maíz en el continente. Sin embargo, el centro de origen ha sido objeto de numerosos trabajos, con base en los cuales se han sugerido varios sitios de origen que van desde Paraguay en Sur América hasta Guatemala y México en Mesoamérica<sup>35</sup>. Por otra parte, algunos autores atribuyen su centro de origen a las cumbres andinas del Perú, Bolivia y Ecuador <sup>36</sup>.

#### **3.3.3.2. ORIGEN DEL MAIZ EN COLOMBIA**

En Colombia se han realizado investigaciones que demuestran los periodos de su introducción a través de la costa Caribe, desde el año 200 antes de Cristo. El maíz permitió expandir las zonas de cultivos a las laderas de las montañas y los valles interandinos del Magdalena y el Cauca en el último milenio antes de Cristo.

---

<sup>32</sup> BENITEZ TT. Caracterización morfológica y térmica del almidón de maíz (*Zea mays L*) obtenido por diferentes métodos de aislamiento. Tesis Lic. Hidalgo. MX: UAEH 78 p. 2008

<sup>33</sup>ORTEGA P. La diversidad del maíz en México. En: Sin Maíz no Hay País. G Esteva, C Marielle (coords). Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas. México, D. F. 2003, p. 123-154.

<sup>34</sup> KATO Y., Mapes S., L M Mera O, J L Serratos H, R A Bye B. Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D. F. 2009, p. 116.

<sup>35</sup> SILVA C. Maíz genéticamente modificado. Universidad Federal de Viçosa, Brasil. PUBLICACIÓN DE AGRO-BIO. 2005, p. 60.

<sup>36</sup> OBANDO MILLER., Cristian David Gelpud Chaves., Emel Jhon Burbano. Características morfoagronómicas en variedades nativas de maíz (*Zea mays L*) en putumayo, Mocoa-Putumayo-Colombia. Instituto Tecnológico del Putumayo, 2012, p. 1-14.



Colombia es uno de los centros de mayor biodiversidad en el mundo que ha jugado un papel muy importante en la domesticación y distribución temprana del maíz, así como de otros cultivos.

Las características ambientales, sociales, tecnológicas y culturales presentes en las diferentes regiones geográficas del país, han generado condiciones para el desarrollo de muchas variedades e híbridos nativos de maíz, expresadas en múltiples características de las plantas, de las mazorcas y semillas en cuanto a tamaño, forma, color, características nutricionales y de adaptabilidad a diferentes condiciones climáticas, disponibilidad de agua, resistencia a insectos dañinos y enfermedades, entre otras. De esta manera, en Colombia se ha cultivado maíz en casi todos los ecosistemas donde ha existido agricultura, con mayor intensidad en las tierras bajas tropicales del Caribe y en las zonas templadas y frías de la región Andina.

Según los estudios más completos realizados en el país, en Colombia existen 23 variedades de maíz (2 primitivas, 9 introducidas y 12 híbridas, tanto remotas como recientes). En la tabla 2 se muestran las variedades de maíz desde las más antiguas hasta las más recientes encontradas en Colombia.

Existiendo una enorme variabilidad entre plantas pertenecientes a cada una de la variedad, razón por la que las comunidades campesinas, indígenas y afrocolombianas reconocen, conservan y cultivan una gran cantidad de variedades y ecotipos, además es común que una misma variedad tenga diferentes nombres en las diferentes zonas del país por lo que es difícil saber exactamente la cantidad de variedades diferentes que existen actualmente.

Por tanto, la variabilidad genética en el maíz se debe al proceso evolutivo, tanto de manera espontánea como bajo domesticación; influenciada por las características ambientales, del suelo, clima y manejo del cultivo<sup>37</sup>. Razón por la cual las variedades de maíz cultivadas en Colombia son producto de un continuo cruzamiento entre las variedades criollas y las variedades y/o híbridos mejorados<sup>38</sup>.

---

<sup>37</sup> CARABALLOSO V., *et al.*, Divergencia en poblaciones de maíz nativas de valles altos de México. *Agrociencia*, 2000 Vol. 34, núm. 002, p. 167-174.

<sup>38</sup> CARDONA C. *et al.*, Producción de etanol carburante: material lignocelulósico una nueva alternativa *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*, 2005, Vol. II, núm. 1, 5 p. 47- 55.4

Tabla 2. Variedades de maíz presentes en Colombia.

Tipo	variedad	Ubicación Geográfica
	1. Pollo	Boyacá y Cundinamarca
	2. Pira	Cundinamarca, Tolima, Huila, Nariño y Valle del Cauca.
<p><b>variedades probablemente introducidas</b></p> <p>Ninguna parece tener progenitores directos en Colombia, sin embargo, esto no ha sido demostrado. Algunas pudieron ser introducidas en épocas remotas y otras son de llegada más reciente.</p>	3. Pira Naranja	Nariño
	4. Clavo	Nariño, Tolima, Caldas, Norte de Santander y Chocó.
	5. Güirua	Magdalena
	6. Maíz Dulce	Nariño
	7. Maíz harinoso dentado	Se encontró en de Cundinamarca, Nariño y Tolima.
	8. Cariaco	Costa Atlántica y valles de los ríos Cauca y Magdalena.
	9. Andaquí	Meta y valle del alto Magdalena.
	10. Imbricado	Nariño.
	11. Sabanero	Cordillera oriental
<p><b>variedades híbridas colombianas</b></p> <p>Las hibridaciones se pudieron haber dado en tiempos prehistóricos o en épocas relativamente recientes.</p>	12. Cabuya	Cordillera oriental
	13. Montaña	Cordillera central (Antioquia y Nariño).
	14. Capiro	Cordillera central (Antioquia y Nariño).
	15. Amagaceño	Zonas frías de las tres cordilleras: Nariño, Cauca, Valle, Huila, Caldas, Antioquia, Cundinamarca, Boyacá, Chocó y Santander.
	16. Común	Común Valles de los ríos Magdalena y Cauca.
	17. Yucatán	Yucatán Valle del alto Magdalena (Cundinamarca y Tolima).
	18. Cacao	Cacao Santanderes, Cundinamarca y Boyacá.
	19. Costeño	Costeño Costa Atlántica. Atlántico y Magdalena.
	<b>20. Negrito</b>	<b>Crece en toda la llanura costeña del norte, en Córdoba, Sucre, Atlántico, Magdalena, la Guajira y ahora encontrado en Nariño.</b>
	21. Puya	Vertiente oriente del río Magdalena, y norte del país hasta la península de La Guajira.
	22. Puya grande	Norte de Santander y frontera con Venezuela.
	23. Chococeño	Costa Pacífica

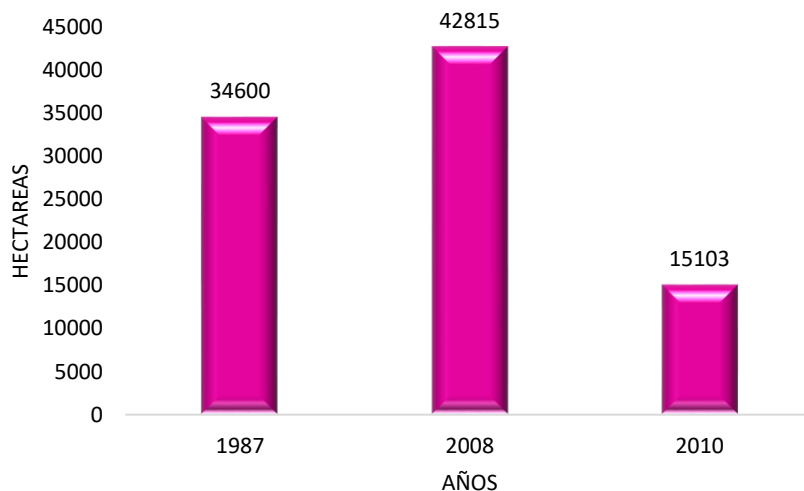
Modificado de CHIGUACHI D, GARCIA M. Diagnóstico de maíces criollos de Colombia; Región Andina: Cauca y Nariño.

### 3.3.3.3. CULTIVO DEL MAIZ EN NARIÑO

El Departamento de Nariño está ubicado en la región andina, a una altura que va de 1.800 a 2.800 msnm. Por lo cual presenta una amplia diversidad de semillas criollas y especies cultivadas de papa, frijol, maíz y tubérculos andinos. Sin embargo, en esta región existe una amplia variedad de maíces criollos, entre las cuales se tienen el pira, capio, amagaceño, dulce, imbricado y posiblemente pira naranja. Según la literatura en Nariño, las siembras de maíz nativo son muchas, aportando el 4.3% de la producción nacional con 21.065 toneladas cosechadas en maíz tradicional y 2.602 en maíz tecnificado, siendo 20 veces más el cultivo de maíz nativo que el cultivo de maíz tecnificado<sup>39</sup>.

Sin embargo, cabe destacar que las siembras de maíz tradicional en el departamento han disminuido a la mitad en las últimas décadas. Grafica 1.

Grafica 1. Cultivo de maíz en Nariño



Debido a que Nariño cuenta con una economía campesina e indígena predominante en zonas frías y de ladera, únicamente se establecen pequeñas parcelas de cultivo que reúnen alrededor de 18.146 hectáreas, favoreciendo la existencia de una gran diversidad de variedades, sin embargo, de las 34 variedades reportadas (tabla 3) el 41.93% se reportan como desaparecidas actualmente, es decir en el departamento de Nariño, se encuentran un tercio de las variedades señaladas como perdidas en el país. Situación realmente preocupante, principalmente debido al incremento de cultivos ilícitos, ganadería

<sup>39</sup> CHIGUACHI D., García M. Diagnóstico de maíces criollos de Colombia; Región Andina: Cauca y Nariño, en: Semillas de identidad, 2013, p. 1-30.

extensiva e introducción de agricultura moderna entre otros factores que han deteriorado la producción de maíz en la región<sup>40</sup>.

Tabla 3. Diversidad de maíces en Colombia.

VARIEDADES ENCONTRADAS			VARIEDADES REPORTADAS POR FUENTES SECUNDARIAS	
Amarillo blancuzco	Pintado	Puntilla	Capia roja	Candelo
Caleño	Tabla	Villano	Granizo	Gualmizar blanco
Capia blanca	Capia de leche	Amarillo de la tuza roja	Diente de caballo blanco	Maíz grandote
Capia roja misado	Caturra	Capia amarilla con negro	Capia brillante	Maicena blanca
Chulpe 2	Clavo amarillo	Capia dentón	Capio pálido	Maicena amarilla
Cresemillas	Diente de caballo	Chulpe de año	Maíz de año amarillo	Diente de caballo rojo
Amarillo	Matituy	Clavo blanco	Capio pálido	Amarillo chiquito
Morado	Morocho	Gualmizar		
Morocho blanco	Nativo coruntilla	Misado		
Morocho amarillo	Opaco	Tabla amarilla		

Tomado de: CHIGUACHI D, GARCIA M. Diagnóstico de maíces criollos de Colombia; Región Andina: Cauca y Nariño.

### 3.4. VARIEDADES DE MAIZ REPORTADOS COMO PERDIDOS Y ESCASOS

En el departamento de Nariño, el maíz es considerado de vital importancia para las comunidades, por ser una fuente de alimentación sana y segura tanto para la familia como para los animales, además de ser usado para la cura de algunas enfermedades como los problemas renales, entre otros. Por lo tanto, el maíz, se constituye como una planta sagrada, ligada totalmente a las tradiciones culturales del ser campesino e indígena de los andes, por ser un alimento generoso y nutritivo<sup>41</sup>.

Pese a esto, en Nariño se reportan como perdidas en algunas zonas, 13 variedades de maíz entre los que se encuentran: canguil, capia dentón o funeño, capia roja misado, chulpe de año, chulpe, clavo amarillo, diente de caballo, gualmizar, misado, **morado**, opaco, puntilla y villano. Específicamente en la ciudad de Pasto la variedad de maíz morado se reporta como perdida. (tabla 4) Al tiempo que se reportan como escasas a lo sumo en dos municipios las variedades: maíz capia blanco y maíz tabla blanco y diez variedades se reportan como escasas: tabla amarilla, nativo coruntilla, morocho blanco, morocho amarillo,

<sup>40</sup> CHIGUACHI D., Op. Cit., p. 22

<sup>41</sup> VELEZ GERMAN., Wiederkehr Hans., Álvarez A., Flórez M., Salgar L. Conservación y uso sostenible de la biodiversidad Derechos colectivos sobre Biodiversidad y soberanía alimentaria. En: Revista semillas, 2004, vol. 22/23, p.15.

morocho, cresemillas, clavo, capia amarilla con negro, caleño, amarillo de la tuza roja, amarillo chiquito<sup>42</sup>.

Tabla 4. Abundancia de maíces en Nariño.

	Varietades	Municipio	m.s.n.m.	Abundancia A: abundante E: escasa P: perdida	Color del grano
1	Amarillo blancuzco	yacuanquer	2700	A	Granos blancos y amarillos
2	Amarillo chiquito	yacuanquer	2700	E	Amarillo
3	Amarillo de tuza roja	yacuanquer	2700	E	Amarillo
4	Caleño	Consaca	1800-2200	E	Amarillo
5	Canguil	Pasto	2710	P	Amarillo rosado
6	Capia amarillo con negro	yacuanquer	2700	E	Amarillos y negros
7	Capia blanco	Pasto-yacuanquer	2700	E/A	Blanco
8	Capia de leche	yacuanquer	2700	A	Blanco
9	Capia dientón (funenio)	yacuanquer	2700	P	Blanco
10	Capia rojo misado	yacuanquer	2700	P	Diferentes colores
11	Caturra	San Lorenzo	1650	E	Blanco
12	Chulpe 1	Pasto	2710	P	Amarillo
13	Chulpe 2	Consaca	1800-2200	P	Amarillo
14	Clavo amarillo	Consaca	1800-2200	P	Amarillo
15	Clavo blanco	San Lorenzo	1650	A	Blanco
16	Cresemillas	San Lorenzo	1650	A	Amarillo clarito
17	Diente de caballo	yacuanquer	2700	P	Blanco
18	Gualmizar amarillo	Pasto	2710	P	Amarillo
19	Matituy	San Lorenzo	1650	E	Amarillo
20	Misado	yacuanquer	2700	P	Varios colores
21	<b>Morado</b>	<b>Pasto</b>	<b>2710</b>	<b>P</b>	<b>Morado</b>
22	Morocho	Pasto	2710	E	Granos blancos y amarillos
23	Morocho amarillo	Pasto-yacuanquer	2710	E	Amarillo
24	Morocho blanco	Pasto-Yacuanquer	2710	E	Blanco
25	Nativo coruntilla	San Lorenzo	1650	E	Blanco
26	Opaco	Consaca	1800-2200	P	Blanco
27	Pintado	San Lorenzo	1650	A	Mezcla: blanco, amarillo y morado
28	Puntilla	Consaca	1800-2200	P	Blanco y amarillo
29	Tabla amarilla	Consaca	1800-2200	E	Amarillo
30	Tabla Blanco	Consaca	1800-2200	E/A	Blanco pálido
31	Villano	Pasto	2710	P	Amarillo

Modificado de CHIGUACHI D., García M. Diagnóstico de maíces criollos de Colombia; Región Andina: Cauca y Nariño.

### 3.5. MAIZ MORADO (*Zea mays L.*)

El maíz morado es una variedad pigmentada de *Zea mays L.* cultivada en la región andina, principalmente en Perú, donde se consume como una bebida típica llamada “chicha morada”, la cual se cree aporta beneficios a la salud<sup>43</sup>.

<sup>42</sup> CHIGUACHI D., Op. Cit., p. 25.

Los especímenes típicos del maíz morado se encuentran desde los 1200 a 2580 m.s.n.m, tienen granos redondos con pericarpio rojo o morado, estrechamente agrupados para dar la apariencia de “racimo de uvas”. La coloración morada que presentan las plantas, corontas y pericarpio de los granos de maíz morado nativo, son el resultado del complejo trabajo realizado por muchos genes ubicados en diferentes cromosomas, lo que da como resultado la formación de pigmentos antociánicos de diferente color, los mismos que al combinarse forman el color morado combinación de pigmentos rojos y azules<sup>44</sup>. Las mazorcas son de tamaño medio, de formas cónicas a ovales con ocho o catorce hileras en espiral. Posee color rojizo a púrpura en toda la coronta (tusa), incluidas las lemas, las glumas y la medula<sup>45</sup> figura 1.

Figura 1. Maíz morado (*Zea mays* L.).



Fuente. Esta investigación.

A continuación, se indican los datos de la clasificación taxonómica del maíz.

---

<sup>43</sup> ROMINA Pedreschi, L. C.-Z., Op. Cit., p. 956..

<sup>44</sup> MANRIQUE A. “Maíz morado peruano” Instituto Nacional de Investigación Agraria (Serie Folleto R.I N<sup>o</sup> 04-00), Lima, Perú, 2000, p. 5, 6.

<sup>45</sup> YÁNEZ C., Zambrano, J., Caicedo, M., Sánchez, V. y Heredia, J., Op. Cit., p. 145.

Tabla 5. Clasificación taxonómica del maíz.

Reino:	Vegetal
División:	Angiosperma
Clase:	Monocotyledoneae
Orden:	Cereales
Familia:	Poaceae
Género:	Zea
Especie:	Mays
Nombre científico:	<i>Zea mays L.</i>

### 3.5.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MAÍZ MORADO

En la tabla 6 se describe la composición química de los granos y corontas del maíz morado<sup>46</sup>.

Tabla 6. Composición química de granos y corontas de maíz morado en base seca.

<b>Componentes</b>	<b>Granos (%)</b>	<b>Corontas (%)</b>
Carbohidratos	71,30	54,68
Proteína	8,41	1,48
Grasa	6,65	0,99
Fibra	3,35	40,71
Otros	1,55	2,14

---

<sup>46</sup> ALMEIDA J. Extracción y caracterización del colorante natural del maíz negro (*Zea mays L.*) y determinación de su actividad antioxidante, tesis de pregrado, Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador, 2012.

## 4. MARCO TEORICO

### 4.1. COLORANTES: CARACTERISTICAS, USOS Y EFECTOS.

La combinación de las características físicas y químicas son las responsables del color. A su vez la percepción de este es un proceso complejo que involucra tales fenómenos como transmisión, refracción, absorción y dispersión, entre otros. Las primeras etapas en la percepción del color son físicas, pero las últimas etapas involucran señales químicas que se transforman en respuestas neuronales que son interpretadas por el cerebro como color. Lo anterior quiere decir que el color es un efecto óptico en el que intervienen procesos fisiológicos, físicos y químicos; es una característica propia de cada objeto que, al cambiar la fuente de luz, modifica igualmente el color del objeto <sup>47</sup> <sup>48</sup>. Así, la estimación del color es una tarea compleja, generalmente subjetiva. No obstante, la medición del color es de gran importancia económica y los esfuerzos para lograr las medidas objetivas han involucrado a numerosos grupos de investigación. Actualmente, el enfoque triestímulo de la evaluación del color es el más exitoso, y los equipos modernos han sido diseñados con base en esta teoría.<sup>49</sup>

El color es quizás el primer atributo cuando se determina la apariencia y calidad de un producto, y condiciona la aceptación de este. Así una apariencia natural será evaluada positivamente mientras que un color extraño suele ser interpretado en términos de deterioro o manipulación impropia de frutas y verduras<sup>50</sup>. Como ya se ha indicado, un colorante es una sustancia utilizada como aditivo en un alimento para recuperar su color, perdido tras un procesado industrial, para acentuar el color original o para dotarle de un color más atractivo.

El uso de colorantes para la fabricación de alimentos es de vital importancia, razón por la cual se han sustituido los pigmentos inorgánicos por pigmentos sintéticos ampliamente aceptados en todo el mundo, debido a su gran estabilidad y precio. Sin embargo, el daño a la salud inducido por el uso de pigmentos inorgánicos como colorantes alimenticios, ha resultado en el uso actual de un número limitado

---

<sup>47</sup> CASTAÑEDA W. Color. Manizales: Universidad de Caldas, Artes y Humanidades. 2005.

<sup>48</sup> WU D. & Sun, D. Colour measurements by computer vision for food quality control – A review. Trends in Food Science & Technology, 2013, vol. 29(1), p. 5–20.

<sup>49</sup> DELGADO F., Paredes O. Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses. Boca Raton: CRC Press, 2002..

<sup>50</sup> MINGUEZ MARIA., Pérez Antonio y Hornero Damaso. Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales; mucho más que simples “colorantes naturales”. grupo de química y bioquímica de pigmentos. departamento de biotecnología de alimentos. instituto de la grasa (csic). Sevilla, 2005, vol.26, p. 108-113.



de ellos, por ejemplo, dióxido de titanio y negro de humo, que, si bien aún son altamente usados como colorantes alimenticios, su uso sigue siendo restringido.

#### **4.2. CLASES DE PIGMENTOS EN ORGANISMOS.**

Los pigmentos se distribuyen ampliamente entre los organismos vivos y en su mayoría están agrupados en seis tipos de estructuras: tetrapirroles, isoprenoides, quinonas, benzopiranos, compuestos N-heterocíclicos y metaloproteínas.

Científicamente se han descrito 34 tetrapirroles (28 cíclicos y 6 lineales), más de 600 carotenoides, más de 4100 flavonoides y dentro de este grupo más de 250 antocianinas, aunque constituidas solo por 17 antocianidinas.

Los compuestos fenólicos son comúnmente encontrados en alimentos de ingesta diaria tales como frutas, vegetales y granos<sup>51</sup>. Estos compuestos están formados por un extenso número de estructuras heterogéneas formando desde moléculas simples hasta compuestos altamente polimerizados<sup>52</sup>.

#### **4.3. CLASIFICACION DE LOS COLORANTES**

Los colorantes se pueden clasificar por su procedencia o fuente de origen en naturales o sintéticos, los compuestos químicos de origen natural responsables de los colores de las frutas y vegetales provienen principalmente de clorofilas, antocianinas, betalainas y carotenoides, y dan una coloración verde, de azul a violeta y de rojo a amarillo, respectivamente<sup>53</sup>. Y aquellos provenientes por síntesis química (sintéticos) incluyendo los idénticos a los naturales. Los podemos ver en la figura 2.

---

<sup>51</sup> ABDEL AAL., E. M., Hucl P., Rabalski I. Compositional and antioxidant properties of anthocyanin-rich products prepared from purple wheat. en Food Chemistry, (2018), vol.254, p.1-30.

<sup>52</sup> TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; FERRERES, F. y GIL, M. I., Antioxidant phenolic metabolites from fruits and vegetables and changes during postharvest storage and processing. En: RAHMAN, Atta-ur (Ed.). Studies in Natural products Chemistry: Bioactive natural products (Parte D).Amsterdam: Elseiver, 2000.p. 739-735

<sup>53</sup> MÍNGUEZ M., *et al.* OP.Cit., p.110.

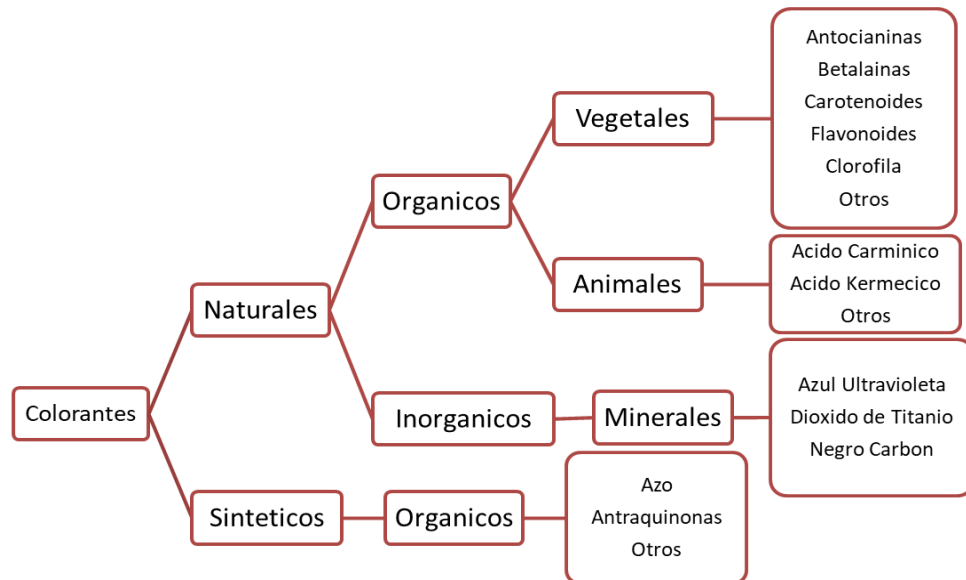


Figura 2. Clasificación de los colorantes.

#### 4.4. COLORANTES NATURALES

Los colorantes Naturales se encuentran en la naturaleza y se extraen por diferentes métodos de la materia de origen vegetal o animal<sup>54</sup>.

Entre los colorantes naturales se encuentran los derivados del tetrapirroles (clorofilas), los derivados de los isoprenoides (carotenoides), compuestos N-heterocíclicos (Betalainas), derivados del benzopirano (antocianinas), y quinonas (benzoquinonas)<sup>55</sup>.

En la actualidad se observa un creciente interés científico por analizar qué sustancias de nuestra alimentación pueden ser beneficiosas para la salud más allá de su propia capacidad nutritiva. Del concepto de “nutracéutico” yace la idea de que el alimento que lo contiene es “bueno para la salud”, aunque el directo responsable de ese efecto no sea el mismo alimento sino una sustancia determinada. Los alimentos nutracéuticos, consumidos como parte de una dieta

<sup>54</sup>CUBERO N., Monteferrer A. y Villalta J., 2002, “Aditivos alimentarios” Colección tecnología de alimentos, Ediciones Mundi-prensa, Madrid, España.

<sup>55</sup> DELGADO V, A. R. Jiménez & O. Paredes-López Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2000, Vol. 40:3, p. 173-289. 9

equilibrada y acompañados de un estilo de vida saludable ofrecen la posibilidad de mejorar la salud y prevenir ciertas enfermedades, diferenciándose de los medicamentos, ya que estos suelen ser productos de síntesis y no tienen en su mayoría un origen biológico natural. Por otra parte, nutraceuticos son los componentes de los alimentos o partes de este que aportan un beneficio añadido para la salud, en la prevención y el tratamiento de enfermedades.<sup>56- 57</sup>

A continuación, se observa los alimentos vegetales más comunes y su función medicinal:

Tabla 7. Algunos vegetales y su función Nutraceutica<sup>58</sup>.

Alimento vegetal	Color	Colorante	Uso medicinal
Pera, cebolla, brócoli, manzana	Blanco- verde	Flavonoides	Protección celular, disminución del colesterol-LDL
Ciruela, cereza, arándano.	Azul-rojo oscuro	Antocianinas	Aumento de flujo sanguíneo, disminución de la inflamación vascular, efecto antioxidante.
Tomate, sandía, papaya.	Rojo	Licopeno	Anticancerígeno, prevención de enfermedades cardiovasculares.
Zanahoria, mango.	Naranja	Betacaroteno	Para tratar el cáncer, colesterol, mejora el sistema inmune
Piña, melocotón, naranja.	Amarillo-Naranja	Carotenoides	Combate el estrés oxidativo, mejora el sistema inmune.

#### 4.5. COLORANTES SINTETICOS

Son pigmentos obtenidos por síntesis química, pueden ser de dos clases: síntesis de moléculas nuevas o síntesis de moléculas iguales a las que se encuentran en el medio natural<sup>59</sup>. En general los colorantes sintéticos son más resistentes que los colorantes naturales; sin embargo, presentan problemas en su uso: por ejemplo, se decoloran por la acción de ácido ascórbico, efecto importante en el caso de bebidas gaseosas. Los colorantes artificiales pueden usarse en forma soluble, como sales de sodio y potasio o bien absorbidos sobre hidróxido de aluminio formando lo que se conoce como laca.

<sup>56</sup> KALRA EK. Nutraceutical definition and introduction. AAPS PharmSci, 2003, vol. 5, E25-9, p. 27-28.

<sup>57</sup> BASDEVANT A, Cudennec CA, Lehner JP. Health foods: definitions, status, public health. Round table, 2000, vol. 55, p.60.

<sup>58</sup> Delgado-Vargas, A. R. Jiménez & O. Paredes-López. OP.Cit., p. 268.

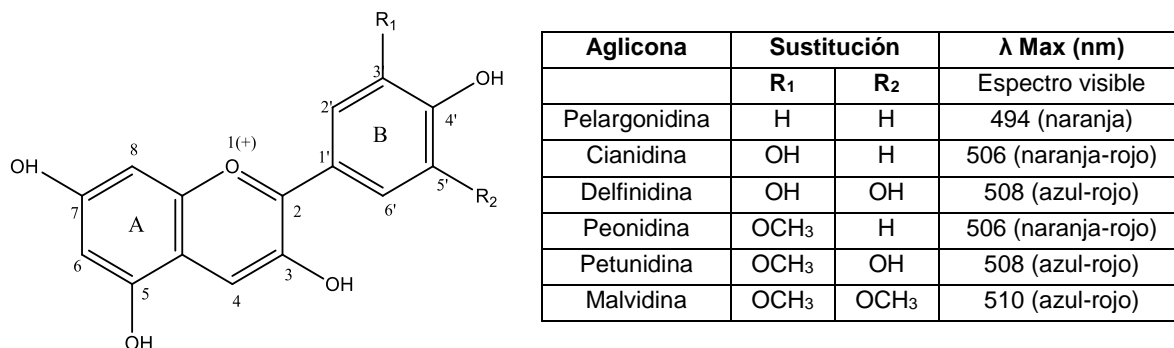
<sup>59</sup> CUBERO *et al.* Op. Cit.

#### 4.6. COLORANTE DEL MAIZ MORADO

El color del maíz morado se debe a la presencia de pigmentos antocianicos que 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. En la figura 3 se puede apreciar la estructura general de las antocianinas y sus variaciones<sup>60</sup>.

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula en el anillo B y del pH de las vacuolas en las que se almacenan. Algunos ejemplos son pelargonidina (rojo-naranja), cianidina (rojo púrpura) y delphinidina (azul púrpura). Una mayor hidroxilación produce desplazamientos a las tonalidades azules, mientras que un incremento en los grupos metilo produce coloraciones rojas. Las características estructurales de las antocianinas determinan su relativa estabilidad frente a cambios de pH, temperatura y exposición a la luz<sup>61</sup>.

Figura 3. Estructura básica y sustituyentes de las antocianinas.



Tomado de: GARZON 2008.

<sup>60</sup> MANRIQUE A., "Maíz morado peruano" Instituto Nacional de Investigación Agraria (Serie Folleto R.I N<sup>o</sup> 04-00), Lima, Perú, 2000, p. 5, 6.

<sup>61</sup> GARZÓN G. A. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. Acta Biológica Colombiana, 2008, Vol.13(3), p. 27-36.

#### 4.6.1. EL MAIZ MORADO COMO ALIMENTO FUNCIONAL

La acción de algunas antocianinas como la cianidina-3- $\beta$ -glucósido, pelargonidina-3- $\beta$ -glucósido, peonidina-3- $\beta$ -glucósido, ácidos fenólicos, quercetina y hesperidina, retardan el envejecimiento celular haciendo del maíz morado un excelente antioxidante natural. Estas propiedades del maíz morado han sido validadas por diversas investigaciones ya que contrarrestan los efectos nocivos de los radicales libres<sup>62</sup>. Es decir, para hacer frente al daño oxidativo, las defensas antioxidantes neutralizan los radicales libres y enzimas que catalizan las reacciones de radicalización de peróxido<sup>63</sup>.

Así mismo se ha demostrado, que el maíz morado al poseer un alto contenido de antocianinas tiene un efecto potenciador sobre la expresión de ARNm y la actividad del superóxido dismutasa (SOD), importante enzima antioxidante en los organismos vivos monogástricos. Por lo tanto, su consumo podría aumentar el sistema de defensa antioxidante en quien lo consume debido a la presencia de compuestos fenólicos<sup>64 65</sup>. Por tanto, el maíz morado ha sido objeto de estudios con la finalidad de determinar el contenido y tipo de antocianinas, su variación por efecto del ambiente, además de ensayos biomédicos para conocer su actividad biológica. En este contexto, por su contenido de flavonoides se considera al maíz morado una fuente de compuestos nutraceuticos<sup>66</sup>

#### 4.7. COMPUESTOS POLIFENOLICOS

Los polifenoles contribuyen con las características de color y sensoriales de las flores y frutos, son de gran importancia para los vegetales ya que actúan como agentes protectores de la luz UV, atrayentes para polinizadores y como antioxidantes<sup>67</sup>. Estos metabolitos secundarios constituyen uno de los grupos

---

<sup>62</sup> GUILLÉN JHOSELINE., Arismendi Sigry., Paucar Luz María. Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays L.*) var. Subnigroviolaceo, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Santa, Ancash-Perú. 2014, vol. 5, p. 211-217.

<sup>63</sup> JACOB R. The integrated antioxidant system. Nutr. Res. 1995, vol. 15, p. 755–766.

<sup>64</sup> KENJI H; *et al.* Effect of supplementation of purple pigment from anthocyanin rich corn (*Zea mays L.*) on blood antioxidant activity and oxidation resistance in sheep. En: Livestock Science, 2012, vol. 145, p. 266-270.

<sup>65</sup>HAN K; *et al.* Anthocyanin rich purple potato flake extract has antioxidant capacity and improves antioxidant potential in rats. En: Br. J. Nutr. Res. 2006, vol. 96, p. 1125–1133.

<sup>66</sup> Serna S. Foods from maize. In: C Wrigley and C Walker (Editors), Encyclopedia of Grain Science. Elsevier. 2004

<sup>67</sup> BALASUNDRAM N. *et al.* Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. En: Food Chemistry, 2006. vol. 99, p. 191–203.

mayoritarios en las plantas, derivados de la vía pentosa fosfato, shiquimato y fenilpropanoide<sup>68</sup>. Por otro lado, los compuestos fenólicos son aquellos compuestos orgánicos que presentan en su estructura un grupo -OH unido a un anillo aromático, y aquellos en los que se repite este radical son conocidos como polifenoles. Los compuestos de esta familia exhiben variados efectos beneficiosos para la salud: en prevención contra cáncer, propiedades antialérgicas, antiinflamatorias, antimicrobianas, antitumorales, vasorelajantes y principalmente las propiedades antioxidantes. Por tanto, los compuestos fenólicos del maíz morado intervienen como antioxidantes, reteniendo las EROs y frenando las enzimas fabricantes de radicales libres<sup>69</sup>.

La clasificación de los compuestos fenólicos se da en función del número de anillos fenólicos que contienen y a los elementos estructurales unidos a estos. Entre los principales subgrupos de polifenoles se encuentran: flavonoides, taninos (hidrolizables y condensados), ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos<sup>70</sup>. A continuación, se describe brevemente el primer subgrupo de interés en el presente estudio.

#### 4.7.1. FLAVONOIDES

Los flavonoides corresponden al grupo de los compuestos fenólicos más ampliamente distribuido en las plantas, dentro de los cuales existe un rango de sustancias coloreadas<sup>71</sup>. Básicamente consisten en dos anillos aromáticos, A y B, unidos por un puente de 3 carbonos, usualmente en la forma de un anillo heterocíclico. En base a su estado de oxidación y el grado de insaturación del anillo central heterocíclico (o la falta de ella en el caso de chalconas) de los flavonoides, se tiene entre los más significativos: las flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavanonoles, flavanoles, flavonoles, las antocianidinas y chalconas<sup>72</sup> (figura 4). Ugaz en 1997, demostró que este tipo de compuestos cuentan con la presencia de grupos aromáticos conjugados lo cual les otorga buena solubilidad en agua y etanol, así como también una intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro<sup>73</sup>.

---

<sup>68</sup> IGNAT I. *et al.* A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. En: Food Chemistry, 2011. vol. 126, p. 1821–1835.

<sup>69</sup> ATMANI D. *et al.* Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of Clematis flammula leaf extracts. J. Med. Plants Res. 2011, Vol.5:, p. 589-598.

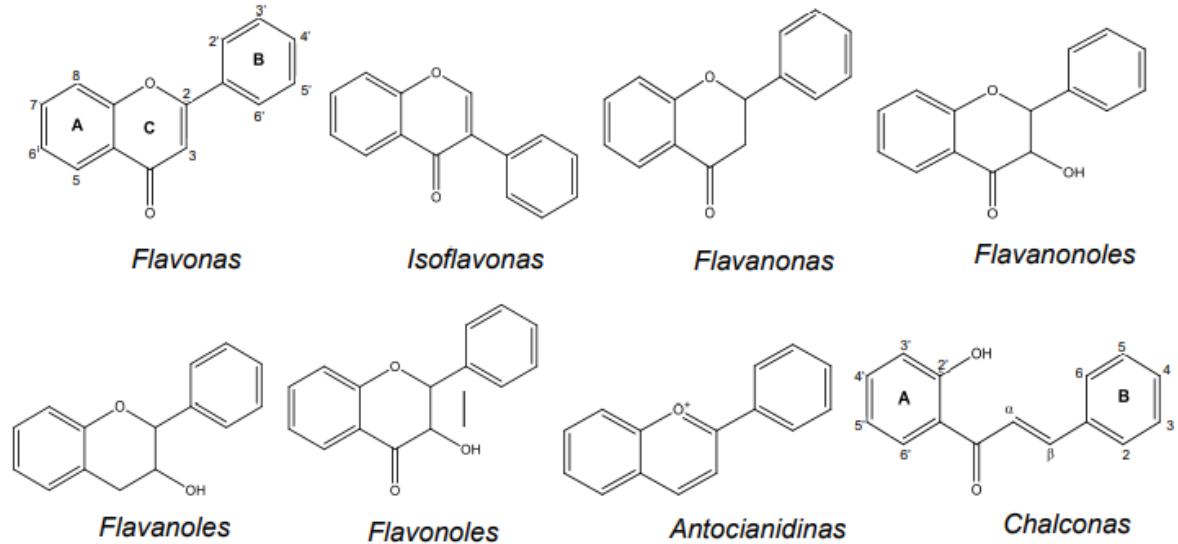
<sup>70</sup> IGNAT I. *et al.*, Op. Cit., p. 1822.

<sup>71</sup> TAIZ L., & Zeiger E. Fisiología vegetal (Vol. 10). Universitat Jaume I.2006.

<sup>72</sup> IGLESIAS J. Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de la pesca. Univ Santiago de Compostela. Tesis doctoral, 2009, p. 1-337.

<sup>73</sup> DE UGAZ, O. L. S. Colorantes naturales. Fondo Editorial PUCP, 1997, vol. 12, p. 1-274.

Figura 4. Estructuras de los principales flavonoides.



Tomado de: Basante Jessica. 2016.

Entre los flavonoides más sobresalientes se encuentran las antocianinas, que se describen a continuación:

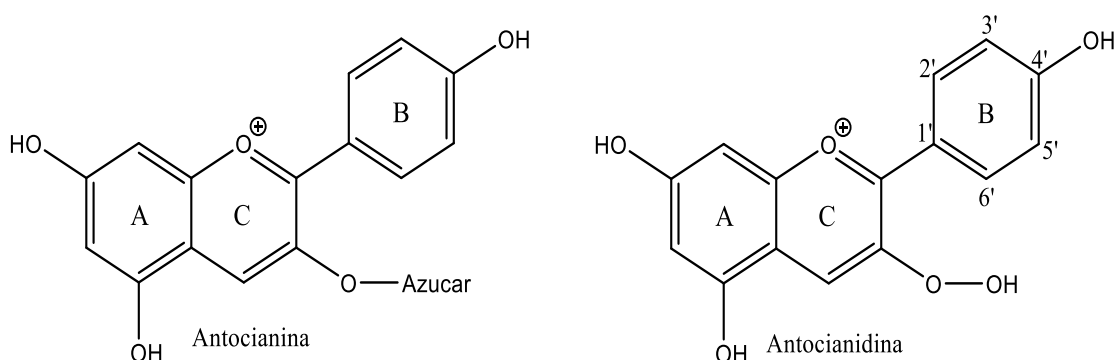
#### 4.7.2. ANTOCIANINAS

Las antocianinas son compuestos derivados del metabolismo secundario y pertenecen al grupo de fitoquímicos conocido como flavonoides. Una de sus propiedades ópticas es el color por lo que son pigmentos que se encuentran acumulados en las vacuolas de hojas, flores, frutos, semillas y otros órganos de la planta, son pigmentos vegetales hidrosolubles responsables del color azul, púrpura y rojo de muchas flores y frutos. Son de gran interés investigativo, por su impacto en las características sensoriales de los productos alimenticios, y por sus propiedades benéficas relacionadas con la salud. 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. Cuando las antocianinas carecen de azúcar se denominan antocianidinas (figura 5)<sup>74</sup>. Existen alrededor de 17 antocianidinas; mientras que sólo 6 de estas, como la cianidina, delphinidina, petunidina, peonidina, pelargonidina, y malvidina, están distribuidas de

<sup>74</sup> AVALOS G, Adolfo y PEREZ U, Elena. Metabolismo secundario de plantas. En. Reduca Serie Fisiología Vegetal. 2009. Vol. 2, no. 3, p. 119-145.

forma ubicua. Entre 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<sup>75</sup>, 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. De esta manera, la combinación entre moléculas origina más de 500 estructuras de antocianinas, de las cuales el 50% se basa en cianidina, 12% en pelargonidina, 12% en delphinidina, 7% en petunidina y 7% en malvidina<sup>76</sup>.

Figura 5. Estructura química de las antocianinas y antocianidinas.



Así mismo las antocianinas se caracterizan por tener una deficiencia de electrones debido a su particular estructura química, que las hace muy reactivas frente a los radicales libres presentes en el organismo. Esta característica hace que las antocianinas sean consideradas como potentes antioxidantes naturales<sup>77</sup>. Además, estos compuestos fenólicos pueden fácilmente donar hidrógenos o electrones a los radicales libres o atraparlos y desplazarlos en su estructura

<sup>75</sup> STINTZING FC, STINTZING AS, CARLE R, FREI B, WROLSTAD RE. Color and Antioxidant Properties of Cyanidin-based Anthocyanin Pigments. *J Agric Food Chem.* 2002, vol. 50:61, p. 72-81.

<sup>76</sup> DE PASCUAL T., M T Sánchez B. Anthocyanins: from plant to health *Phytochem.* 2008, Rev 7. P. 281-299.

<sup>77</sup> BRIDGERS, *et al.*, *Op. Cit.*, p. 617.



aromática<sup>78 79 80</sup>. También, se ha demostrado que frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y contra radicales peróxidos, (ROO•), superóxido (O<sub>2</sub>•), hidroxilo (-OH) y oxígeno singulete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)<sup>81</sup>.

Sin embargo, el interés sobre los pigmentos antociánicos ha incrementado no solo por su capacidad para capturar radicales libres sino también por su color ya que se podrían usar como colorantes naturales. Su intensa tonalidad que va desde el color rojo al color púrpura es una atractiva fuente como colorante de alimentos naturales para la industria alimenticia y textil, además de constituir una alternativa a los colorantes sintéticos <sup>82</sup>. Este tipo de pigmentos se pueden extraer de diferentes tejidos vegetales, no obstante, a nivel comercial, las antocianinas se obtienen principalmente de los subproductos industriales de la uva. En la actualidad existe la tendencia de utilizar los extractos antociánicos sin necesidad de realizar la separación de los distintos componentes, debido a que todos ellos presentan propiedades antioxidantes<sup>83</sup>. En relación con la extracción, el método usual de extracción es la extracción sólido-líquido, debido al carácter polar de la molécula de antocianina, que permite su solubilidad en varios solventes, tales como alcoholes, acetona y agua.

#### **4.7.3. RUTA DE BIOSÍNTESIS DE LAS ANTOCIANINAS EN MAIZ**

Se sabe que la biosíntesis de estos pigmentos se desarrolla en una ruta compleja, donde los dos sustratos iniciales son la malonil-CoA, derivada de la acetil CoA de la mitocondria, y la cumaril-CoA derivada del aminoácido fenilalanina. A partir de los dos sustratos se desencadena la serie de reacciones donde intervienen ocho enzimas: chalcona sintetasa, chalcona isomerasa, flavonoide hidroxilasas (tres enzimas), dihidroflavonol reductasa, antocianidina sintetasa y flavonoide glucosil

---

<sup>78</sup> MILLER N. J.; RICE-EVANS, C.A. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple juices and blackcurrant drink, en: Food Chemistry, 1997, Vol. 60(3): p. 331-337.

<sup>79</sup> WANG H.; CAO, G.; PRIOR, R.L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins, en: J. agric. Food Chem. 1997, Vol. 45(2): p. 304-309.

<sup>80</sup> RAMIREZ C; *et al.* Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E depleted rats, en: Free Radical Biology & Medicine, 2001, Vol. 31(9): p. 1033-1037.

<sup>81</sup> GARZÓN G. A. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. Acta Biológica Colombiana, 2008, Vol. 13(3): p. 27-36.

<sup>82</sup> BRIDGERS, *et al.*, Op. Cit., p. 617.

<sup>83</sup> VON ELBE J.H.; STEVEN J. Colorantes. En: FENNEMA, O.R. Química de los Alimentos. Zaragoza: Acibia SA, 2000, p. 773-854.

transferasa, que dan origen a tres antocianinas básicas: cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3- glucósido y delphinidina-3glucósido.<sup>84</sup>

Se ha establecido experimentalmente que al anillo A de las antocianinas se sintetiza por la ruta del ácido malónico con la condensación de tres moléculas de malonil-CoA, mientras que el anillo B se sintetiza por la ruta de ácido shikímico. El ácido shikímico da paso a la fenilalanina que por acción de una fenilalanina amonía liasa (PAL), y después de una pérdida de NH<sub>3</sub> se convierte en ácido p-coumárico. El p-coumaril-CoA luego participa en una reacción de condensación con las tres moléculas de malonil Coa para formar una chalcona de 15 C, reacción propiciada por una chalcona sintetasa. Este compuesto intermedio de 15 C es transformado en una flavanona en una reacción catalizada por una chalcona isomerasa. Finalmente, la flavanona es transformada en la correspondiente antocianidina por una reacción de hidroxilación en el carbono 3 seguida por una deshidratación. La molécula de antocianidina se estabiliza por glicosilación del heterociclo; reacción en la que interviene una glicosil transferasa y posterior posibles reacciones de metilación de los hidroxilos seguidas de acilaciones<sup>85</sup>.

En resumen, la ruta de biosíntesis de las antocianinas en las plantas se divide en cinco fases: 1) síntesis de chalconas, 2) síntesis de flavonoles, 3) síntesis de antocianinas, 4) modificación estructural de las antocianinas y 5) transporte de antocianinas hacia las vacuolas<sup>86</sup>. La ilustración general de la ruta de biosíntesis de las antocianinas se muestra en la Figura 6.

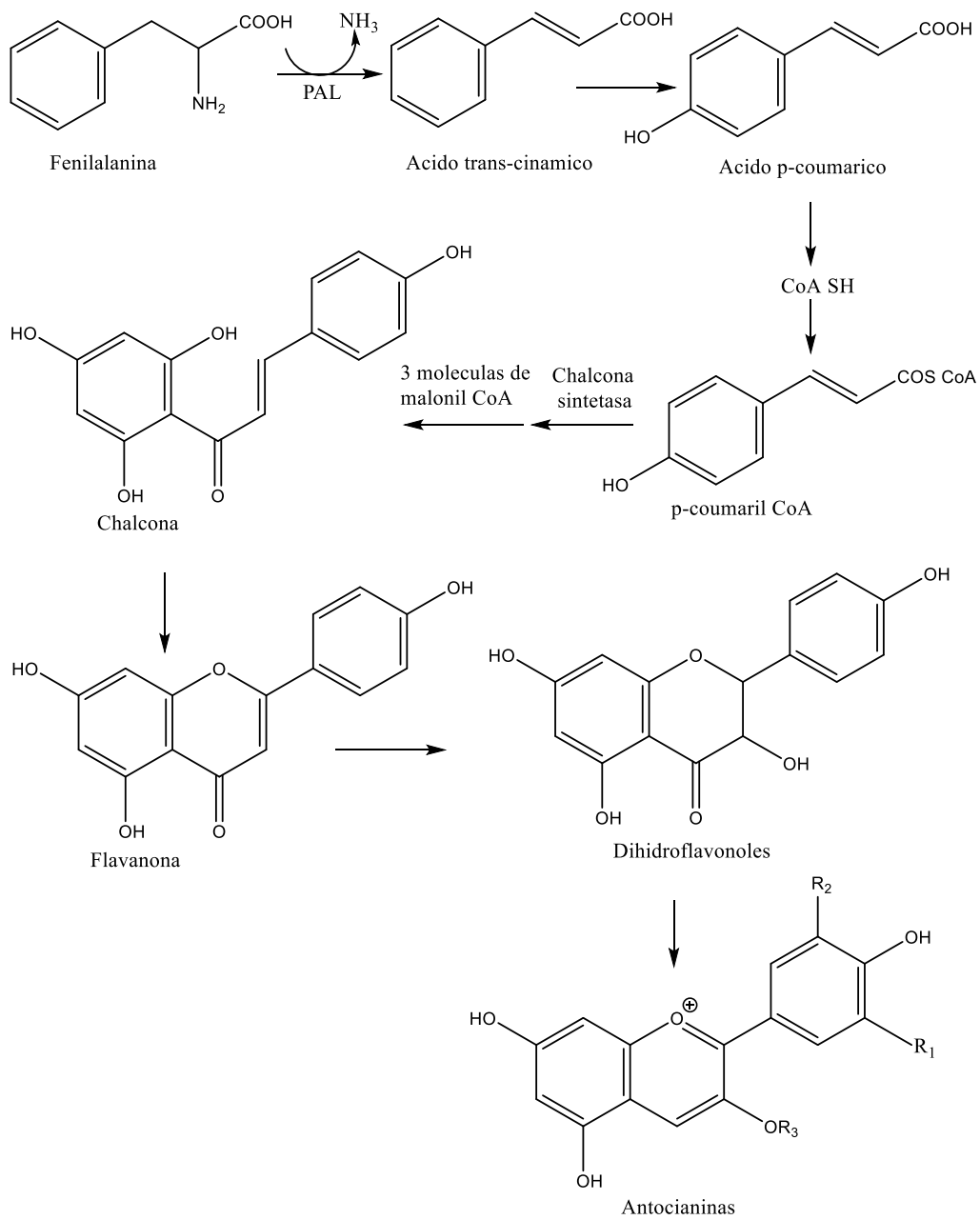
---

<sup>84</sup> IRANI N., Hernández J. and Grotewold E. Regulation of anthocyanin pigmentation. *Recent Advances in Phytochemistry*, 2003, vol. 37, p. 59-78.

<sup>85</sup> TRUJILLO E. *Bioquímica y Genética de las Antocianinas del Grano de Maíz*. 2012. INIFAP. MEXICO, 2012, Libro científico N°1, p. 1-77.

<sup>86</sup> TRUJILLO E. *Op. Cit.* p. 34.

Figura 6. Ruta de biosíntesis de las antocianinas monoglucosidas en el citoplasma de maíz pigmentado<sup>87</sup>.



<sup>87</sup> TRUJILLO E. Op. Cit. p. 35.

## 4.8. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

“El termino antioxidante hace referencia a cualquier sustancia que encontrándose a una concentración menor comparada con la de un sustrato oxidable, es capaz de prevenir o retrasar la oxidación de dicho sustrato. Los radicales libres son especies químicas con uno o más electrones desapareados, lo cual hace que estas especies químicas sean altamente inestables y reactivas”<sup>88</sup>.

El número y la posición de los grupos hidroxilos de los compuestos fenólicos determina la capacidad antioxidante o de captura de radicales libres, además de la cantidad de electrones donadores que contenga el anillo estructural y la capacidad del grupo aromático para resistir el desapareamiento electrónico<sup>89</sup>.

La concentración de muestra que causa una disminución en la concentración inicial de algún oxidante en un 50 % se denomina IC<sub>50</sub> (concentración inhibitoria media), el valor IC<sub>50</sub> es inversamente proporcional a la actividad antioxidante, es decir, valores mayores de IC<sub>50</sub> indican una menor capacidad antioxidante y viceversa<sup>90</sup>.

### 4.8.1. LOS ANTIOXIDANTES Y SU ACTIVIDAD

Los antioxidantes son compuestos naturales o artificiales que forman parte de los alimentos de consumo cotidiano y puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos<sup>91</sup>, es decir, limitan la posibilidad que otras moléculas se unan al oxígeno, ya que estos reaccionan más rápido con los radicales libres y las especies reactivas del oxígeno, que, con otras moléculas presentes en un determinado organismo, para evitar alteraciones de moléculas vitales. Son capaces de neutralizar los efectos perjudiciales de la oxidación de las células, retrasando los procesos de envejecimiento y la aparición de enfermedades. Según los estudios sobre la

---

<sup>88</sup>HALLIWELL B., & Whiteman, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British journal of pharmacology*, 2004, Vol.142(2), p. 231-255.

<sup>89</sup> KUSKOSKI E. M., Asuero A. G., García-Parilla., M. C., Troncoso, A. M., &Fett, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *FoodScience and Technology (Campinas)*, 2004, Vol.24(4), p. 691-693.

<sup>90</sup> HUANG D., “The Chemistry behind antioxidant capacity assays”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005 p.1841-1856.

<sup>91</sup> CORONADO MARTA., *et al.* Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana *Rev Chil Nutr.* 2015, Vol. 42, N°2, p. 206-212.

actividad de los antioxidantes, es necesario ingerir diferentes tipos de antioxidantes para conseguir este efecto en el organismo<sup>92</sup>.

Los antioxidantes son comúnmente usados para conservar alimentos, retardando el daño y la decoloración producido por la oxidación<sup>93</sup>. Existen dos tipos de antioxidantes para la neutralización de los radicales libres:

**Endógenos:** son enzimas con capacidad antioxidante que no se consumen al reaccionar con los radicales libres y son dependientes de sus cofactores tales como el cobre, el hierro, el zinc, el magnesio y el selenio<sup>94</sup>

**Exógenos:** provienen de la dieta y a diferencia de las enzimas se consumen al reaccionar con los radicales libres y deben ser reemplazados. Estos se dividen según la zona donde actúan. Los que ejercen su acción a nivel de la membrana lipídica son: la vitamina E, los carotenos, los polifenoles o flavonoides, el ubiquinol 10. Los que actúan en medio acuoso: el ácido ascórbico. Los relacionados con los metales pesados: ferritina, transferrina, ceruloplasmina<sup>95</sup>.

## **5. AISLAMIENTO Y ANALISIS DE LOS COMPUESTOS FENOLICOS DE FUENTES VEGETALES.**

La naturaleza química de los compuestos fenólicos de fuentes vegetales varía desde moléculas simples hasta polifenoles complejos como flavonoides, antocianinas y sustancias altamente polimerizadas que incluyen proporciones variables de ácidos fenólicos, antocianinas y taninos, entre otros. Por lo cual la extracción de los compuestos fenólicos de fuentes vegetales se ve considerablemente influenciado por algunos factores como: la naturaleza de la muestra, la estructura química de los polifenoles, el método de extracción, tamaño de partícula de la muestra, el solvente utilizado y la presencia de sustancias interferentes. Por lo tanto, para minimizar la pérdida de los compuestos de interés se debe tener especial cuidado en el tratamiento, transporte y conservación de estas. Puesto que, la composición polifenólica de fuentes vegetales puede variar

---

<sup>92</sup>VILAPLANA M. Beneficios cardiovasculares, antioxidantes y gastrointestinales de los frutos secos. *Offarm: Farmacia y Sociedad*, 2003, Vol.22(8), p. 74-80..

<sup>93</sup> CUBERO N., Monteferrer A. y Villalta J. "Aditivos alimentarios" Colección tecnología de alimentos, Ediciones Mundi-prensa, Madrid, España. 2002.

<sup>94</sup> Halliwell, B. y Whiteman, M. Op. Cit. p. 231.

<sup>95</sup> Venereo, J. Op. Cit. p. 128.

debido al calentamiento y la exposición a la luz solar y el oxígeno, por lo cual el secado a altas temperaturas se debe evitar completamente.<sup>96</sup>

## 5.1. EXTRACCION SOLIDO-LIQUIDO

Existen muchos métodos de extracción para diferentes tipos de muestras, sin embargo, la extracción solido-liquido es una de las técnicas que se emplea con mayor frecuencia para obtención de compuestos fenólicos de muestras vegetales. Se define como un fenómeno de transporte de materia en el que los sólidos contenidos en una matriz sólida migran hacia un disolvente puesto en contacto con la matriz, no obstante, la eficiencia de la extracción está determinada por las condiciones del proceso; factores como la temperatura, el tamaño de partícula y el tiempo de contacto afectan la concentración de los componentes deseados en el extracto, así mismo la polaridad del solvente usado juega un papel importante durante el proceso<sup>97</sup>.

Sin embargo, la obtención de los compuestos fenólicos siempre será incompleta, ya que cierta cantidad de analitos pueden quedarse en los residuos vegetales. Por esta razón, los compuestos fenólicos se dividen extraíbles, como son aquellos que se solubilizan en los disolventes acuoso-orgánicos y, *no extraíbles*, los que quedan retenidos en los residuos resultantes tras la extracción o que pueden quedar atrapados en la matriz vegetal inaccesibles a los disolventes<sup>98</sup>.

## 6. PURIFICACION DE LOS COMPUESTOS FENOLICOS

### 6.1. CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO IONICO

En la cromatografía de intercambio iónico la separación depende de la adsorción reversible de moléculas de soluto cargadas, a una resina con grupos iónicos de carga opuesta. El mecanismo de separación se basa en un equilibrio de intercambio iónico. Muchos de los experimentos de intercambio iónico se llevan a cabo en cinco etapas. La primera etapa es un equilibrio en el cual el intercambiador iónico se encuentra en las condiciones apropiadas de pH y fuerza iónica, lo que permitirá la unión de las moléculas de soluto.

---

<sup>96</sup> IGNAT I. *et al.*, Op. Cit., p. 1822.

<sup>97</sup> IGNAT I. *et al.*, Op. Cit., p. 1824.

<sup>98</sup> BASANTE J. Estudio de la composición y actividad antioxidante *in vitro* de la fracción polifenólica de subproductos de aguacate (*Persea americana* mil), semilla y epicarpio. Tesis de pregrado en Química. Colombia- San Juan de Pasto. Universidad de Nariño, 2016.

En una segunda etapa se encuentra la aplicación de la muestra y su adsorción, en la cual las moléculas del soluto llevan a cabo el apropiado desplazamiento de carga de los contra-iones y se unen reversiblemente al gel. Las sustancias que no se unen son eluidas de la cama del intercambiador usando el buffer inicial. En la tercera etapa, se lleva a cabo la desorción de la muestra cambiando las condiciones de elusión, al desfavorecer la formación del enlace iónico de las moléculas de la muestra y la cama del intercambiador. Esto normalmente se logra aumentando la fuerza iónica del buffer de elusión o cambiando su pH. En las cuarta y quinta etapas corresponden a la remoción de sustancia no eluidas bajo las condiciones experimentales previas y regresar al equilibrio de las condiciones iniciales para la siguiente purificación. La separación de diferentes sustancias se lleva a cabo porque éstas tienen diferentes grados interacción con el intercambiador iónico debido a diferencias en sus cargas, densidades de carga y distribuciones de carga en su superficie. Estas interacciones pueden ser controladas variando condiciones como la fuerza iónica y el pH. Las diferencias en propiedades de carga de compuestos biológicos son a menudo considerables, y la cromatografía de intercambio iónico es capaz de separar especies con propiedades poco diferentes.

En el presente estudio para la eliminación de sustancias interferentes presentes en los extractos vegetales se usó cromatografía de retención selectiva sobre una resina de amberlita XAD-7, la cual presenta una estructura polimérica de éster acrílico de polaridad moderada, como se muestra en la figura 7<sup>99</sup>.

## **6.2. CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN POR TAMAÑO (CET)**

En la cromatografía de exclusión puede separarse moléculas solvatadas de acuerdo con su tamaño y habilidad a penetrar en una estructura tamiz (la fase estacionaria), la separación en cromatografía de exclusión por tamaño se lleva a cabo por diferencias en tamaño molecular y la habilidad de diferentes moléculas para penetrar los poros de la fase estacionaria a diferentes tamaños o magnitudes.

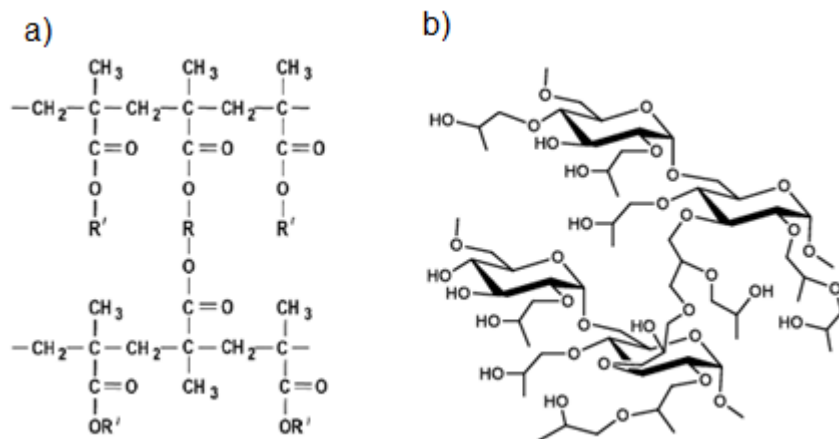
La cromatografía de exclusión por tamaño se usa extensivamente para las separaciones preparativas de macromoléculas de origen biológico, así como para la purificación de polímeros orgánicos sintéticos. En el presente estudio, se usó cromatografía de exclusión por tamaño molecular sobre una resina Sephadex LH-20 que por su estructura de dextrano entrecruzado e hidroxipropilado permite

---

<sup>99</sup> STEFOVA M., Stafilov T. y Kulevanova S. HPLC Analysis of Flavonoids. En: Encyclopedia of chromatography. Skopje, Republic of Macedonia. Sts. Cyril and Methodius University. 2003.

simplificar la composición fenólica de cada extracto vegetal, de acuerdo con su tamaño y polaridad. (figura 7).

Figura 7. Estructuras químicas de las resinas Amberlita XAD-7 (a) y Sephadex LH-20 (b).



Fuente: Adaptado de KUNIN R., 1991 y GE Healthcare Bio-Sciences AB.

### 6.3. ANALISIS POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC).

La cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) es una técnica con excelentes ventajas como alta sensibilidad, selectividad, precisión y conservación de las muestras<sup>100 101</sup>. Mediante esta técnica es posible separar muestras complejas proporcionando amplia información sobre las estructuras del polifenol, comparando el tiempo de retención de la muestra con el estándar. Por lo tanto, un compuesto polifenólico puede ser identificado tentativamente cuando un pico coincide con el tiempo de retención y el espectro UV-Vis de un estándar. Para lograr la separación de los diferentes polifenoles es necesario el uso de una fase estacionaria de cadenas alquílicas hidrófobas como C4, C8 y C18, y un sistema de

<sup>100</sup> NACZK M, Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J Pharmaceut Biomed Anal.* 2006, vol. 41, p. 1523–1542.

<sup>101</sup> ALMELA L, Sanchez-Munoz B, Fernandez-Lopez JA, Roca MJ, Rabe V. Liquid chromatographic–mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *J Chromatogr.* 2006, vol. 11, p. 221–229.



solvente binario que contiene agua acidificada usando ácido acético, ácido fosfórico o ácido sulfúrico y un disolvente menos polar como metanol o acetonitrilo<sup>102</sup>. Para mejorar ciertos parámetros como el tiempo de retención y la resolución, se añade una pequeña cantidad de ácido al sistema para suprimir la ionización de los polifenoles y grupos carboxílicos<sup>103</sup>.

El sistema de HPLC puede estar equipado con una amplia gama de detectores como de fluorescencia (FLD), índice de refracción (FID), arreglo de fotodiodos, UV-Vis (PAD) y espectrometría de masas (MS), utilizados para el estudio cualitativo y cuantitativo de los compuestos fenólicos. Sin embargo, la técnica de HPLC-MS es actualmente la mejor herramienta analítica para el estudio de los polifenoles de diferentes fuentes biológicas<sup>104 105</sup>.

#### **6.4. ANALISIS POR ESPECTROSCOPIA UV-VIS**

La estructura aromática conjugada que presentan los compuestos fenólicos absorbe en las regiones ultravioleta y/o visible del espectro electromagnético. El detector de arreglo de fotodiodos (PAD) mide simultáneamente una amplia gama de longitudes de onda (por ejemplo, 200 a 500 nm), que permite obtener los espectros UV-Vis de compuestos fenólicos. Las diferentes subclases de compuestos fenólicos muestran los espectros UV-Vis característicos que se pueden utilizar para su clasificación inicial.

Los espectros UV-Vis de los flavonoides, se componen de absorciones que surgen de los anillos aromáticos A y B y sus posibles conjugaciones con el anillo C. ya que todos los flavonoides tienen un máximo de absorción alrededor de 240 a 290 nm (Banda II), el cual se ve afectado principalmente por la conjugación del anillo A y su patrón de sustitución; adicionalmente, algunos flavonoides presentan otra absorbancia máxima a alrededor de 300 a 550 nm (banda I), que es detectada cuando los anillos B y C están conjugados. Este máximo de absorción está en torno a 460 a 560 nm para las antocianinas y entre 310 y 370 nm para flavonas y flavonoles, presentándose generalmente, a una longitud de onda más larga en

---

<sup>102</sup> CACACE JE, Mazza G. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *J Food Eng*, 2003, vol. 59, p. 379–389.

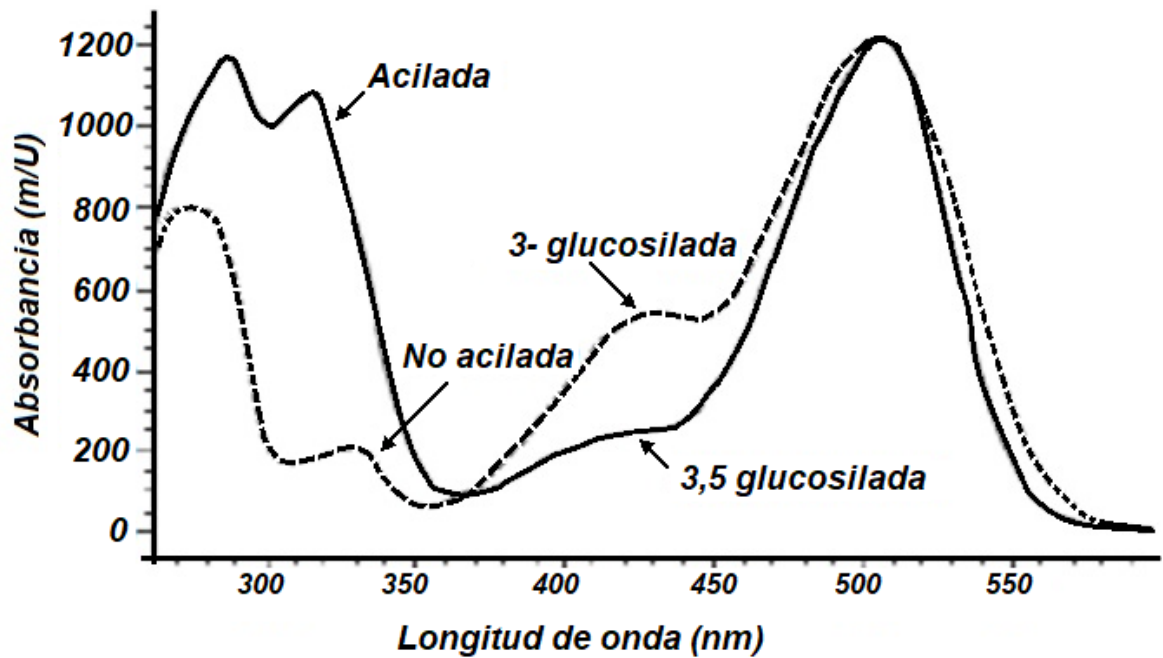
<sup>103</sup> VIHAKAS M. Flavonoids and other Phenolic Compounds: Characterization and Interactions with Lepidopteran and Sawfly Larvae. Tesis doctoral. Laboratorio de Química Orgánica y Química Biológica Universidad de Turku. Finlandia.. 2014. p. 14.

<sup>104</sup> HAMINIUK C., *et al.* Phenolic compounds in fruits – an overview. En: *International Journal of Food Science and Technology*, 2012. vol. 47, p. 2023–2044.

<sup>105</sup> HAMINIUK C., *et al.*, *Op. Cit.*, p. 2032.

flavonoles que en flavonas, lo cual puede ayudar a diferenciar entre estos dos tipos de flavonoides (figura 8). De manera general, las ubicaciones de las bandas de absorción I y II se ven afectadas por el número de grupos hidroxilo en los anillos A y B, así como por la glicosidación de los flavonoides<sup>106</sup>.

Figura 8. Espectros UV-Vis de las antocianinas aciladas y 3,5-glucosiladas (línea continua); no aciladas y 3-glucosiladas (línea discontinua)<sup>107</sup>.



<sup>106</sup> BASANTE JESSICA. Op. Cit., p. 114.

<sup>107</sup> HARBORNE J.B. The chromatographic identification of anthocyanin pigments. *J. Chromatogr.*, **1998**, 1, 473-488

## 7. MATERIALES Y METODOS

### 7.1. RECOLECCION DEL MATERIAL VEGETAL

Las mazorcas maduras de maíz morado *Zea mays L.* se recolectaron de un cultivo experimental realizado en el municipio de la Florida, Nariño, Colombia. La cosecha se realizó teniendo en cuenta las características visuales del fruto: como color (hojas y granos morados), forma (cónica y granos bien formados) y consistencia (carnosa), aptos para el consumo (figura 9). Los granos, hojas (brácteas) y las corontas se separaron manualmente.

Figura 9. Tratamiento de la muestra (534,04g granos, 157,74 g hojas y 115,15g corontas)



Fuente. Esta investigación.

### 7.2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO CRUDO

El fruto se seleccionó manualmente, teniendo en cuenta su tamaño, color y estado de maduración, al final se recolectaron 115.15 g de corontas, 157,74 g de hojas y 534,04 g de granos. Las mazorcas frescas y maduras se lavaron con agua tipo II y posteriormente se aisló manualmente los granos, hojas y corontas; luego por separado se maceraron por 24 horas en metanol-ácido acético (19:1, v/v), según la metodología descrita por Jordheim *et al*<sup>108</sup>. Se repitió el procedimiento cuatro veces, realizando así cuatro extracciones hasta lograr la máxima decoloración de cada muestra. Una vez obtenidos los extractos, fueron filtrados para su posterior concentración mediante el proceso de rotaevaporación a 36°C. Los extractos

---

<sup>108</sup> JORHEIM M. Isolation, Identification and properties of pyranoanthocyanins and anthocyanin forms. Tesis Post-Doctor. Bergen: University of Bergen. Department of Chemistry, 2007. P. 85.

obtenidos se centrifugaron por 30 min a 6000 rpm cada uno, con el fin de eliminar cualquier sólido suspendido en el extracto, de esta manera se obtuvieron los extractos crudos de hoja, grano y coronta denominados ECG, ECH y ECC respectivamente (Figura 10). Cada extracto se sometió a sequedad a 45°C para finalmente obtener los extractos en polvo.

Figura 10. Obtención de extractos crudos de granos, hojas y corontas de maíz morado.



Fuente. Esta investigación.

### 7.3. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS PURIFICADOS (EP)

Los extractos crudos secos se diluyeron en agua (1:1 w/w) tipo II por separado y fueron cargados sobre una columna cromatográfica de retención selectiva, con resina Amberlita XAD-7 de dimensiones 42,5 cm de altura (diámetro de columna de 3,75cm). Los pigmentos absorbidos se lavaron con 4 litros de agua destilada tipo II y se eluyeron con 600 mL de metanol-ácido acético (19:1 v/v); de acuerdo

con el procedimiento descrito por Degenhardt *et. al.* (2000)<sup>109</sup>. Los extractos obtenidos se concentraron al vacío a 40°C y posteriormente se sometieron a sequedad. El producto final fue un extracto purificado rico en antocianinas de coronta, hojas y granos denominados (EPMC, EPMH y EPMG) (Figura 11).

Figura 11. Obtención de extractos purificados (EP) mediante cromatografía de retención selectiva con Amberlita XAD-7.



Fuente. Esta investigación.

#### 7.4. SEPARACIÓN DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS Y POLIMÉRICAS

Con el fin de separar las antocianinas monoméricas y poliméricas de cada extracto purificado se utilizó como primera fase móvil: metanol al 30%, seguido de metanol al 60% y finalmente acetona al 60%<sup>110</sup> (MeOH30%, MeOH60% y ONA60%). Las muestras se disolvieron por separado en metanol al 30%, y a continuación, cada solución fue sometida a cromatografía de exclusión por tamaño utilizando una

<sup>109</sup> DEGENHARDT A.; Hofmann S.; Knapp H.; Winterhalter P. Preparative isolation of anthocyanins by high-speed countercurrent chromatography and application of the color activity concept to red wine. En: J. Agric. Food Chem. 2000, vol. 48, p. 5812-5818.

<sup>110</sup> BASANTE Jessica. Op. Cit. p. 116.



columna empacada con Sephadex LH-20 Sigma 28,5 cm de altura (diámetro de columna de 2.0 cm). En la cual la fracción de compuestos de bajo peso molecular (extracto rico en antocianinas monoméricas) se eluyó con una mezcla de metanol al 30%, y metanol al 60%, mientras que la fracción polimérica fue eluída con acetona al 60%. De esta manera se obtuvieron tres fracciones de hoja denominadas (FHM 30%, FHM 60% y FHA 60%), tres fracciones de grano (FGM 30%, FGM 60% y FGA 60%) y tres fracciones de coronta (FCM 30%, FCM 60% y FCA 60%) (figura 12), que fueron llevadas al rotaevaporador para su concentración y posterior sequedad. Las fracciones monoméricas se analizaron por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).

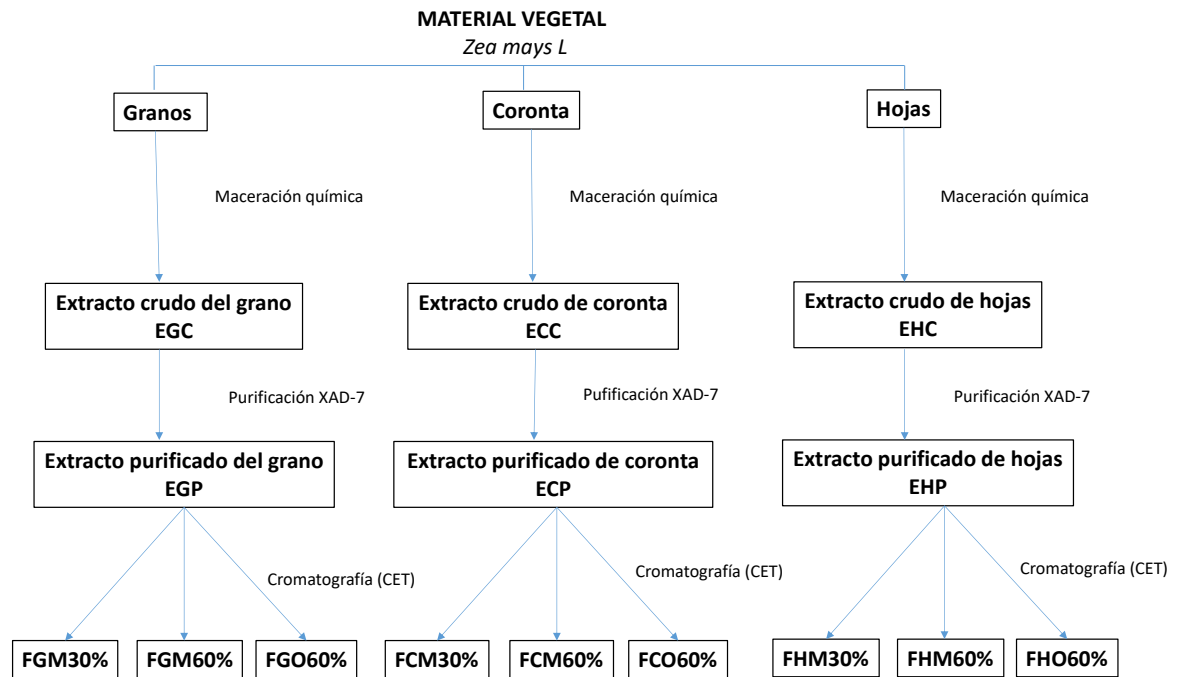
Figura 12. Obtención de las fracciones por cromatografía de exclusión por tamaño molecular con Sephadex LH-20.



Fuente. Esta investigación.

En la figura 13 se resume el procedimiento que se llevó a cabo desde la recolección del material vegetal hasta la obtención de las fracciones mediante Sephadex LH-20.

Figura 13. Esquema de fraccionamiento del material vegetal.



Fuente. Esta investigación.

## 7.5. ANÁLISIS POR CROMATOGRFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA HPLC-PAD y CROMATOGRFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA, MASAS, ELECTROSPRAY HPLC-ESI-MS

Para el análisis de los tres extractos purificados y las seis fracciones separadas por Sephadex, se usó un sistema HPLC (Waters 1525), acoplado a un detector de arreglo de fotodiodos (PDA 2898) de la Universidad de Nariño.

La separación se realizó usando una columna X-Terra C-18 (100 x 4.6 mm, 3,5 µm). El sistema de solventes para la fase móvil A fueron: Agua: Ácido acético (98:2) y para la fase móvil B: Agua: Acetonitrilo: Ácido acético (78: 20: 2), a una velocidad de flujo de 0,5 mL/min, con un perfil de gradiente de 0-80% B (15min), 80-100% B (30 min) y 100-0% B (5min), la muestra fue previamente filtrada en un filtro de acetato 0,45µm de celulosa, y con una temperatura de 30°C. El volumen

de inyección de cada muestra fue de 20  $\mu\text{L}$  y en un rango de longitud de onda de 210 a 600 nm.<sup>111</sup>

El análisis por Cromatografía líquida (HPLC-MS-ESI) se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad de Sevilla – España, en el equipo de UHPLC dionex ultimate 3000 RS acoplado a un espectrómetro de masas híbrido cuadrupolo-orbitrap QExative con fuente HESI modo positivo. El cromatógrafo estaba equipado con una columna Xbridge BEH C18 (100 x 2.1 mm, 2.5  $\mu\text{m}$ ), el sistema de solventes usados como fases móviles fueron; fase móvil A: agua: ácido trifluoroacético (95:5) y fase móvil B: acetonitrilo: ácido trifluoroacético (95:5), a una velocidad de flujo de 0,5 mL/min, con perfil de gradiente de 5% B (1 min), 5-100% B (10min), 100% B (2 min), 5% B (3min), a una temperatura de 40°C.

Las longitudes de onda ( $\lambda$ ) de análisis en HPLC-ESI-MS fueron 360 nm y 520 nm.

## **7.6. CUANTIFICACION DE ANTOCIANINAS**

### **7.6.1. ANTOCIANINAS MONOMERICAS**

Para la evaluación del contenido de antocianinas monoméricas en los extractos EC y EP se utilizó el método del pH diferencial descrito por Giusti y Wrolstad, 2003<sup>112</sup>, el cual es un método espectrofotométrico que se basa en la transformación estructural de las antocianinas con el cambio de pH (pH 1 coloreadas y pH 4.5 incoloras)<sup>113</sup> (figura 14). Se prepararon soluciones buffer pH 1.0 de cloruro de potasio 0,025 M y con pH 4.5 de acetato de sodio 0,4 M. Posteriormente, se tomó 300  $\mu\text{L}$  de cada extracto a analizar y se adicionó 600  $\mu\text{L}$  de solución buffer pH 1.0, seguidamente se midió la absorbancia de cada muestra a la longitud de onda de  $\lambda_{\text{max}} = 515$  y 715 nm. Siguiendo el mismo procedimiento, se tomó 300  $\mu\text{L}$  de cada extracto a analizar y se adicionó 600  $\mu\text{L}$  de solución buffer PH 4.5 y se midió la absorbancia  $\lambda_{\text{max}} = 515$  y 715 nm, realizando el proceso por triplicado. Finalmente, el contenido de pigmento fue calculado como cianidina 3–glucósido; usando un coeficiente de extinción de 26 900 L/cm x mol y un peso molecular de 449.2 g/mol. Para realizar las mediciones espectrales se utilizó un espectrofotómetro Pharo Merck a una  $\lambda_{\text{max}} = 515$  y 700 nm.

---

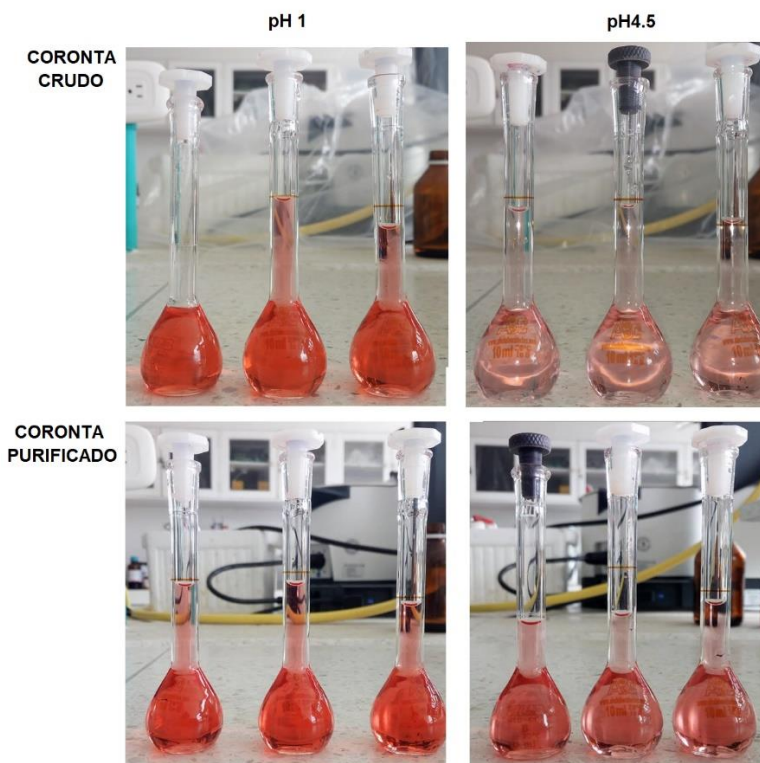
<sup>111</sup>ENRIQUEZ ERIKA. Extracción y caracterización química de principios activos de estructura fenólica con propiedades antioxidantes y antifúngicas (hongos dermatofitos), a partir del fruto de sancia coriaria ruscifolia. Tesis de pregrado en Química. Colombia- San Juan de Pasto. Universidad de Nariño, 2017.

<sup>112</sup> GIUSTI M.M y R.E. Wrolstad, Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems, Biochemical Engineering Journal: 2003, Vol. 14(3), p. 217-225

<sup>113</sup> MARTINEZ CRUZ, Nieves del Socorro. Antocianinas y actividad anti radicales libres de Rubus adenotrichus Schltldl (zarzamora). En: Revista mexicana de ciencias farmacéuticas. 2011, Vol. (42) 4, p. 66-71.



Figura 14. Transformación estructural de las antocianinas con el cambio de pH (pH:1 coloreadas, pH 4,5: incoloras).



Fuente: esta investigación.

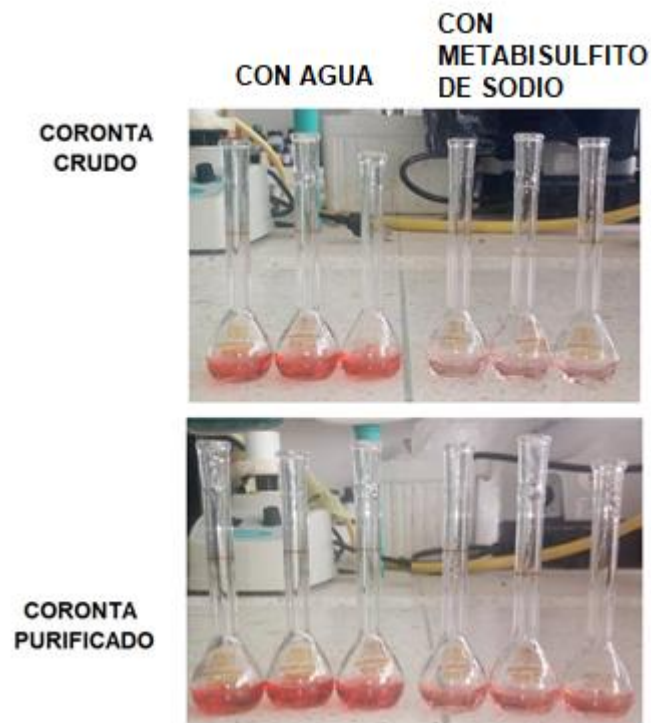
### 7.6.2. ANTOCIANINAS POLIMERICAS

El contenido de antocianinas poliméricas en los extractos de EC y EP se determinó por el método del pH sustractivo descrito por Jordheim, 2007<sup>114</sup>. Para esto se preparó soluciones de cada extracto utilizando como solvente una solución de KCl/HCl (0,025 M) a pH 1, utilizando las concentraciones, factores de dilución y longitudes de onda de máxima absorbancia calculados en la metodología de pH diferencial. Con el fin de llevar a cabo la cuantificación de antocianinas poliméricas, se transfirieron 2,8 mL de muestra diluida, en 2 tubos de ensayo. Al primer tubo se adiciono 0,2 mL de metabisulfito de sodio al 40% en agua y al segundo tubo se agregó 0,2 mL de agua destilada (figura 15), después de 15

<sup>114</sup> JORDHEIM M. Isolation, Identification and properties of pyranoanthocyanins and anthocyanin forms. Tesis Post-Doctor. Bergen: University of Bergen. Department of Chemistry, 2007, p. 85.

minutos se midieron las absorbancias a 420 nm longitud de onda de máxima absorción y a 715 nm en el espectrofotómetro Pharo Merck. Cada proceso se realizó por triplicado.

Figura 15. Antocianinas poliméricas (método pH sustractivo), se observa cambio de color.



Fuente: esta investigación.

## 7.7. FENOLES TOTALES

La determinación de los fenoles totales (FT) en los extractos crudos y purificados (EC y EP) se realizó por el método de Folin-Ciocalteu (FC) descrito por Floegel *et al.* (2011)<sup>115</sup>. Se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Pharo Merck. Inicialmente, se construyó una curva de calibración empleando una

<sup>115</sup> FLOEGEL, Anna, *et al.* Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. En: Journal of Food Composition and Analysis. 2011. Vol. 24, p. 1043–1048.

solución patrón de ácido gálico 1000 ppm (disuelto en metanol al 50%) y se realizaron diluciones de concentraciones de 10, 30, 60, y 100 ppm. El procedimiento fue el siguiente: A 100 µL de la solución a analizar, se adicionaron 500 µL del reactivo de Folin Ciocalteu y 1,5 mL de una solución acuosa de carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) al 20% (p/v). Luego, se aforó a 10 mL con agua (tipo I) y transcurridas dos horas se midió la absorbancia de las diferentes soluciones a una longitud de onda de 765 nm.

A continuación, se analizó el contenido fenólico de los diferentes extractos (EC, EP) y fracciones, preparando soluciones de 1,0 mg/mL de los extractos y las fracciones, como solvente se empleó una mezcla metanol-agua (1:1). Los resultados obtenidos se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por g de extracto o fracción polifenólica y además en mg de EAG por 100 g de extracto y en mg de EAG por 100 g de corontas para el caso de los extractos crudos. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

## **7.8. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO***

### **7.8.1. METODO ABTS**

Usando el método descrito por Peñarrieta *et al.* (2007)<sup>116</sup> se generó el catión-radical ABTS•+ tras la reacción de 192,21 mg de ABTS con 33,30 mg de persulfato potásico aforando a 50 mL, obteniendo concentraciones finales de 7 mM y 2,45 mM respectivamente y usando agua (tipo I) como disolvente. La solución madre de ABTS•+ obtenida se almacenó a temperatura ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) y en la oscuridad durante 16 h.

Una vez formado el radical ABTS se diluyó la solución madre, con metanol hasta obtener un valor de absorbancia cercano a 1 en una longitud de máxima absorción de 734nm.

Seguidamente se tomó 3 mL de la solución de ABTS y se agregaron 30 µL de cada uno de los extractos y fracciones por separado. Después de agitar con Vortex durante 1 minuto y luego de 6 minutos de reposo, se procedió a medir la absorbancia a 734nm. Finalmente se realizó una curva de calibración con soluciones de Trolox a concentraciones de 0- 0,5- 1- 1,5- 2- 2,5 y 2mM siguiendo la metodología antes descrita, los resultados se expresan en µmol de Trolox/g de extracto.

---

<sup>116</sup> PEÑARRIETA J, Mauricio, *et al.* Total antioxidant capacity and content of flavonoids and other phenolic compounds in canihua (*Chenopodium pallidicaule*): An Andean Pseudocereal. In: Mol. Nutr. Food Res. 2008. Vol. 52, p. 708 – 717.

### **7.8.2. METODO DPPH [2,2-difenil-1-picrilhidrazilo]**

Con el método descrito por Einbond, Reynertson. (2004), se estudió la eficiencia anti-radical de las soluciones. Para realizar este análisis se utilizó un espectrofotómetro UV-Vis Pharo, tomando medidas de absorbancia a 515 nm. Inicialmente fue necesario construir una recta de calibrado. Para ello se preparó una solución 0,05 mM de DPPH y a partir de esta se prepararon diluciones a 0,0026 mM; 0,0054 mM; 0,0083 mM; 0,014 mM y 0,025 mM, para realizar una curva de calibración de absorbancia contra concentración de DPPH• a una longitud de onda de 515 nm, utilizando un espectrofotómetro UV Vis Pharo. Para medir la eficiencia anti-radical de los extractos de interés se tomaron 3,9 mL de solución de DPPH• 0,05 mM y se midió su absorbancia a 515 nm. Posteriormente se adiciono 0,1 mL de la solución a analizar y se registró la disminución de absorbancia hasta la estabilización de la solución. La naturaleza de las muestras determina los tiempos finales de reacción.

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1. CARACTERÍSTICAS DEL MAÍZ MORADO

Según la clasificación taxonómica del ejemplar de maíz morado recolectado en la Florida (Nariño), realizada en el herbario de la Universidad de Nariño, se logró verificar que corresponde al género de *Zea mays L*, perteneciente a la familia POACEAE, en el herbario se conserva un ejemplar de esta especie, con código de clasificación N°45803. (Anexo A).

En la figura 16 se puede observar el hábitat en el que se recolectó la muestra de maíz morado (*Zea mays L*), del cultivo experimental realizado en el mes de julio del año 2017 en la Florida Nariño (Yunguilla), (01° 18' 06" N 77° 24' 38" O), el fruto se recolectó siguiendo las características descritas en el ítem 4.

Figura 16. Cultivo experimental de maíz morado departamento de Nariño (la Florida).



## 7.2. EXTRACTOS Y FRACCIONES POLIFENOLICAS DE MAIZ MORADO.

La obtención de los extractos crudos (EC), se realizó usando la metodología y condiciones previamente estandarizadas por el grupo de investigación GIPIB Mediante maceración química con metanol: ácido acético (19:1), en oscuridad por 24 horas, se obtuvieron los extractos crudos, (ECC, EHC y EGC), luego se tomó aproximadamente entre 2 y 4 g de cada uno de los extractos crudos secos los cuales fueron diluidos en agua tipo II por separado y cargados sobre una columna cromatográfica de retención selectiva con resina Amberlita XAD-7. El proceso se repitió 5 veces con el fin de obtener los extractos purificados (EP).

En la tabla 8 se muestra las cantidades de los extractos crudos (EC), purificados (EP) y fracciones aislados de los granos, hojas y corontas de maíz morado.

Tabla 8. Información de los rendimientos obtenidos en los diferentes procesos de extracción de los polifenoles de maíz morado.

<i>Extracto (MV*)</i>	<i>Peso inicial (g)</i>	<i>EC (g)</i>	<i>EP (g)</i>	<i>MeOH 30%</i>	<i>MeOH 60%</i>	<i>Ace 60%</i>	<i>% del pigmento</i>
<b>Granos</b>	434,04	11,193	3,454	0,165± 0,056	0,184± 0,064	0,299± 0,102	2,578± 0,219
<b>Hojas</b>	157,74	18,010	4,503	0,200± 0,069	0,210± 0,073	0,312± 0,106	11,417± 0,678
<b>Corontas</b>	115,15	21,122	6,411	0,229± 0,018	0,223± 0,021	0,397± 0,027	18,343± 2,263

\*MV: material vegetal. MeOH: Metanol; EC: Extracto crudo; EP: Extracto purificado; Ace: Acetona.

Como se observa en la tabla anterior se obtuvieron cantidades mayores de extractos crudos (EC), que de extractos purificados (EP), debido a que durante el proceso de maceración química migran desde la matriz vegetal hacia el solvente, los compuestos polifenólicos además de azúcares, aminoácidos y proteínas que también son afines a la polaridad del solvente<sup>117</sup>. Posteriormente, mediante el proceso de cromatografía de retención selectiva sobre Amberlita XAD-7, se eliminaron la mayoría de estos fitocomponentes, obteniéndose extractos purificados con menor masa, pero con una composición menos compleja (enriquecidos en polifenoles), y con mayor concentración en los compuestos de interés, eliminando de esta forma posibles interferentes, facilitando así la caracterización. En este proceso se obtuvo un extracto purificado de coronta (ECP), un extracto purificado de las hojas (EHP) y un extracto purificado de los granos de maíz (EGP). En la tabla 8 se observa la cantidad de extracto con respecto al peso inicial de material vegetal. Se puede observar que la parte de la planta que está más enriquecida en polifenoles es la coronta (18,3%) y las hojas (9,4%), información importante ya que este tipo de material vegetal es un producto

<sup>117</sup> BASANTE JESSICA. Op. Cit., p. 65.

de desecho que eventualmente podría utilizarse como una fuente de compuestos bioactivos (polifenoles) o como aditivo para alimentos, proporcionando un valor agregado a este tipo de desecho. La obtención del porcentaje de pigmento se obtiene en base al extracto crudo sobre el peso inicial del material vegetal.

Para el fraccionamiento de los extractos purificados (EGP, EHP, ECP) cada extracto se sometió a cromatografía de exclusión por tamaño molecular utilizando como fase estacionaria Sephadex LH-20. Con este procedimiento se lograron aislar tres fracciones para cada extracto purificado (en total 9 muestras): FG M30% (fracción del grano de maíz eluída con metanol al 30%), FG M60% % (fracción del grano de maíz eluída con metanol al 60%) y FG A60% % (fracción del grano de maíz eluída con acetona al 60%), tres fracciones para hoja FH M30% % (fracción de la hoja de maíz eluída con metanol al 30%), FH M60% % (fracción de la hoja de maíz eluída con metanol al 60%) y FH A60% % (fracción de la hoja de maíz eluída con acetona al 60%) y tres fracciones para coronta FC M30% % (fracción de la coronta de maíz eluída con metanol al 30%), FC M60% % (fracción de la coronta de maíz eluída con metanol al 60%) y FC A60% % (fracción de la coronta de maíz eluída con acetona al 60%), cada procedimiento se repitió 4 veces. En la tabla 8 se presentan las cantidades obtenidas para cada una de las fracciones expresadas en gramos. En este proceso se puede observar que la fracción de mayor peso molecular (eluída con acetona al 60%) que se aisló de los diferentes extractos purificados (EGP, EHP, ECP) son las que se encuentran en mayor proporción. En consecuencia, estos resultados sugieren que los compuestos fenólicos de tipo polimérico se encuentran en EGP, EHP, ECP en un mayor porcentaje (p/p) que las respectivas fracciones livianas (metanol al 30 y 60%).<sup>118</sup>. La comparación de los rendimientos obtenidos durante esta investigación con otros trabajos no fue posible debido a que no existen estudios con las mismas condiciones de elusión.

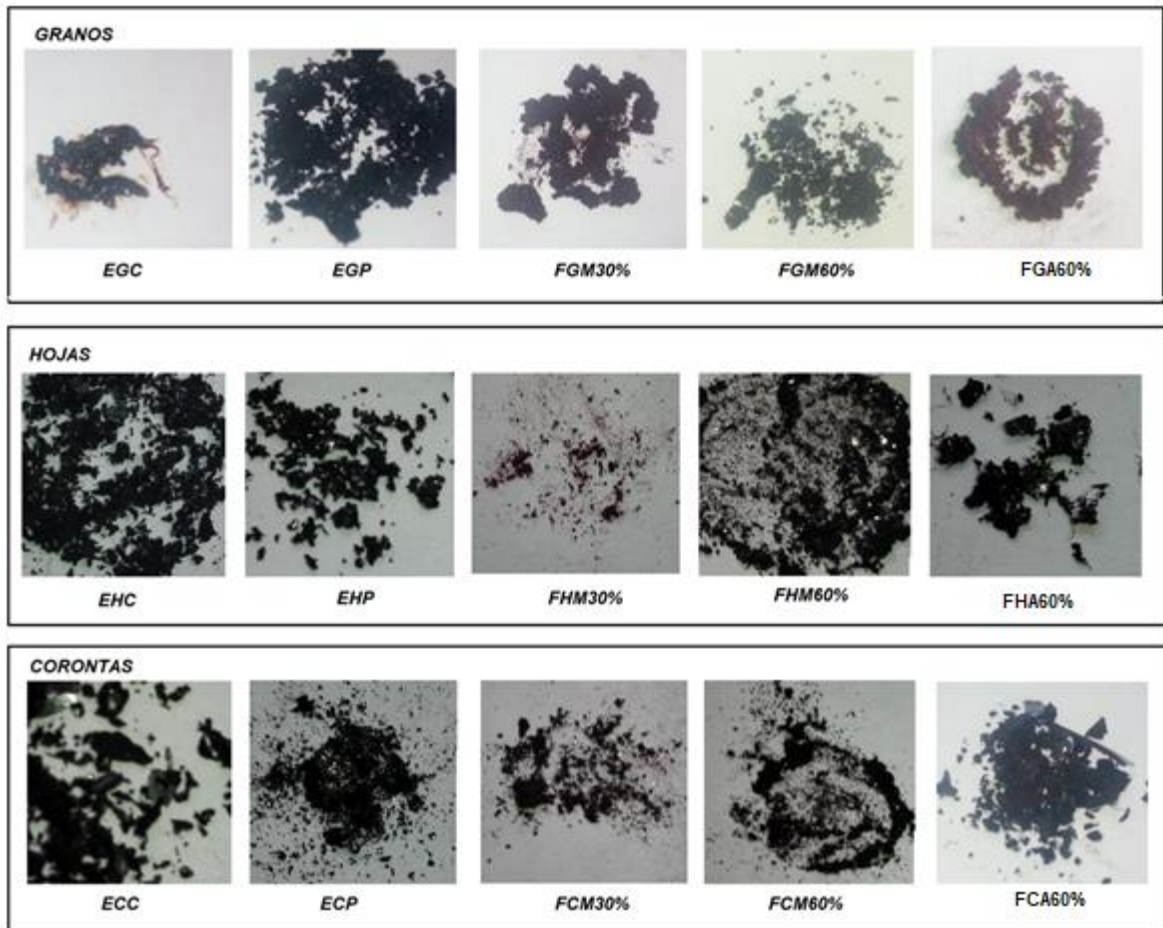
En la figura 17 se puede observar las características de los extractos crudos, purificados y fracciones de granos, hojas y coronta de maíz morado aisladas con metanol 30% y 60% y con acetona 60%, los cuales presentan mínimas diferencias en cuanto a color y forma, los extractos crudos presentan una coloración morada oscura y pulverulenta, mientras que el extracto crudo de grano presenta una coloración café oscura y apariencia viscosa, por el contrario el color de las fracciones eluídas con metanol 30% y 60% y acetona al 60% varían en las tonalidades de café oscuro para el grano, morado oscuro para la coronta y rojo oscuro para las hojas.

---

<sup>118</sup> BASANTE JESSICA. Op. Cit., p. 67.



Figura 17. Aspecto físico de las diferentes fracciones aisladas del maíz morado.



Fuente: Esta investigación.

El color de los extractos crudos EC y purificados EP además de sus respectivas fracciones se debe principalmente a la presencia de polifenoles tipo antocianina objeto de este estudio<sup>119</sup>. Así como se observa en la figura anterior los colores de los extractos varían entre el café oscuro (granos), rojos (hojas) y morados oscuros (corontas).

<sup>119</sup> BASANTE JESSICA. Op. Cit., p. 68.

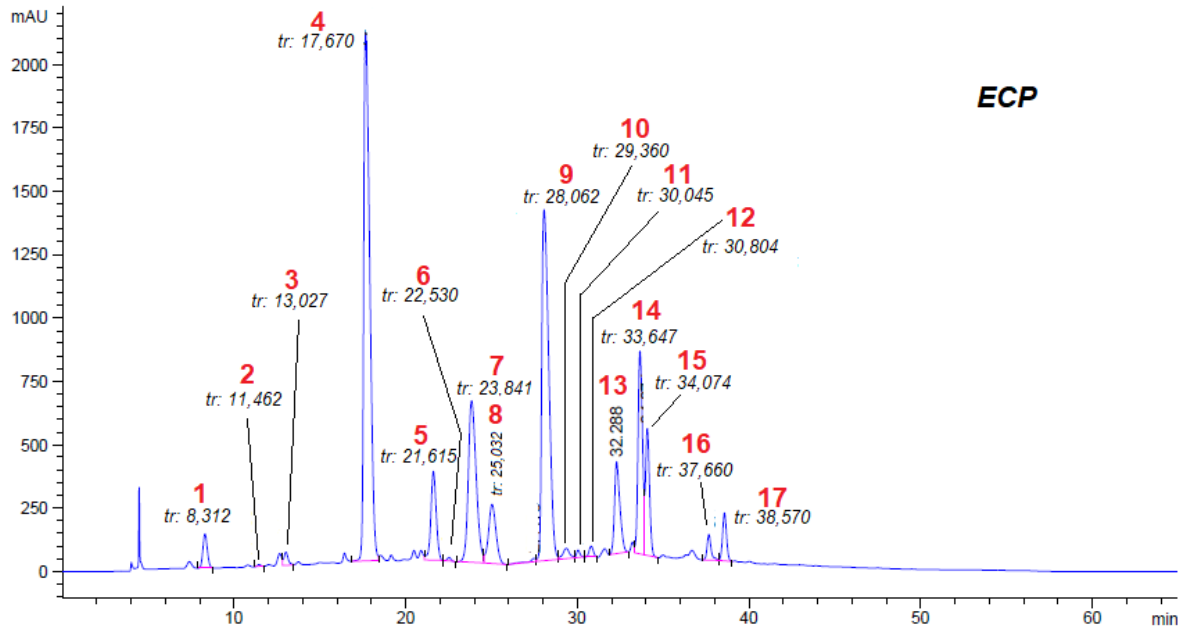


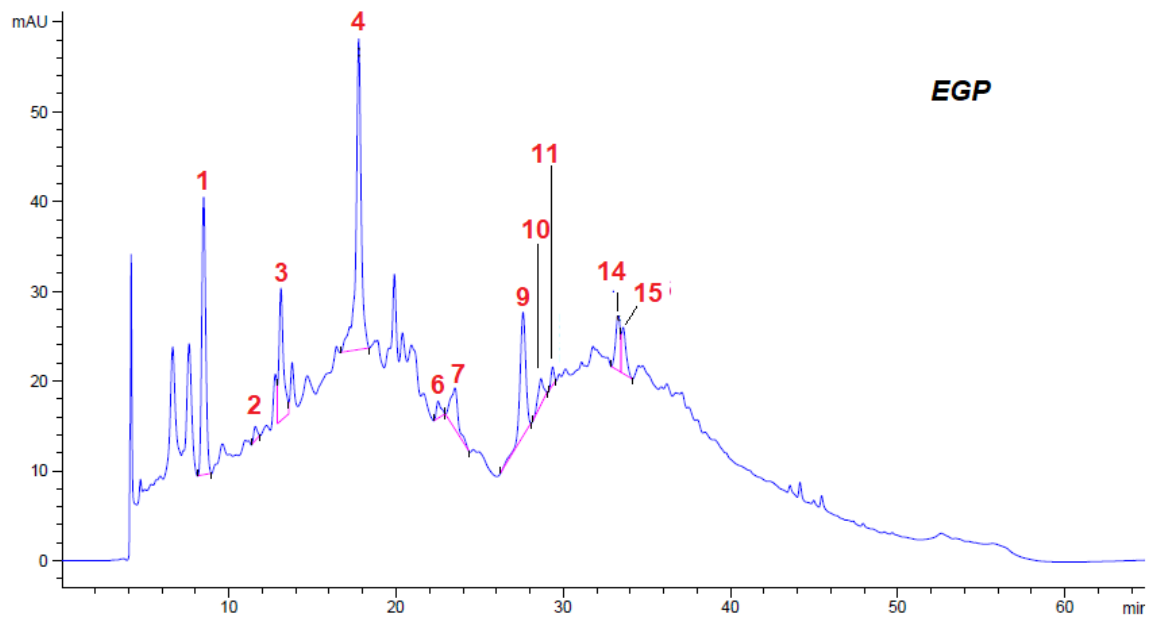
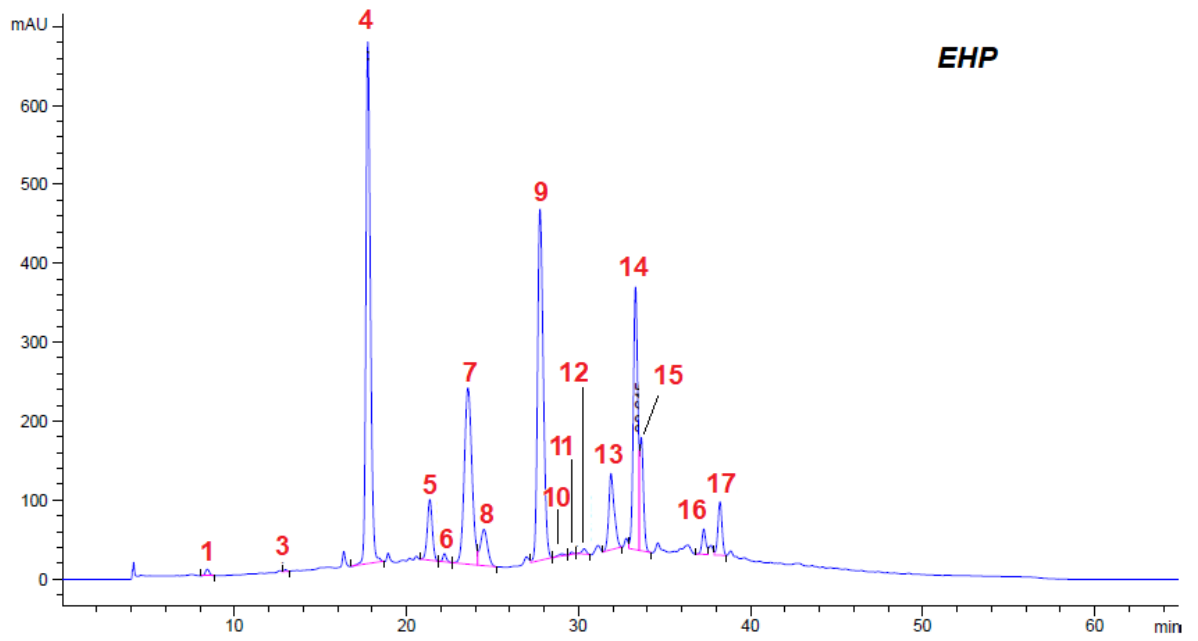
### 7.3. CROMATOGRAMA HPLC DE LAS FRACCIONES PURIFICADAS EGP, EHP Y ECP.

La identificación parcial de cada una de las señales observadas para EGP, EHP y ECP (figura 18) se realizó por (HPLC-MS-ESI). Por espectrometría de masas las antocianinas se analizan en modo de ionización suave. Debido a la naturaleza iónica de estos compuestos, una de las técnicas más utilizadas es la ionización electrospray (ESI). Con el propósito de obtener información acerca de su peso molecular y de las subunidades que conforman la estructura molecular, la técnica HPLC-MS es muy útil.

En la figura 18 se observan los cromatogramas HPLC de los extractos purificados de los granos, hojas y coronta de maíz morado (EGP, EHP Y ECP).

Figura 18. Perfiles cromatográficos de los extractos purificados (EGP, EHP Y ECP) a 520 nm (antocianos).





Fuente. Esta investigación.

En la figura 18 se observan 17 compuestos antocianicos para el extracto purificado de coronta ECP, los cuales tambien se encuentran en los extractos purificados de hoja (EHP) y de granos (EGP), en los perfiles cromatograficos se destacan tres compuestos mayoritarios (picos 4, 9 y 14), que fueron caracterizados por UV-Vis y HPLC-ESI-MS.

#### 7.4. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LAS ANTOCIANINAS POR UV-VIS Y HPLC-ESI-MS.

El análisis detallado de los perfiles UV-Vis permitió establecer algunas características estructurales relevantes para cada compuesto fenólico. Se ha establecido que algunas relaciones de absorbancias ( $A_{\lambda_{440}}/A_{\lambda_{max}}$  y  $A_{\lambda_{acil}}/A_{\lambda_{max}}$ )<sup>128</sup> proporcionan importante información estructural de este tipo de compuestos. Normalmente, en la región visible los derivados acilados de este tipo de pigmentos no muestran diferencia con respecto a los correspondientes no acilados, sin embargo, en la región del ultravioleta suelen presentar un máximo pronunciado en el intervalo 310-360 nm ( $A_{\lambda_{acil}}/A_{\lambda_{max}}$ ), correspondiente a la absorción del grupo acilo<sup>120</sup>. Además, se ha observado, que diferentes tipos de antocianidinas con azúcar o grupos benzoilo en la posición 5 tienen diferentes características espectrales respecto a las antocianidinas con el grupo 5-OH libre, estas últimas presentan un hombro en la región de 410-450 nm. Para evidenciar las diferencias entre las antocianinas 3 y 3,5-glicosidadas se compara la relación entre las densidades ópticas a la longitud de onda de 440 nm y a la longitud de onda de máxima absorción ( $A_{\lambda_{440}}/A_{\lambda_{max}}$ ), así una relación entre 20-35 % significa una glicosidación en la posición 3 de la aglicona y si esta se encuentra entre 10-20 % la posición 5 de la aglicona esta glicosidada<sup>121</sup>. Además, también se ha observado en el espectro UV-Vis de la pelargonidina-3-glucósido y derivados de cianidina y delfinidina con O-glicosidación en el anillo B relaciones  $A_{\lambda_{440}}/A_{\lambda_{max}}$  mucho más altas que las correspondientes a otras antocianinas 3-O-glicosidadas<sup>122</sup>.

El análisis por espectroscopia UV-Vis ( figura 19) de la antocianina mayoritaria (compuesto **4**) muestra la ausencia de un máximo de absorción entre 310 y 360 nm lo que indica la ausencia de grupos acilo enlazados a la molécula; por el contrario, el análisis por espectroscopia UV-Vis del compuesto fenólico **9** (Figura

---

<sup>120</sup> Giusti, M.M., Rodriguez-Saona, L.E., and Wrolstad, R.E. 1999. Spectral characteristics, molar absorptivity and color of pelargonidin derivatives. *J. Agric. Food Chem.* 47:4631-4637.

<sup>121</sup> HARBORNE JB, SHERRATT HS. Variations in the glycosidic pattern of anthocyanins. II. *Experientia.* 1957 Dec 15;13(12):486-487.

<sup>122</sup> Fossen, T. & Andersen, Ø.M. (2006) Spectroscopic Techniques Applied to Flavonoids, In: Flavonoids – Chemistry, Biochemistry and Applications, Andersen ØM, Markham KR, (37-142) Taylor & Francis, 978-0-8493-2021-7, USA.

19), presenta una banda de absorción en la región de 310 a 360 nm, con una relación de absorbancia  $A_{\lambda_{\text{acil}}} / A_{\lambda_{\text{max}}}$  mayor a 0,4, que sugiere una acilación de la molécula. (Tabla 9). De igual forma se encontraron las mismas características para los extractos purificados de hojas y granos (EHP y EGP), además de los anteriores compuestos en los extractos purificados de corontas y hojas (ECP y EHP) también se puede apreciar la presencia de una tercera antocianina mayoritaria **7** y en EGP la antocianina **1** (tabla 10). Finalmente los extractos purificados (EGP, EHP y ECP) presentan en común 17 compuestos con diferente intensidad de área relativa.

De la misma forma como se hizo para los compuestos **4** y **9**, este análisis se realizó para todos los compuestos mayoritarios. En la tabla 10 se resumen los resultados.

Tabla 9 . Parámetros espectroscópicos UV-Vis de las antocianinas aisladas. (relación de absorbancias).

<i>N°</i>	<i>Tr. (min)</i>	<i>Abs.λ440/ Abs.λ<sub>max</sub>(vis)</i>	<i>Abs.λ<sub>max</sub> Acil (300-360)</i>	<i>Abs. <sub>max</sub> Acil/ Abs.λ<sub>max</sub>(vis)</i>
2	11,46	0,335	340,0	0,431
4	17,67	0,330	---	---
5	21,62	0,314	---	---
6	22,53	0,464	312,5	0,947
7	23,84	0,410	356,8	0,827
9	28,06	0,310	350,8	0,934

Fuente. Esta investigación.

Finalmente se concluye que los compuestos **2**, **6**, **7** y **9** presentan acilación en la molécula. Lo cual significa 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<sup>123</sup>. La presencia de grupos acilo en la molécula de antocianina le confiere estabilidad al pigmento ante condiciones extremas de pH y temperatura<sup>124</sup>.

En los espectros de absorción de los compuestos **4** y **9** se pueden observar bandas características en el UV-Vis una en  $\cong 517$  nm (región visible)

<sup>123</sup> De Pascual-Teresa S, M T Sanchez-Ballesta (2008) Anthocyanins: from plant to health. Phytochem. Rev. 7:281-299.

<sup>124</sup> Dougall D K, D C Baker, E Gakh, M Redus (1997) Biosynthesis and stability of monoacylated anthocyanins. Food Technol. 15:69-71

correspondiente a la conjugación de las antocianinas y otra en  $\cong$  a 350 nm para el compuesto **9** característica de los grupos acilo.<sup>125</sup> (figuras 19 y 20).

Figura 19. Espectro UV-Vis del compuesto fenólico **4**.

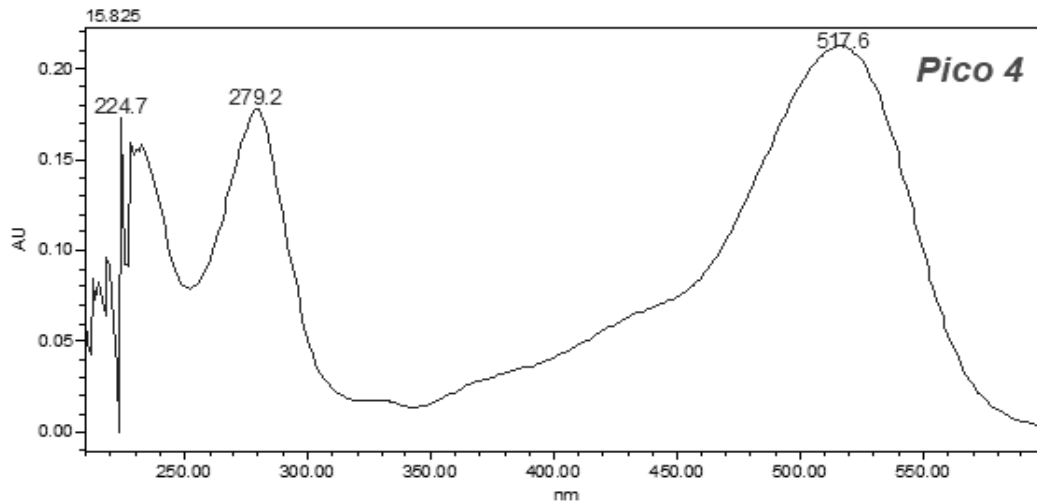
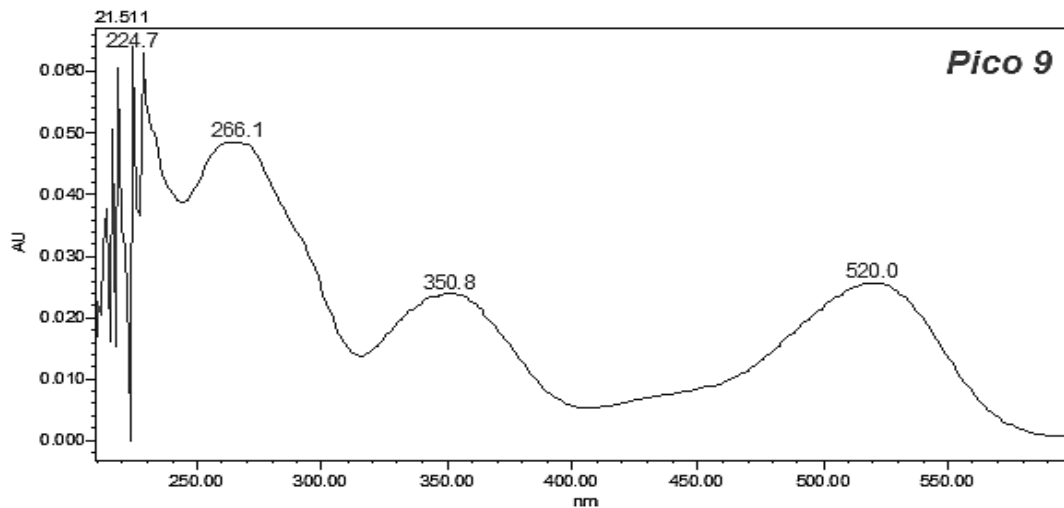


Figura 20. Espectro UV-Vis del compuesto fenólico **9**.



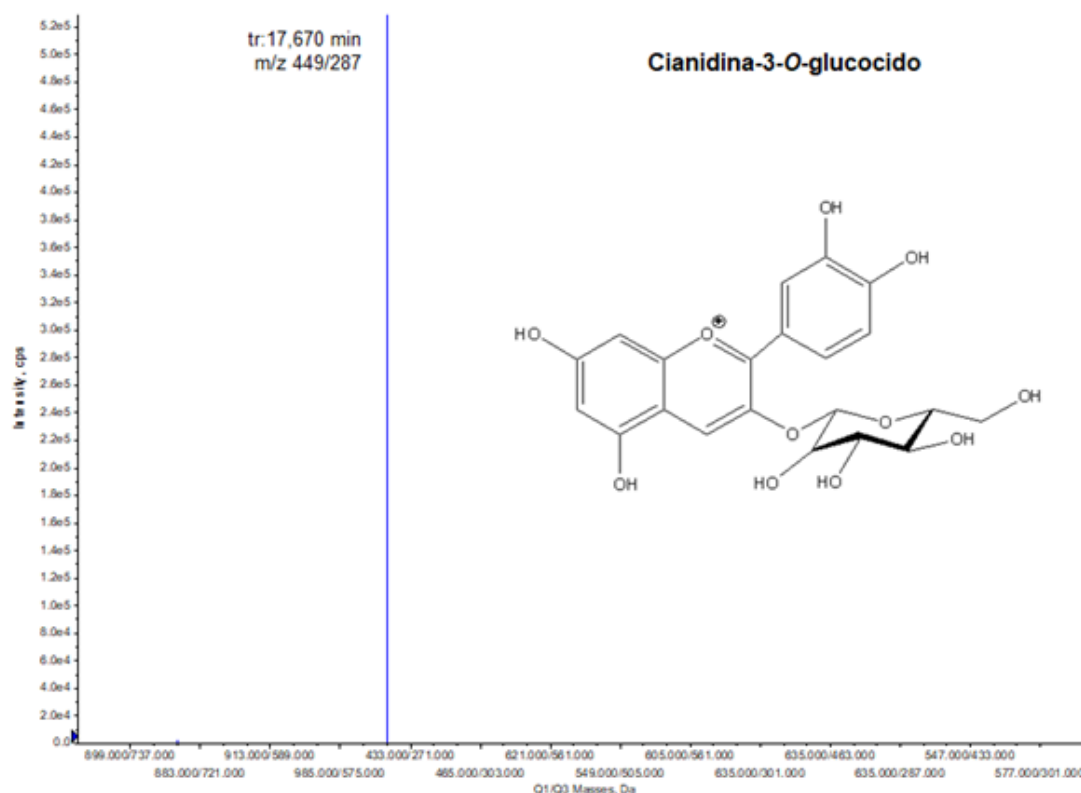
Fuente: Esta investigación.

En la figura 21 se observa el espectro de masas de la antocianina 4 (compuesto más abundante). El análisis del espectro de masas de este compuesto (tr: 17,670 min) muestra una señal característica en m/z 449 (peso molecular) y un ion

<sup>125</sup> SANTACRUZ LILIANA. Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos, Tesis de Maestría en Ciencias Química, Bogotá, Colombia. Universidad Nacional de Colombia, 2011.

fragmento en m/z 287 debido a la pérdida de 162 unidades (glucosa o galactosa), este ión corresponde a la aglicona cianidina  $[M+H-162]^+$ <sup>126</sup>. De esta forma y con los análisis espectroscópicos previos, la antocianina **4** tiene las siguientes características estructurales: la antocianina tiene como aglicona la cianidina, tiene una unidad de azúcar y no posee grupos acilo en su estructura y esta sustituida en C<sub>3</sub>, por lo que se concluye que la estructura más probable es la cianidina-3-glucósido (figura 21, tabla 10). Esta molécula ya ha sido identificada en otros trabajos realizados sobre el maíz morado<sup>127</sup>. La literatura muestra que cianidina 3-glucósido puede ser un agente quimioterapéutico prometedor<sup>128</sup> ya que se ha encontrado que inhibe el 7,12-dimethylbenzo antraceno, compuesto que se ha comprobado provoca la carcinogénesis mamaria.

Figura 21. Espectro de masas del compuesto **4** (tr: 17,670).



Fuente. Esta investigación.

<sup>126</sup> SANATCRUZ LILIANA, Op. Cit. p. 474.

<sup>127</sup> MORENO Y., *et al.* variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. 2013, vol. 36, p: 285-294.

<sup>128</sup> FUKAMACHI K., Imada T., Ohshima Y. Xu J., Tsuda H.. Purple corn color suppresses Rasprotein level and inhibits 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammarycarcinogenesis in the rat. *Cancer Sci.* 2008, Vol. 99: 1841–1846.

Tabla 10. Semi-cuantificación (% área relativa), espectrometría de masas y principales compuestos polifenólicos identificados en el extracto purificado (ECP) de coronta, hojas y granos de maíz morado.

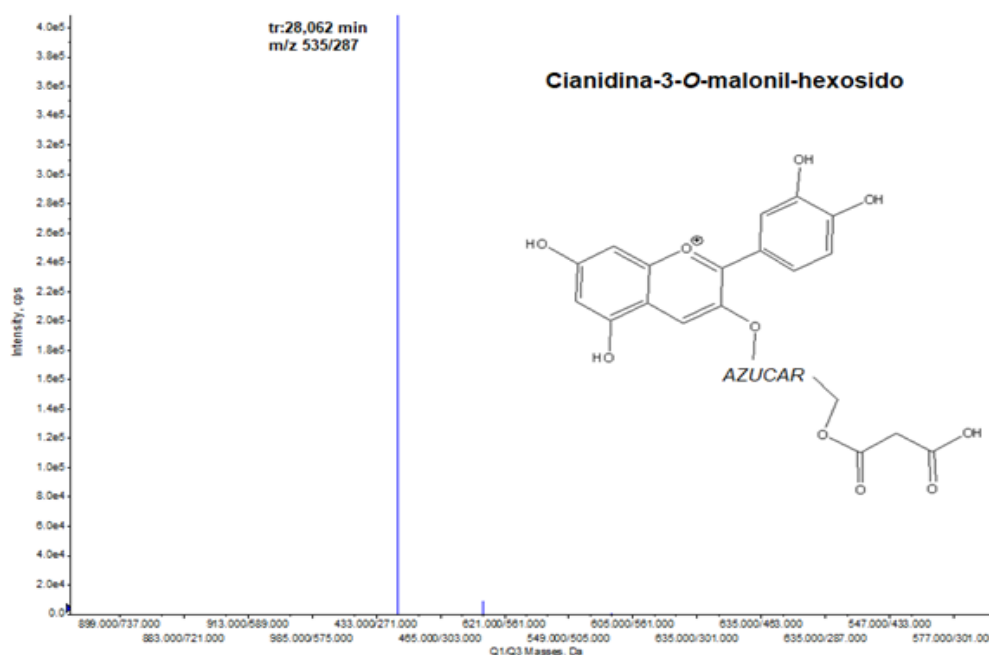
$\lambda$	N° pico	Tr. Min	% Área relativo EGP	% Área relativo EHP	% Área relativo ECP	[M+H] <sup>+</sup>	Fragmento	Identificación parcial
520nm	1	8.31	21,429	0,3074	1,471	899	737., 575., 287	epicatequina (4-8)-cianidina-3,5-diglucósido
	2	11.46	0,991	----	0,072	883	721., 559	epicatequina (4-8)-pelargonidina-3,5-diglucósido
	3	13.027	11,507	0,084	0,547	913	751.,589	epicatequina (4-8)-peonidina-3,5-diglucósido
	4	17.67	30,4403	26,995	31,678	449	287	Cianidina-3-O-glucósido
	5	21.62	----	3,467	4,571	433	271	Pelargonidina-3-O-glucósido
	6	22.53	1,506	0,348	0,143	535	287	Cianidina -3-O-malonil-Hexosido
	7	23.84	5,912	15,520	12,196	463	301	Peonidin-3-O-glucósido
	8	25.03	----	2,963	4,2717	535	287	Cianidina -3-O-malonil-glucósido
	9	28.06	13,868	22,962	23,393	535	287	Cianidina -3-O-malonil-Hexosido
	10	29.36	2,863	0,193	0,6978	519	271., 433	Pelargonidina-3-O-(6"-malonilhexosido)
	11	30.045	1,133	0,092	0,2693	465	303	Delfinidina-3-O-glucósido
	12	30.80	----	0,296	0,456	519	271., 433	Pelargonidin-3-O-(6"-malonilglucósido)
	13	32.28	----	4,821	4,745	549	463., 301	Peonidin-3-O-(6"-malonilhexosido)
	14	33.64	5,115	13,698	8,721	549	463., 301	Peonidin-3-O-(6"-malonilglucósido)
	15	34.07	3,993	4,603	4,882	621	561., 449., 287	Cianidina-3-O-(3", 6"-dimalonilhexosido)
	16	37.66	----	1,151	1,009	605	561., 271	Pelargonidina-3-O-(3", 6"-dimalonilhexosido)
	17	38.57	----	2,493	1,852	635	591., 301	Peonidina-3-O-(3", 6"-dimalonilhexosido)

EGP: Extracto purificado de grano, EHP: Extracto purificado de Hoja, ECP: Extracto purificado de Coronta.

Fuente. Esta investigación.

El espectro de masas de la antocianina **9** (tr: 28,062 min) aislada en la fracción con Metanol 60% muestra un ion pseudomolecular en m/z 535 y un ion fragmento en m/z 287, debido a la pérdida de 248 unidades. Esta pérdida puede estar relacionada con la pérdida de un grupo malonil (86u) y una hexosa (162u) [M+H-86-162]<sup>129</sup>. Estos datos están en concordancia con el análisis realizado por espectroscopía UV-Vis, es decir el compuesto **9** tiene las siguientes características estructurales: la antocianina tiene como aglicona a la cianidina, esta sustituida en la posición 3 por un azúcar (glucosa o galactosa) y presenta una acilación (ácido malónico). Estos resultados permiten proponer como estructura más probable la cianidina-3-O-malonil-hexosido (figura 22, Tabla 10). Esta molécula también ha sido identificada en otros estudios de maíz morado<sup>130</sup>. Como se mencionó anteriormente esta antocianina se identificó en el grano, hojas y coronta de la variedad de maíz morado estudiada, con una mayor concentración en hojas y coronta (aprox. 23%, tabla 10).

Figura 22. Espectro de masas del compuesto **9** (tr: 28,062 min).



Fuente. Esta investigación.

<sup>129</sup> KAJDŽANOSKA MARINA., Gjamovsk Viktor., Stefova Marina. HPLC-DAD-ESI-MSn identification of phenolic compounds in cultivated strawberries from macedonia. Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering. 2010, Vol. 29, No. 2, pp. 181–194

<sup>130</sup> QUINONES ROBERTO., Coy–Barrera Ericsson. composición de antocianinas monoméricas de cinco fenotipos de maíz coloreado (*Zea mays L.*) de la región central COLOMBIANA, 2015, p.48.



De esta forma, en el ECP se identificaron 17 compuestos polifenólicos, de los cuales en este extracto cuatro representan el 66,03% del contenido total de antocianinas: señales **4** (30,4 %), **7** (12,2 %), **9** (23,4 %) y **14** (8,72%) (Tabla 10). El compuesto mayoritario (pico **4**) se identificó como Cianidina-3-O-glucósido, el pico **7** como Peonidina-3-O-glucósido, el pico 9 como Cianidina-3-O-malonil-hexosido y el pico **14** como Peonidina-3-O-(6"-malonil-glucósido)

En el extracto de hojas purificado (EHP) se identificaron también cuatro compuestos mayoritarios que representan el 79,2% del contenido total de antocianinas: Cianidina-3-O-glucósido (pico 4), 27,0%, compuesto mayoritario), Peonidina-3-O-glucósido (pico 7, 15,5%), Cianidina-3-O-malonil-hexosido (pico 9, 23,0%) y Peonidina-3-O-(6"-malonil-glucósido (pico 14, 13,7%), en concentraciones muy similares a ECP (Tabla 10).

En el extracto purificado asilado de los granos (EGP) se identificaron cuatro compuestos mayoritarios los cuales representan el 77, 24% del contenido total de antocianinas: señales 1 (21,4%), 3 (11,5%), 4 (30,4%) y 9 (13,9%). El compuesto mayoritario (pico 4) se identificó como Cianidina-3-O-glucósido (compuesto mayoritario), el pico 1 como 4,8-epicatequina-cianidina-3,5-diglucósido el pico 3 como 4,8-epicatequina-peonidina-3,5-diglucósido y el pico 9 como Peonidina-3-O-(6"-malonil-glucósido) (Tabla 10).

La antocianina mayoritaria en los tres extractos ECP, EHP y EGP es la cianidina-3-O-glucósido, con una concentración de aproximadamente el 30% del contenido de antocianinas totales. También se puede observar que en las hojas y en la coronta hay una mayor concentración de Cianidina-3-O-malonil-hexosido (aprox. 23%) y peonidina-3-glucósido (aprox. 15%) que en los granos de maíz que contienen aproximadamente el 13% y 6% respectivamente. Por el contrario en los granos de maíz fue mayor el contenido de 4,8-epicatequina-cianidin-3,5-diglucósido (aprox. 21%) y 4,8-epicatequina-peonidina-3,5-diglucósido (aprox. 12%) con respecto al encontrado en las hojas y coronta, que fue menor de 2%. La antocianina mayoritaria 4,8-epicatequina-cianidina-3,5-diglucósido presente en los granos, ha sido identificada en otros estudios en el pericarpio y endospermo de tres variedades de maíz morado (arrocillo, peruano y Purepecha)<sup>131</sup>

Como se mencionó anteriormente la coronta del maíz morado presenta la mayor concentración de antocianinas, seguida de las hojas en la cual no se detectaron compuestos como: (epi)catequina (4-8)-pelargonidina-3,5-diglucósido (%Ar. 0,072). Por el contrario en los granos no se detectaron Pelargonidin-3-O-

---

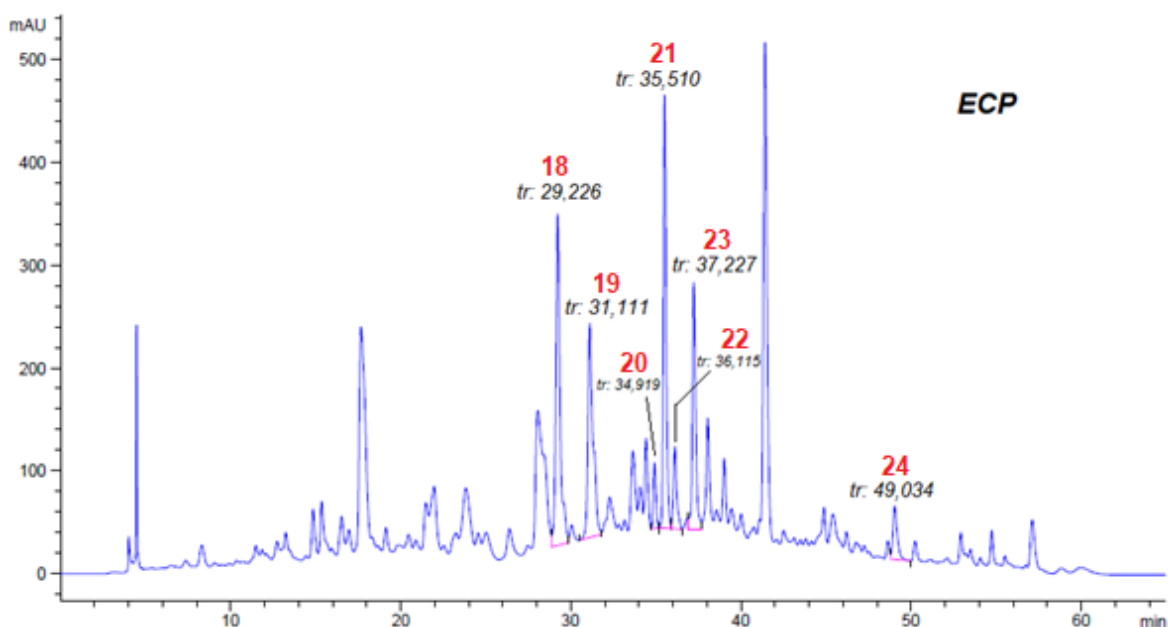
<sup>131</sup> GONZALES S., et. al. Flavanol- anthocyanin pigments in corn: NMR characterisation and presence in different purple corn varieties, En: Journal of Food Composition and Analysis, 2008, vol. 21, p. 521-526.

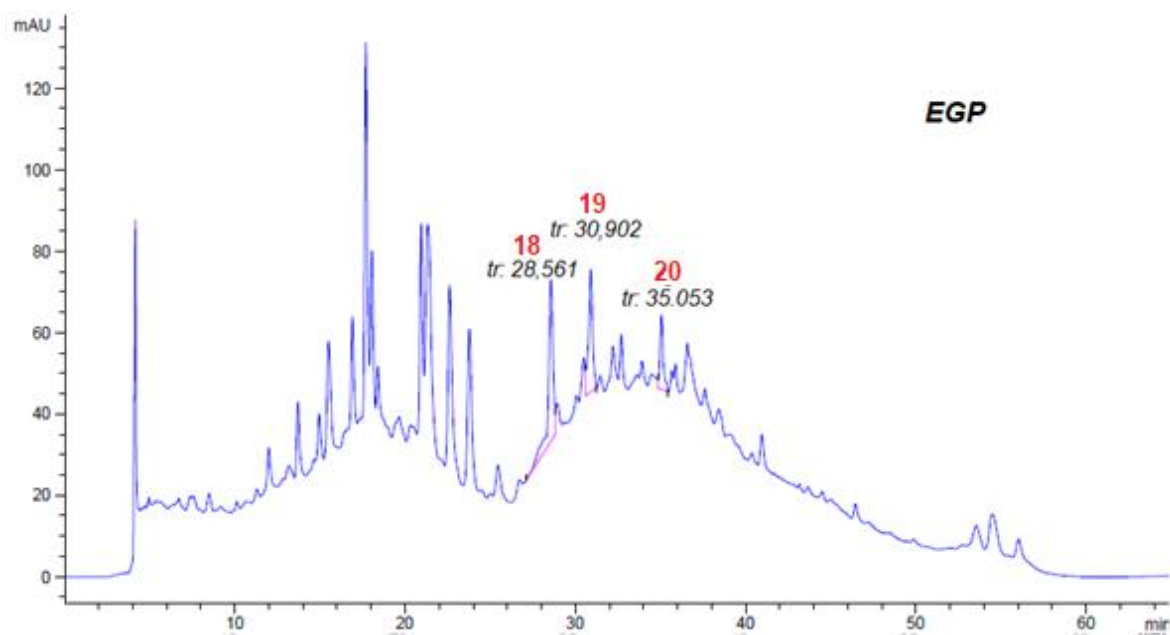
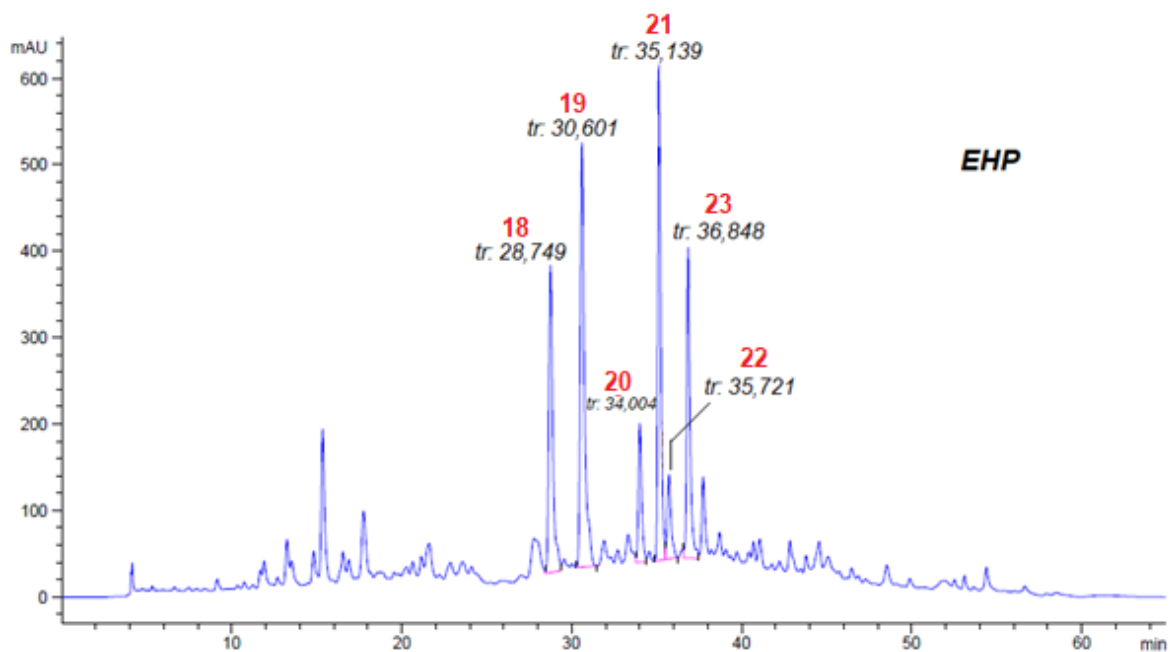
glucoside, Cyanidin-3-O-malonyl-glucoside, Pelargonidin-3-O-(6"-malonylglucoside), Peonidin-3-O-(6"-malonylhexoside), Pelargonidin-3-O-(3", 6"-dimalonylhexoside) y Peonidin-3-O-(3", 6"-dimalonylhexoside).

Los compuestos **4** y **9** se detectaron en las diferentes fracciones aisladas por cromatografía de exclusión por tamaño. El compuesto **4** fue el compuesto mayoritario en las fracciones eluidas con metanol al 30%, se destaca que este compuesto se aisló casi puro en el extracto aislado de EGP. De otro lado, el compuesto **9** fue el mayoritario en la fracción eluida con metanol al 60%. En el Anexo B. se muestran los perfiles cromatográficos.

Además de los compuestos antociánicos en este trabajo también fue posible identificar otro tipo de flavonoides. En la figura 23 se observan los perfiles cromatográficos registrados a 360 nm.

Figura 23. Perfiles cromatográficos UV-Vis de los extractos purificados (EGP, EHP Y ECP) a 360 nm (Flavonoles).





Fuente. Esta investigación.

En la figura 23 se observan 7 compuestos de tipo flavonol en el ECP, que también se observan en EHP y EGP, sin embargo existen otros compuestos con % de área relativo considerable que no pudieron ser caracterizados mediante esta técnica.

Debido a la naturaleza iónica de los flavonoles, una de las técnicas más utilizadas es la ionización electrospray (ESI). La identificación parcial de los compuestos de EGP, EHP y ECP (figura 23) se realizó por (HPLC-MS-ESI). Con el propósito de obtener información acerca de su peso molecular y de las subunidades que conforman la estructura molecular, la técnica HPLC-MS es muy útil.

El análisis de la composición de otros flavonoides incoloros en los diferentes extractos (ECP, EHP y EGP) permitió establecer que los extractos EGP y ECP están más enriquecidos en quercetina-3-rutinosido, 51,6 y 27% (**18**) respectivamente. En el EHP el componente mayoritario es la Quercetina-3-O-glucósido (28,1%) (**19**). En la tabla 11 se puede ver la información acerca del peso molecular y de las subunidades que conforman la estructura molecular de cada flavonol presente en los extractos.

El resumen de los compuestos de tipo flavonol se puede observar en la tabla 11

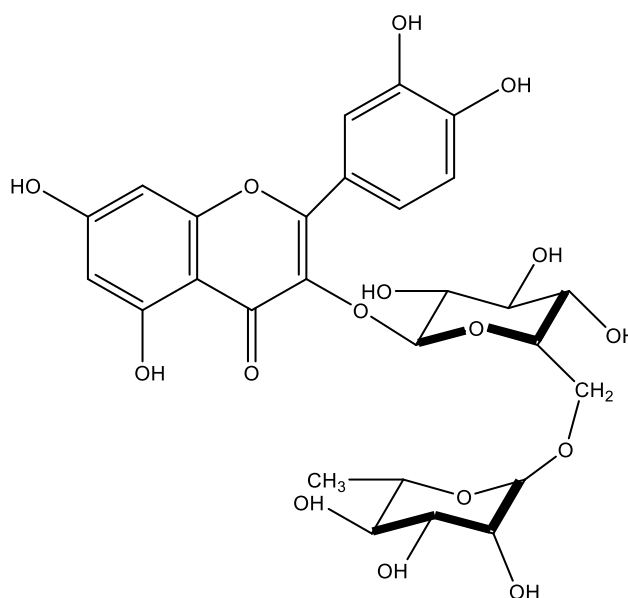
Tabla 11. Semi-cuantificación (% área relativa), espectrometría de masas y principales compuestos de tipo flavonol identificados en el extracto de coronta purificado (ECP).

$\lambda$	N° pico	Tr. Min	% Área relativo EGP	% Área relativo EHP	% Área relativo ECP	$[M+H]^+$	Fragmento	Identificación parcial
360nm	18	29,226	51,666	19,653	26,940	609	----	Quercetina-3-O-rutinosido
	19	31,111	32,336	28,128	20,913	477	301	Quercetina-3-O-glucósido
	20	34,919	15,996	7,155	3,424	623	315	Isorhamnetina-3-O-rutinosido
	21	35,51	----	23,622	23,378	461	285	Kaempferol-3-O-glucósido
	22	36,115	----	5,036	5,275	491	315	Isorhamnetina-3-O-glucósido
	23	37,227	----	16,406	15,603	461	285	Kaempferol-3-O-hexosido
	24	49,034	----	----	4,468	301	----	Quercetina

El análisis de masas del compuesto **18** (tr: 29,226 min, %Ar: 26.9395) muestra una señal característica en m/z 609  $[M-H]^-$  (peso molecular) y un ion fragmento en m/z 301 debido a la pérdida de 308 unidades de su correspondiente glucósido (rutina),

este ión corresponde a la quercetina  $[M+H-308]^{+132}$ . De esta forma el flavonol **18** tiene las siguientes características estructurales: el flavonol tiene como glucósido la rutina, unida a través del 3-OH por un enlace O-glicosídico al C1 del disacárido glucosa-ramnosa<sup>133</sup>, por lo que se propone que la estructura más probable es la Quercetina-3-O-Rutinosido (figura 24). Esta molécula ya ha sido identificada en otros trabajos realizados sobre el maíz morado<sup>134</sup>. La literatura muestra que Quercetina-3-O-Rutinosido mejora la rigidez de la membrana celular protegiéndola contra el daño oxidativo<sup>135</sup>.

Figura 24. Estructura de la Quercetina-3-O-Rutinósido (**18**).



Tomado de: TSUKASA IWASHINA 2012.

<sup>132</sup> GA Hee Jang., *et. al.* Characterization and Quantification of Flavonoid Glycosides in the Prunus Genus by UPLC-DAD-QTOF/MS.

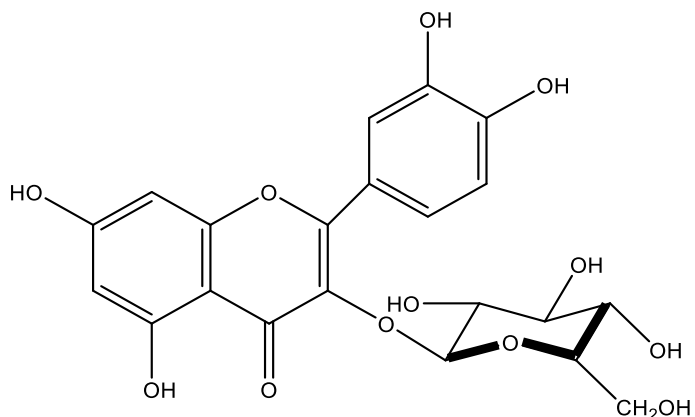
<sup>133</sup> SANCHEZ J. Efecto de la quercetina y la rutina frente al daño oxidativo inducido en eritrocitos con distintos contenidos de colesterol. Tesis doctoral, Universidad de Salamanca, España, 2009.

<sup>134</sup> PAUCAR LUZ MARIA., Martínez Cristina., Dueñas Monserrate., Frias Juana., & Peñas Elena. Optimization of germination time and temperature to maximize the content of bioactive compounds and the antioxidant activity of purple corn (*Zea mays L.*) by response surface methodology. LWT - Food Science and Technology, 2017, vol. 76, p. 236–244.

<sup>135</sup> KUMAR S., & Pandey A. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. The Scientific World Journal, 2013, p. 1–16

En cuanto análisis de masas del compuesto **19** (tr:31,111 min, %Ar: 28,128) muestra una señal característica en m/z 463 [M-H]<sup>-</sup> (peso molecular) y un ion fragmento en m/z 301 debido a la pérdida de 162 unidades glucosa, este ión corresponde a la quercetina [M+H-162]<sup>+</sup>. De esta forma y con los análisis previos, el flavonol **19** tiene las siguientes características estructurales: el flavonol tiene una unidad de azúcar (glucosa o galactosa)<sup>136</sup>, por lo que se propone que la estructura más probable es la Quercetina-3-O-Rutinosido (figura 25). La literatura muestra que los glucósidos de quercetina presentan mayor actividad espasmolítica, debido a su efecto sobre la relajación del músculo esquelético. Además, numerosos efectos fisiológicos beneficiosos para la salud humana se atribuyen a los flavonoides como agentes anticancerígenos<sup>137</sup>.

Figura 25. Estructura de la Quercetina-3-O-Glucósido (**19**).



Tomado de: TSUKASA IWASHINA 2012.

Se destaca también que en los extractos de EHP y ECP se detectaron como mayoritarios Kaempferol-3-O-glucósido y Kaempferol-3-O-hexosido (picos 21 y 23), no identificados en el EGP. Este tipo de flavonoles incoloros han mostrado

<sup>136</sup> TSUKASA IWASHINA., Sergey V., Oyunchimeg Damdinsuren., Katsuhico Kondo. Flavonoids from *Reaumuria Soongarica* (tamaricaceae) in Mongolia. En: Bull. Natl. Mus. Nat. Sci, 2012, vol.38(4), p. 189-195.

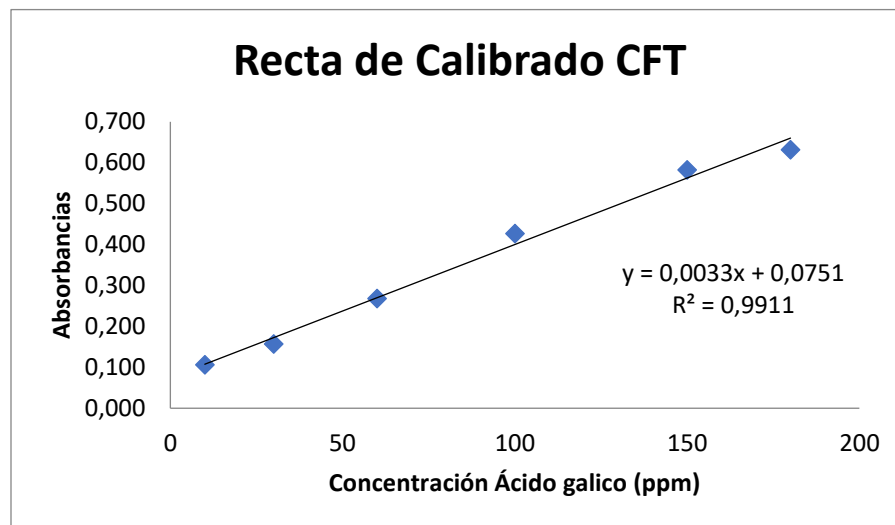
<sup>137</sup>GARCIA ROSARIO., Aguilar Leonor., Soto Marcos., Nieto Raúl., Geoffrey Kite. TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS, FLAVONOIDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN THE FLOWERS OF *Crataegus* spp. FROM MÉXICO, En: Agrociencia, 2012, vol. 46, p. 651-662.

efectos antioxidantes y antiinflamatorios<sup>138</sup>, que se usan principalmente en el tratamiento de enfermedades crónicas<sup>139</sup>.

## 7.5. CUANTIFICACION DE FENOLES TOTALES (CFT).

Para la cuantificación del CFT se utilizó el método de Folin-Ciocalteu, como control positivo se utilizó el ácido gálico. Mediante el método de regresión por mínimos cuadrados se obtuvo la ecuación de correlación del modelo lineal, en la figura 26 se muestra la representación gráfica de la recta de calibrado.

Figura 26. Recta de calibrado para la determinación de fenoles totales (CFT).



La concentración de fenoles totales presente en los extractos crudos, purificados y fracciones, se determinó mediante interpolación utilizando la ecuación  $y = 0,0033x + 0,0751$  ( $r: 0,9911$ ). Se encontró una correlación entre los datos estadísticamente significativa (valor- $P < 0,05$ ) con un nivel de confianza del 95%. Los datos se expresaron como mg de Ácido Gálico/g de extracto. En la tabla 12 se muestra el CFT para las muestras.

<sup>138</sup> LISU WANG., *et al*, Distinctive Antioxidant and Antiinflammatory Effects of Flavonols, En: Agricultural and Food chemistry, 2006, vol. 54, p. 9798-9804.

<sup>139</sup> LIU R. Whole grain phytochemicals and health. J. Cereal Sci. 2007, Vol. 46, p. 207-219.

Tabla 12. Contenido fenólico total (CFT), Antocianinas monoméricas totales (AMT) y actividad antioxidante TEAC y DPPH.

	<b>EXTRACTO</b>	<b>CFT mg EAG/g Extr.</b>	<b>AMT CY 3-glu/g Extr.</b>	<b>TEAC mM trolox/g Extr.</b>	<b>DPPH EC<sub>50</sub></b>
<b>Corontas</b>	<i>ECC</i>	37,53 ± 3,20	63,66 ± 2,44	2,24 ± 0,134	61,28 ± 0,64
	<i>ECP</i>	<b>318,09 ± 4,30</b>	<b>173,86 ± 0,02</b>	<b>4,04 ± 0,296</b>	<b>17,43 ± 0,46</b>
	<i>FCM30%</i>	194,48 ± 1,60	---	3,14 ± 0,053	---
	<i>FCM60%</i>	241,00 ± 4,03	---	3,91 ± 0,094	---
	<i>FCA60%</i>	295,29 ± 1,52	---	3,97 ± 0,153	---
<b>Hojas</b>	<i>EHC</i>	25,798 ± 4,52	36,98 ± 2,43	2,14 ± 0,301	63,56 ± 2,56
	<i>EHP</i>	260,2 ± 2,73	46,54 ± 5,51	3,88 ± 0,118	39,79 ± 0,62
	<i>FHM30%</i>	145,19 ± 3,94	---	2,70 ± 0,044	---
	<i>FHM60%</i>	229,07 ± 2,49	---	3,88 ± 0,044	---
	<i>FHA60%</i>	253,47 ± 3,11	---	3,86 ± 0,056	---
<b>Granos</b>	<i>EGC</i>	21,38 ± 4,24	24,41 ± 0,99	1,36 ± 0,103	142,42 ± 4,01
	<i>EGP</i>	239,74 ± 6,97	41,71 ± 2,92	3,61 ± 0,258	46,66 ± 0,19
	<i>FGM30%</i>	104,79 ± 6,55	---	2,59 ± 0,064	---
	<i>FGM60%</i>	195,57 ± 3,79	---	3,60 ± 0,426	---
	<i>FGA60%</i>	216,78 ± 3,82	---	3,52 ± 0,211	---

**CORONTAS:** *ECC*: Extracto crudo de Coronta, *ECP*: Extracto purificado de coronta, *FCM*: Fracción coronta metanol.

**HOJAS:** *EHC*: Extracto crudo de hoja, *EHP*: extracto purificado de hoja, *FHM*: Fracción hoja metanol.

**GRANOS:** *EGC*: Extracto crudo de grano, *EGP*: Extracto purificado de grano, *FGM*: Fracción grano metanol.

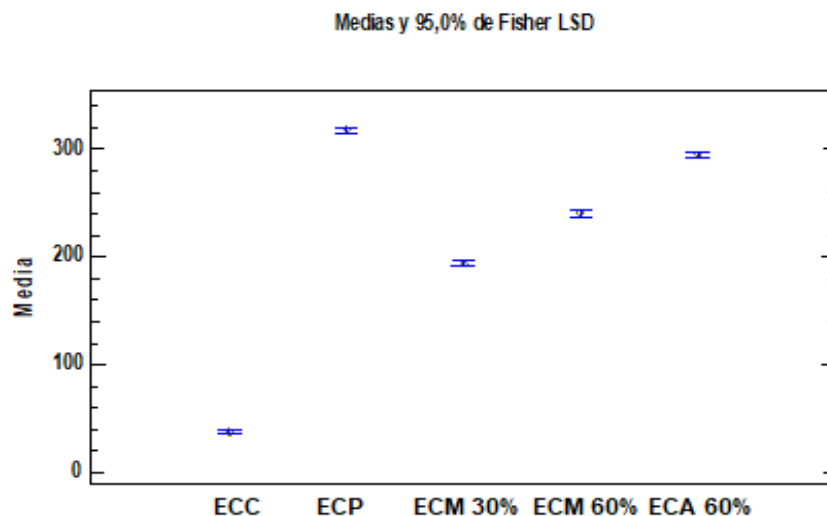
**AMT:** Antocianinas Monoméricas Totales, **CFT:** Contenido Fenólico Total, **TEAC:** Actividad Antioxidante equivalente a Trolox.

Fuente. Esta investigación.

El análisis de los datos muestra que los extractos purificados de todas las muestras (*ECP*, *EHP* y *EGP*) son los que presentan el mayor CFT. Esto demuestra la eficiencia del proceso de purificación mediante retención selectiva sobre amberlita XAD-7. Para comprobar la existencia de diferencias significativas entre las muestras, se utilizó la prueba de múltiples rangos, basado en procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Esto permitió establecer que *ECP* presenta el mayor CFT (318,09 mg EAG/g extracto). Este procedimiento igualmente permitió establecer que entre las muestras aisladas de la coronta es el extracto crudo (*ECC*) muestra el menor CFT y los extractos purificados de coronta y sus respectivas fracciones (*ECP*, *FCM30%*, *FCM60%*, *FCA60%*) presentan un CFT que difiere entre las muestras. En la figura 27 se muestra el gráfico de medias para el CFT. Los resultados de hojas y granos se pueden observar los Anexos C y D.



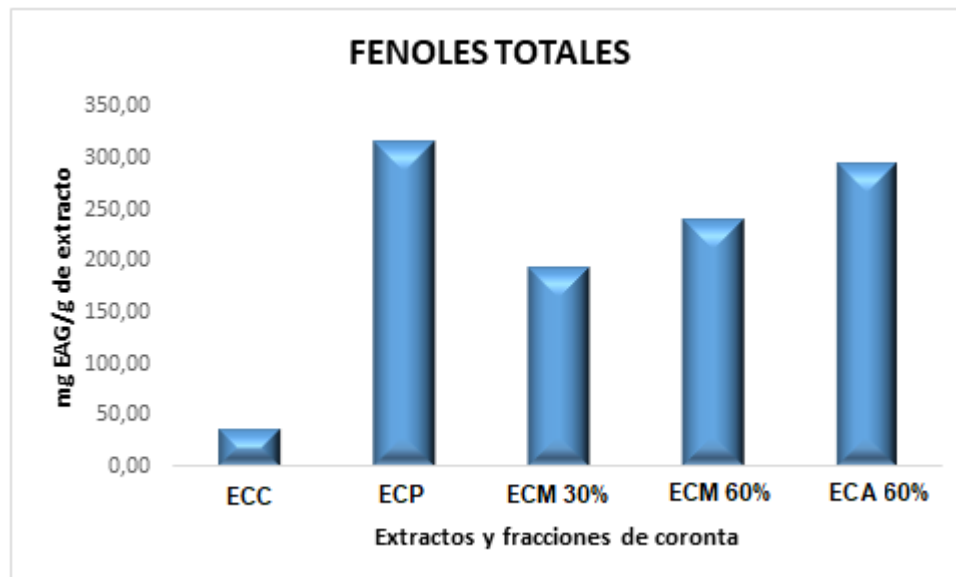
Figura 27. Gráfico de medias para el CFT de las muestras de coronta ECC, ECP y sus fracciones CM30%, CM60% y CA60%.



Fuente. Esta investigación.

En la tabla 12 se evidencia que entre las fracciones de coronta el mayor CFT lo presenta la fracción más retenida eluída con acetona FCA60% (295,29 mg EAG/g extracto) en Sephadex LH-20 ( $p < 0,05$ , nivel de confianza 95%) (gráfica 2). Mediante la prueba de múltiples rangos se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre las fracciones. Se observa claramente que el CFT de las fracciones más livianas de coronta eluídas con metanol al 30% y al 60% (FCM30% y FCM60%) es menor al mostrado por la fracción eluída con acetona (FCA60%). Cabe resaltar que las fracciones más retenidas eluídas con acetona al 60% (mayor peso molecular) de hoja y granos muestran la misma tendencia, donde las fracciones más livianas de hoja (FHM30% y FHM60%) y grano (FGM30% y FGM60%) tienen un CFT menor.

Grafica 2. CFT de ECC, ECP y fracciones CM30%, CM60% y CA60%.



Fuente. Esta investigación.

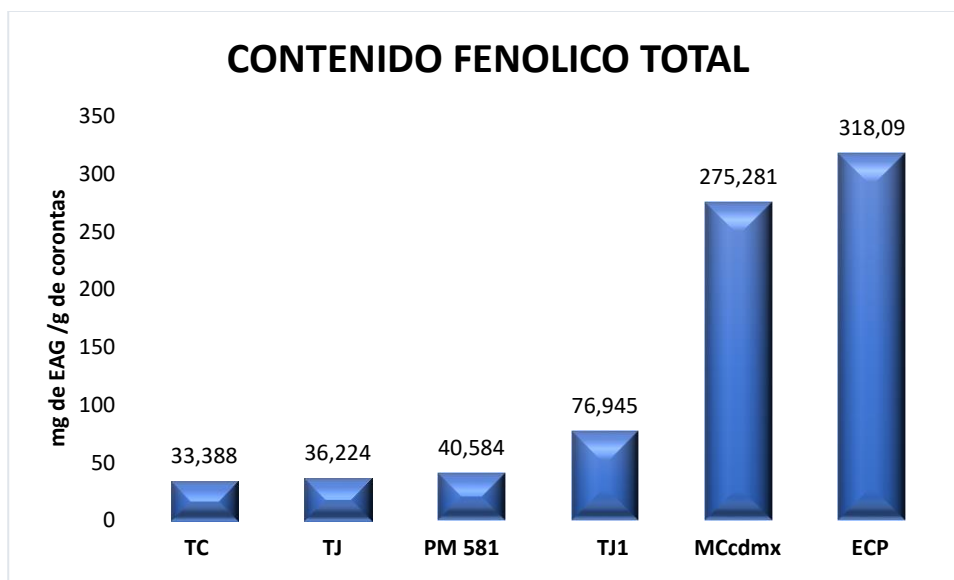
De los resultados mostrados, de su análisis y de su discusión, se pueden obtener las siguientes conclusiones con respecto a los polifenoles aislados del maíz morado *Zea mays L*: el proceso de purificación permitió enriquecer significativamente el contenido de polifenoles en las diferentes muestras aisladas. El material vegetal con el mayor CFT es la coronta, además, en todos los casos la fracción de polifenoles de mayor peso molecular (más retenidas) aislada por CET son las que presentan el mayor CFT, la mayor concentración la presentó la fracción aislada de la coronta eluída con acetona. (FCA60%, 295,29 mg EAG/g extracto).

Al comparar el CFT de la coronta con respecto a investigaciones similares<sup>140 141</sup> sobre el mismo material vegetal se deduce que con respecto a otras variedades de maíz esta muestra es una potencial fuente de compuestos bioactivos.

<sup>140</sup> ZHENDONG YANG ., W. Z Op. Cit. p. 170.

<sup>141</sup> QUISPE FREDY., Arroyo Karim., Gorriti Arilmí. Op. Cit. p. 208

Grafica 3. CFT de corontas del presente estudio frente al CFT de otros estudios de coronta de maíz morado.



Cultivares TJ (Testigo Joya), TJ1 (Cultivado en diferente cosecha), TC (Testigo Canta), PM (Productores de semillas) Perú y (MC) México, ECP (Extracto purificado de coronta).

Como se observa en la gráfica 3, el valor de CFT de la coronta usada en esta investigación (ECP) supera en gran medida a los valores hallados en diversos estudios. Se comparan dos cultivares diferentes (TJ y TC) y una muestra comercial de maíz morado (MC)<sup>142</sup> (México), cabe mencionar que las muestras TJ y TJ1 fueron tomadas en diferentes cosechas y en diferentes investigaciones<sup>143</sup>. La grafica 3 muestra que el CFT de ECP es superior a los demás estudios realizados con un valor de 318,09mg de EAG/g de Extracto. Se debe recalcar que estas diferencias podrían atribuirse no solo a la composición fenólica de cada variedad de maíz morado, sino a las variaciones en el proceso de extracción (solvente usado: Etanol al 20% y pH 2, tiempo 60 min y temperatura 90°C)<sup>144</sup>.

<sup>142</sup> QUISPE FREDY., Arroyo Karim., Gorriti Arilmí. Características morfológicas y químicas de 3 cultivares de maíz morado (*Zea mays L.*) en Arequipa – Perú. 2011, vol. 8, p. 205-211.

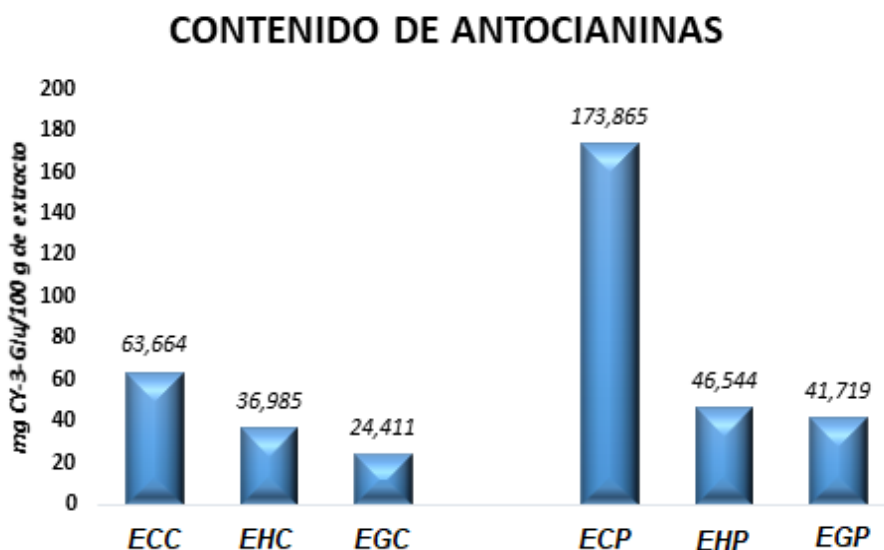
<sup>143</sup> GORRITI ARILMI., et. al. Op. Cit. p. 514..

<sup>144</sup> QUISPE FREDY., Arroyo Karim., Gorriti Arilmí. Op. Cit. p. 208

## 7.6. DETERMINACION DE ANTOCIANINAS MONOMERICAS TOTALES (AMT)

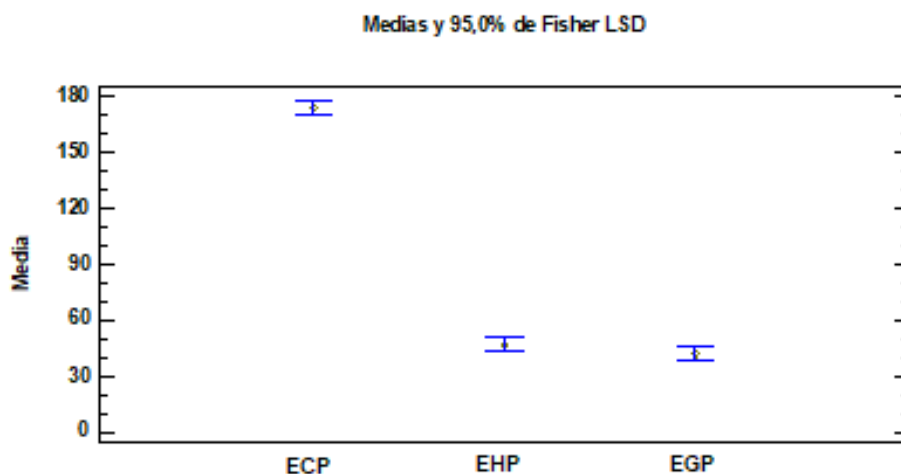
Como se mencionó en la metodología, para determinar el contenido de antocianinas monoméricas se usó el método del pH diferencial. En la tabla 12 se muestra el resultado de antocianinas monoméricas totales para los extractos crudos (ECC, EHC y EGC) y purificados (ECP, EHP y EGP) de las diferentes muestras aisladas de *Zea mays L.* los datos se expresaron en mg de cianidina 3-glu/g de extracto.

Gráfica 4. Contenido de antocianinas monoméricas totales (AMT) en los extractos crudos y purificados.



Mediante la prueba de múltiples rangos, basado en el procedimiento de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher, se comprobó que existen diferencias estadísticamente entre el contenido de antocianinas monoméricas totales (AMT) de los extractos crudos (anexo E) y purificados. Se determinó además que el extracto purificado de coronta ECP presenta el mayor contenido de AMT (173,86 mg de cianidina 3-glu/g de extracto. Estos datos están en correspondencia con el mayor CFT hallado para este extracto. En la figura 28 se observa el gráfico de medias (prueba de múltiples rangos) para el contenido de AMT de los extractos purificados.

Figura 28. Gráfico de medias (prueba de múltiples rangos) para el contenido de AMT de los extractos purificados aislados de los granos, hojas y coronta.



Fuente. Esta investigación.

## 7.7. DETERMINACION DE ANTOCIANINAS POLIMERICAS

Se estableció que las antocianinas poliméricas presentan resistencia a la decoloración al reaccionar con metabisulfito de sodio, por lo que las absorbancias a la longitud de onda máxima y a 420nm corresponden únicamente a las antocianinas poliméricas. en la tabla 13 se observan el contenido de antocianinas poliméricas expresados en % del color polimérico.

Tabla 13. Contenido de antocianinas poliméricas expresadas en % de color polimérico de extractos crudos y purificados de granos, hojas y corontas de maíz morado.

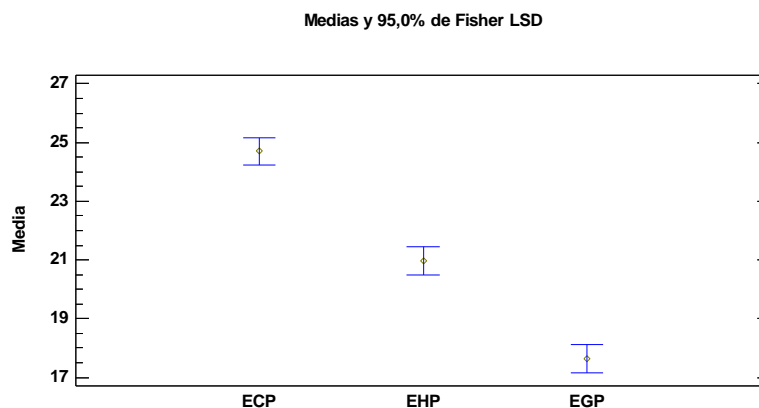
	ANTOCIANINAS POLIMÉRICAS		
	<i>Densidad del color</i>	<i>Color polimérico</i>	<i>% Del color polimérico</i>
<b>EGC</b>	94,71 ± 1,67	13,48 ± 0,45	14,23 ± 0,47
<b>EGP</b>	123,34 ± 2,74	21,76 ± 0,48	17,64 ± 0,09
<b>EHC</b>	92,73 ± 0,74	19,24 ± 0,07	20,75 ± 0,22
<b>EHP</b>	85,78 ± 0,53	17,99 ± 0,15	20,97 ± 0,31
<b>ECC</b>	60,14 ± 1,95	13,95 ± 0,52	23,19 ± 0,40
<b>ECP</b>	115,60 ± 0,68	28,60 ± 0,76	24,70 ± 0,76

Fuente. Esta investigación.

El contenido de antocianinas poliméricas para el ECP expresado en porcentaje de color polimérico es de  $24,70 \pm 0,76$ , se puede evidenciar que el aumento del valor en el extracto purificado de cada muestra se debe principalmente al aumento del contenido de antocianinas poliméricas después del proceso de purificación, lo cual se ve reflejado en la estabilidad del color del extracto.

Usando el gráfico de medias se estableció que el ECP presenta diferencias estadísticamente significativas en comparación con los EP de hojas y granos con un 95% de confianza.

Figura 29. Gráfico de medias (prueba de múltiples rangos) para el contenido de antocianinas poliméricas de los extractos purificados aislados de los granos, hojas y coronta.



Fuente. Esta investigación.

## 7.8. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE LOS EXTRACTOS CRUDOS Y PURIFICADOS DE MAÍZ MORADO.

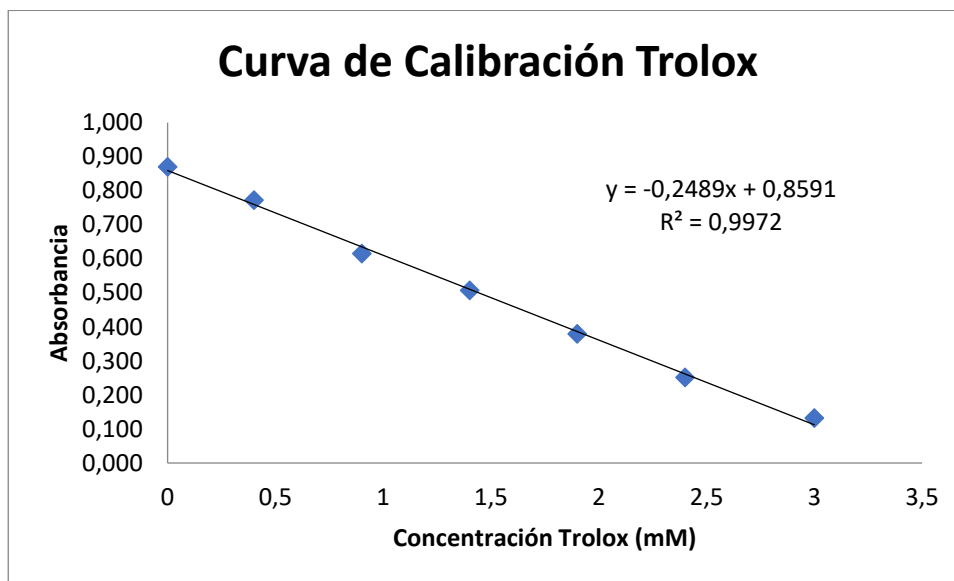
### 7.8.1. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EQUIVALENTE A TROLOX (ABTS)

Para la determinación de la actividad antioxidante de los extractos de maíz morado se usó el método ABTS.

Inicialmente se construyó una curva de calibración utilizando como antioxidante patrón el Trolox (Ácido 2,2'-azino- bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS)).

Mediante el método de regresión por mínimos cuadrados se obtuvo la ecuación de correlación del modelo lineal. La representación de la gráfica de la recta de calibrado se muestra en la figura 30.

Figura 30. Curva de calibración TEAC: (Absorbancia vs Concentración de Trolox).

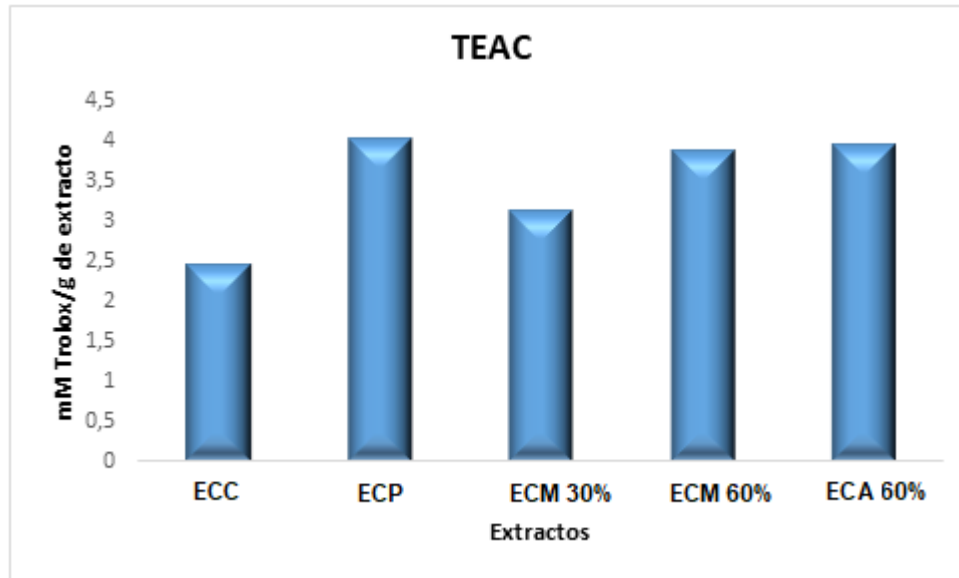


Fuente. Esta investigación.

Usando la anterior curva de calibración, se determinó mediante interpolación la capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC), de los diferentes extractos. Del análisis estadístico de los valores TEAC de las muestras se observó que los extractos purificados (ECP, EHP y EGP) de todas las muestras de *Zea mays L.* presentan mayor capacidad antioxidante (nivel de confianza 95%) que los correspondientes extractos crudos (ECC, EHC y EGC), estableciendo que el extracto purificado de coronta (ECP) presentó el mayor valor TEAC (4,01 mM trolox/g extracto). Se destaca también que en todos los casos las fracciones más pesadas eluidas con metanol al 60% y acetona 60%, tienen el mayor valor TEAC, mostrando para la fracción más pesada de coronta FCA60% (fracción eluida con acetona) una capacidad antioxidante de 3,97 mM trolox/g extracto. (Tabla 12). La mayor capacidad antirradical de las fracciones más pesadas sugiere la presencia de compuestos tipo polimérico posiblemente procianidinas

y polifenoles del tipo tanino<sup>145</sup>. En la gráfica 5 se muestran los valores TEAC de las diferentes fracciones de coronta. Los valores TEAC de hojas y granos se muestran los anexos F y G.

Grafica 5. Valores TEAC de los extractos de coronta y las fracciones aisladas mediante cromatografía de exclusión por tamaño.



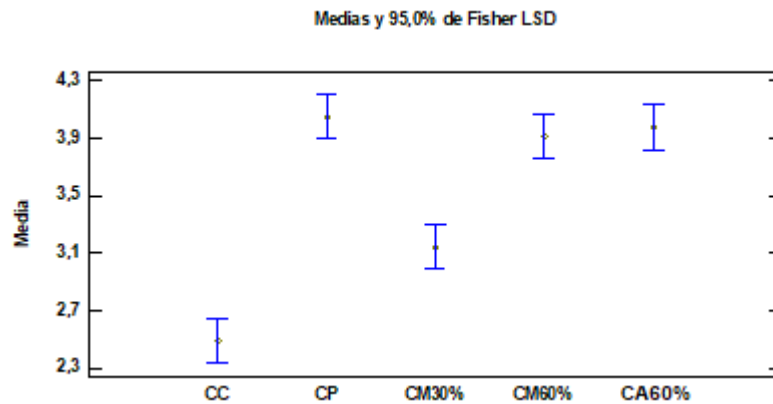
Fuente. Esta investigación.

Además, mediante la prueba de múltiples rangos (figura 31), se estableció que existen diferencias entre los valores TEAC del extracto crudo de coronta ECC y la fracción eluída con metanol al 30% (FCM30%), por el contrario, no existen diferencias estadísticamente significativas cuando se comparan los valores TEAC del extracto purificado ECP y las fracciones con metanol y acetona al 60% (CM60% y CA60%) a un nivel de confianza del 95%. (Anexo H extractos purificados y fracciones de hojas y granos). Lo cual indica que el proceso de purificación resulto exitoso, pudiendo concentrar de esta forma los analitos de interés. No fue posible comparar los resultados obtenidos en la presente investigación frente a otros estudios realizados con el mismo material vegetal ya que las condiciones de extracción no son similares.

<sup>145</sup> BASANTE JESSICA. Op. Cit., p. 114



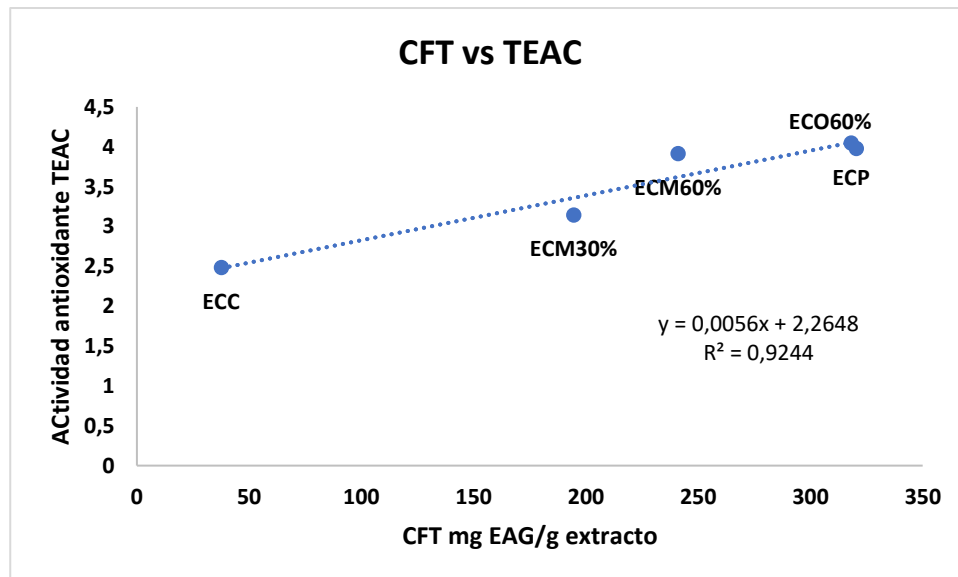
Figura 31. Gráfico de medias de los valores TEAC para las muestras de coronta ECC, ECP y sus fracciones CM30%, CM60% y CA60%.



Fuente. Esta investigación.

Se destaca además que los valores TEAC siguen la misma tendencia del CFT, en la figura 32 se observa una clara relación entre el CFT y la actividad antioxidante TEAC ( $r^2$ : 0,9244).

Figura 32. Relación entre el CFT y los valores TEAC de las muestras de coronta.

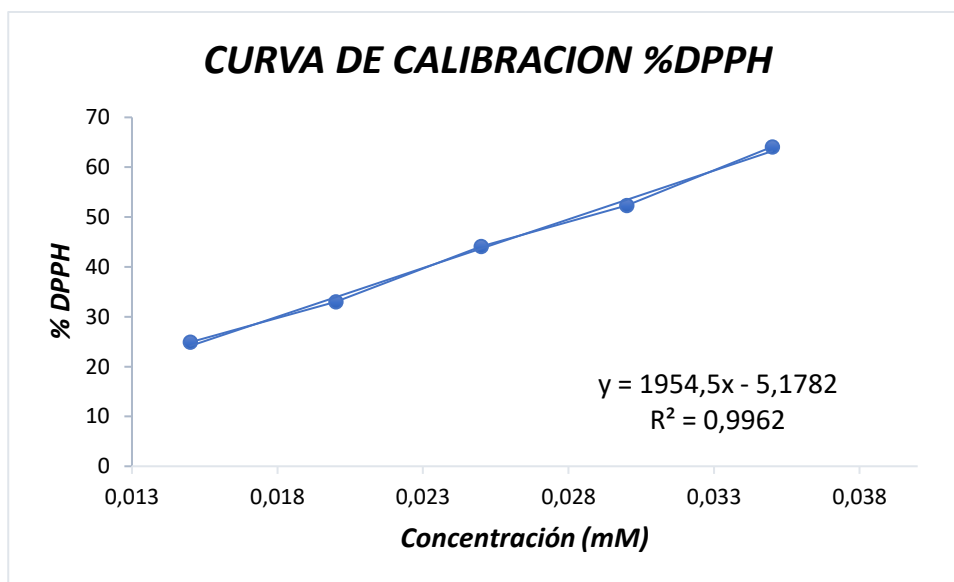


Fuente: Esta investigación.

## 7.8.2. CAPACIDAD ANTIRADICAL DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) DE LOS EXTRACTOS CRUDOS Y PURIFICADOS.

Siguiendo la metodología planteada, inicialmente se construyó una curva de calibración que relaciona la concentración de DPPH Vs Absorbancia. La ecuación de correlación encontrada fue  $y = 1954,5x - 5,1782$  ( $R = 0,9962$ ), donde  $y$  es la absorbancia medida a 515 nm y  $x$  es la concentración de DPPH en mmol /L. La representación gráfica de la curva de calibrado se muestra en la figura 33.

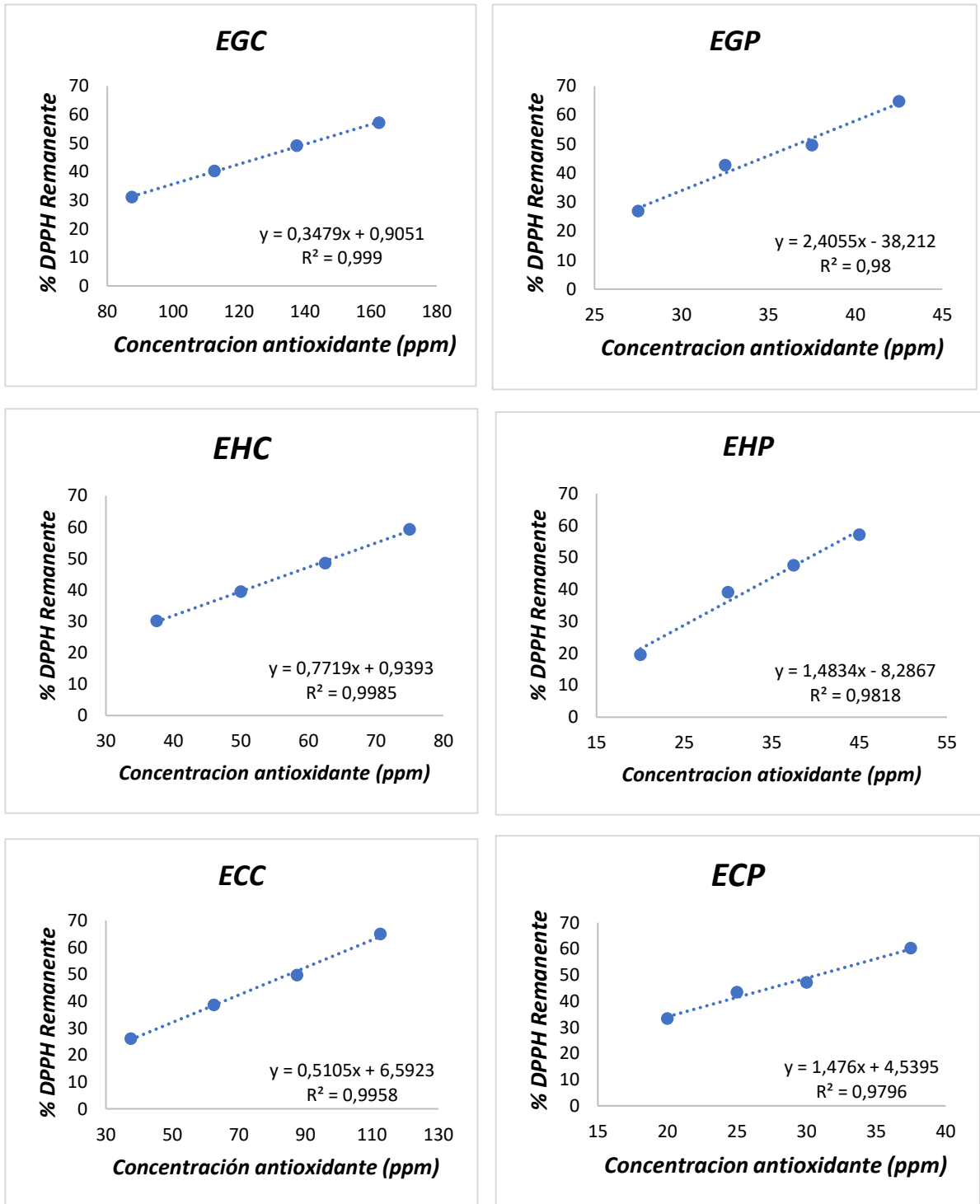
Figura 33. Curva de calibración DPPH.



Fuente. Esta investigación.

El porcentaje de DPPH remanente para cada muestra se determinó por interpolación en la ecuación de la recta. Con estos datos se construyeron las gráficas de porcentaje DPPH remanente vs concentración de antioxidante (mg/ml), como se muestra en la figura 34. La cual se expresó como % DPPH remanente/concentración de antioxidante (ug/ml).

Figura 34. Graficas de porcentaje de DPPH remanente vs la concentración de antioxidante para los extractos crudos de granos, hojas y corontas.



Con las gráficas de porcentaje de DPPH remanente vs la concentración de antioxidante, se determinó el  $EC_{50}$  (concentración de los extractos vegetales activos necesaria para disminuir en un 50% la concentración inicial del radical DPPH). Con respecto a los valores  $EC_{50}$ , se considera que cuando las muestras tienen valores menores a  $30\mu\text{g/mL}$  son altamente antioxidantes, si las muestras tienen valores en un rango entre  $30\mu\text{g/mL}$  y  $100\mu\text{g/mL}$  tienen una moderada actividad antioxidante y aquellos con un  $EC_{50}$  por encima de  $100\mu\text{g/mL}$  tienen bajo potencial antioxidante<sup>146</sup>. En la tabla 12 se muestra los valores para los extractos crudos y purificados de granos, hojas y corontas de maíz morado.

La concentración media inhibitoria encontrada para las diferentes muestras es comparable con la reportada por Josh *et al.*, (2010) para la quercetina, compuesto caracterizado por sus propiedades antioxidantes; con un valor de  $EC_{50}$  de  $31\mu\text{g/mL}$ <sup>147</sup>. Estas escalas de referencia muestran que el extracto purificado de coronta ECP presenta una alta actividad antioxidante, mientras que los extractos purificados de hojas y corontas presentaron un potencial antioxidante moderado (entre  $30\mu\text{g/mL}$  y  $100\mu\text{g/mL}$ ).

Los datos de  $EC_{50}$  para las diferentes muestras evidencian un comportamiento igual al observado por el método TEAC, es decir los extractos purificados (EGP, ECP, EHP) tienen mayor actividad antioxidante que los respectivos extractos crudos (ECG, ECC, ECH), encontrando igualmente que el extracto purificado de coronta ECP presenta la mayor actividad antioxidante ( $EC_{50}$ :  $17,42\mu\text{g/mL}$ ) (figura 34). Este valor es comparable al publicado en la literatura científica para el BHT ( $EC_{50}$  de  $11,5\mu\text{g/mL}$ )<sup>148</sup>, en la figura 35 se presenta el gráfico de medias para los extractos purificados los resultados de los valores  $EC_{50}$  de los extractos crudos se muestran en el Anexo I.

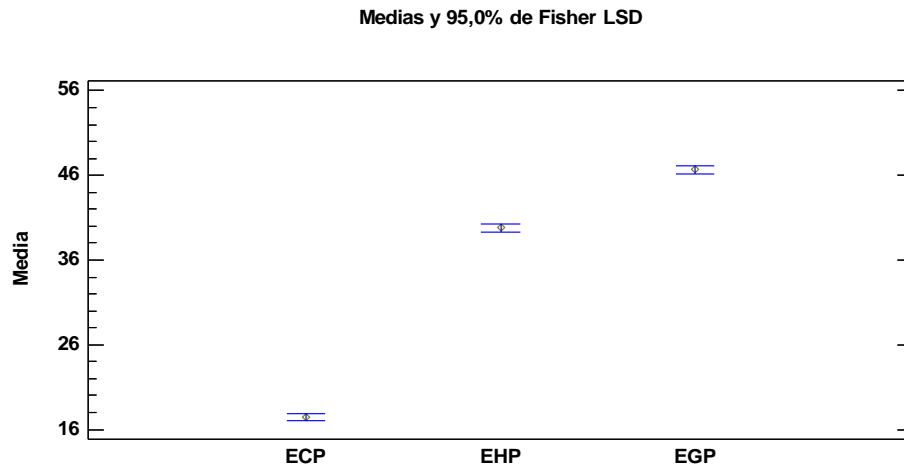
---

<sup>146</sup> RAMOS A., Vizoso A., Piloto J., García A., Rodríguez C.A., Rivero R. Screening and antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*; 82003, vol. 7, p. 241-246.

<sup>147</sup> JOSHI S., Verma A., Mathela C. Antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, vol. 48, p. 37–40.

<sup>148</sup> TRABELSI N., et. al. Isolation of powerful antioxidants from the medicinal halophyte *Limoniastrum guyonianum*. *Food Chemistry*; 2012, vol. 135, p. 1419-1424.

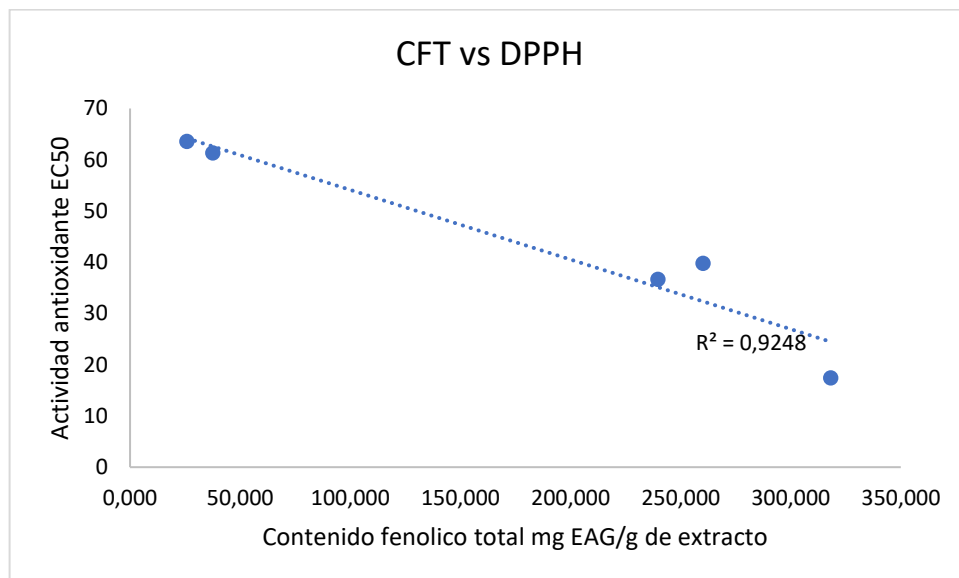
Figura 35. Grafico de medias para los valores EC<sub>50</sub> de los extractos purificados de granos, hojas y corontas de maiz morado.



Fuente. Esta investigación.

Fue evidente también la existencia de correlación entre el CFT y los valores EC<sub>50</sub>. En la figura 36 se presenta la relación entre los resultados del ensayo CFT y el ensayo DPPH para los extractos crudos y purificados.

Figura 36. Gráfica de correlación entre los ensayos CFT y DPPH para los extractos crudos y purificados.



Fuente. Esta investigación.

Se observa además que los extractos que presentan valores altos de contenido fenólico total son los que presentan la mayor actividad antioxidante frente al radical DPPH, con valores bajos de  $EC_{50}$  indican una alta actividad antioxidante

Así, los datos de actividad antiradical (ABTS y DPPH) demuestran que los diferentes extractos aislados de de *Zea mays L* son una potencial fuente de antioxidantes naturales.

## 8. CONCLUSIONES

- Los extractos purificados de todas las muestras (ECP, EHP y EGP) presentan el mayor contenido fenólico total (CFT), esto demuestra la eficiencia del proceso de purificación mediante retención selectiva sobre Amberlita XAD-7. El material vegetal con el mayor contenido fenólico total CFT es la coronta, además, en todos los casos la fracción de polifenoles de mayor peso molecular (más retenida), aislada por cromatografía de exclusión por tamaño, son las que presentan el mayor CFT. El mayor CFT lo presentó la fracción aislada de la coronta (FCA60%, 295,29 mg EAG/g extracto).
- La coronta del maíz morado (ECP) presenta la mayor concentración de antocianinas (173,86 mg de cianidina 3-glu/g de extracto),. La antocianina mayoritaria en los tres extractos ECP, EHP y EGP es la

- cianidina-3-O-glucósido, con una concentración de aproximadamente el 30% del contenido de antocianinas totales. Se destaca además que las hojas y la coronta está más enriquecida en Cianidina-3-O-malonil-hexosido (aprox. 23%) y peonidina-3-glucósido (aprox. 15%), mientras que en los granos de maíz estos componentes están en concentraciones del orden de 13% y 6% respectivamente.
- En las hojas y coronta se detectó una muy baja proporción de (epi)catequina (4-8)-pelargonidina-3,5-diglucósido (%Ar. 0,072), mientras que en los granos este compuesto está en una concentración aproximada de 11,5, en los granos no se detectaron Pelargonidin-3-O-glucoside, Cyanidin-3-O-malonyl-glucoside, Pelargonidin-3-O-(6"-malonylglucoside), Peonidin-3-O-(6"-malonylhexoside), Pelargonidin-3-O-(3", 6"-dimalonylhexoside) y Peonidin-3-O-(3", 6"-dimalonylhexoside).
- El análisis de la composición de otros flavonoides incoloros en los diferentes extractos (ECP, EHP y EGP) permitió establecer que los extractos EGP y ECP están más enriquecidos en quercetina-3-rutinósido, 51,6 y 27% respectivamente. En el EHP el componente mayoritario es la Quercetin-3-O-glucoside (28,1%). Se destaca también que en los extractos de EHP y ECP se detectaron como compuestos mayoritarios Kaempferol-3-O-glucoside y Kaempferol-3-O-hexosido, no identificados en el EGP. Este tipo de flavonoles incoloros han mostrado efectos antioxidantes y antiinflamatorios.
- El análisis estadístico de la capacidad antirradical (ABTS y  $EC_{50}$ ), permitió establecer que los extractos purificados (ECP, EHP y EGP) de todas las muestras de *Zea mays L* presentan una mayor capacidad antioxidante que los correspondientes extractos crudos (ECC, EHC y EGC). Se determinó que el extracto purificado de coronta (ECP) tiene el mayor valor TEAC (4,01 mM trolox/g extracto) y el menor  $EC_{50}$  (17,43 mg/ml). Se destaca también que las fracciones de mayor peso molecular (las eluidas con metanol al 60% y acetona 60%), aisladas de la coronta, hojas y granos son las más antioxidantes.
- Para los diferentes extractos se encontró una correlación lineal entre el contenido fenólico total y la actividad antioxidante (TEAC y DPPH).



- Al comparar los resultados de CFT, AMT y actividad antioxidante obtenidos en la presente investigación con otros antioxidantes, se estableció que los residuos generados por su consumo (coronta y hojas) son una potencial fuente de compuestos bioactivos, importantes para la industria alimentaria y farmacéutica.

## 9. RECOMENDACIONES

- Se recomienda profundizar en la caracterización química de las fracciones más antioxidantes (fracción de mayor peso molecular) aisladas de *Zea mays L*, es decir la fracción polimérica, la que puede estar constituida por proantocianidinas con diferente grado de polimerización.
- Con el fin de identificar de forma inequívoca la totalidad de los compuestos presentes en el maíz morado, se recomienda purificar los componentes mayoritarios mediante HPLC – preparativa y posteriormente realizar análisis de RMN mono y bidimensional.
- Se recomienda evaluar en los diferentes extractos otros tipos de actividad biológica: antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria, entre otros, que son característicos del tipo de compuestos caracterizados en esta investigación.

## 10. REFERENCIAS

- ABDEL AAL., E. M. Compositional and antioxidant properties of anthocyanin-rich products prepared from purple wheat. en Food Chemistry, (2018), vol.254, p.1-30.
- ANDERSEN, Ø. M. J., M. The anthocyanins. En Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications. En: CRC Taylor and Francis: Boca Raton, FL, 2005. P. 471.
- ARN, AO M.B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. Trends Food Sci. Technol., 2000, vol. 11, p. 419-421.
- ATMANI, D. *et al.* Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of Clematis flammula leaf extracts. J. Med. Plants Res. 2011, Vol.5:, p. 589-598.
- AVALOS, G, Adolfo y PEREZ U, Elena. Metabolismo secundario de plantas. En. Reduca Serie Fisiología Vegetal. 2009. Vol. 2, no. 3, p. 119-145.
- BALASUNDRAM, N. *et al.* Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. En: Food Chemistry, 2006. vol. 99, p. 191–203.
- BASANTE, J. Estudio de la composición y actividad antioxidante *in vitro* de la fracción polifenólica de subproductos de aguacate (*Persea americana* mil), semilla y epicarpio. Tesis de pregrado en Química. Colombia- San Juan de Pasto. Universidad de Nariño, 2016.
- BASDEVANT, A, Cudennec CA, Lehner JP. Health foods: definitions, status, public health. Round table, 2000, vol. 55, p.60.
- BENITEZ, TT. Caracterización morfológica y térmica del almidón de maíz (*Zea mays* L) obtenido por diferentes métodos de aislamiento. Tesis Lic. Hidalgo. MX: UAEH 78 p. 2008.
- BOLIVAR, A. Cevallos Casals L. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. En: food chemistry, 2004, p.69-77.

- BRIDGERS, E. N.; CHINN, M.S.; TRUONG, V.D. Extraction of anthocyanins from industrial purple-fleshed sweetpotatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars. *Industrial Crops and Products*, 2010, Vol. 32 (3): p. 613–620.
- BRIDGERS, E., C. M., Truong VD. Extraction of anthocyanins from industrial purple-fleshed sweet potatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars. *Industrial Crops and Products*, 2010. Vol. 32, p. 613–620.
- CALLEJO, M. “industrias de cereales y derivados”, editorial mundo-Prensa libros, S.A, Madrid, España, 2002. p.18, 19.
- CARABALLOSO, V., *et al.*. Divergencia en poblaciones de maíz nativas de valles altos de México. *Agrociencia*, 2000 Vol. 34, núm. 002, p. 167-174.
- CARDONA, C. *et al.*. Producción de etanol carburante: material lignocelulósico una nueva alternativa Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente, 2005, Vol. II, núm. 1, 5 p. 47- 55.
- CHASE, A. & Z. Luces de Febres. Primer libro de las gramíneas. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, Lima, 1972.
- CHIGUACHI, D., García M. Diagnóstico de maíces criollos de Colombia; Región Andina: Cauca y Nariño, en: *Semillas de identidad*, 2013, p. 1-30.
- CLAYTON, W. D. & S. A. Renvoize. *Genera Graminum: Grasses of the World*. Kew Bull., Royal Botanic Gardens, Kew, 3era. Edición, 1999, Additional series 13, p.1-389.
- CORONADO, MARTA., *et al.* Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana *Rev Chil Nutr.* 2015, Vol. 42, N°2, p. 206-212.
- CUBERO, N., Monteferrer, A. y Villalta, J. “Aditivos alimentarios” Colección tecnología de alimentos, Ediciones Mundi-prensa, Madrid, España, 2002, p. 1-240.
- CUEVAS MONTILLA E., Hillebrand, S., Antezana A., & Winterhalter P. Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn (*Zea mays L.*) cultivars. *J Agric Food Chem*, 2011. Vol. 59(13), p. 7068-7074.
- CUEVAS MONTILLA E., Hillebrand, S., Antezana A., & Winterhalter P., *Op. Cit.*, p. 7071.

- DE PASCUAL-T., Celestino B. y C. Rivas G. LC–MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. En: Journal of the Science of Food and Agriculture, 2002. vol. 22, p. 1003-1006.
- DE UGAZ, O. L. S. Colorantes naturales. Fondo Editorial PUCP, 1997, vol. 12, p. 1-274.
- DELGADO F., P, O. Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses. Boca Raton: CRC Press, 2002.
- DELGADO V, A. R. Paredes-López Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2000, Vol. 40:3, p. 173-289.
- EL-SAYED M., IWONA Rabalski. Anthocyanin Composition in Black, Blue, Pink, Purple, and Red Cereal Grains. En: Agric. Food Chem, 2006. p. 4696-4704.
- ENRIQUEZ, E. Extracción y caracterización química de principios activos de estructura fenólica con propiedades antioxidantes y antifúngicas (hongos dermatofitos), a partir del fruto de sancía coriaria ruscifolia l. Tesis de pregrado en Química. Colombia- San Juan de Pasto. Universidad de Nariño, 2017.
- FLOEGEL, A, *et al.* Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. En: Journal of Food Composition and Analysis. 2011. Vol. 24, p. 1043–1048.
- FLORES A E., & Flores, E. Estabilidad de Antocianinas, Fenoles totales y Capacidad Antioxidante de Bebidas de Maíz Morado (*Zea mays L.*) y Uña de Gato (*Uncaria tomentosa sp.*). Información Tecnológica, 2018, vol. 29(2), 175–184.
- FRANCIS, F. Analysis of Anthocyanins. En: Anthocyanins as food colors, Pericles Markakis. New York. 1982, Capitulo 7. p. 182-207.
- FUKAMACHI, K., Imada T., Ohshima Y. Xu J., Tsuda H.. Purple corn color suppresses Rasprotein level and inhibits 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammarycarcinogenesis in the rat. Cancer Sci. 2008, Vol. 99: 1841–1846.
- GARZÓN, G. A. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. Acta Biológica Colombiana, 2008, Vol.13(3), p. 27-36.
- GARZÓN, G. A. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. Acta Biológica Colombiana, 2008, Vol. 13(3): p. 27-36.

- GIRALDO, D. Las gramíneas en Colombia: riqueza, distribución, endemismo, invasión, migración, usos y taxonomías populares. Biblioteca José Jerónimo Triana. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C. 2013, vol. 26, p. 1-386.
- GIUSTI, M. y R. Wrolstad, Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems, *Biochemical Engineering Journal*, 2001.
- GIUSTI, M.M y R. Wrolstad, Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems, *Biochemical Engineering Journal*: 2003, Vol. 14(3), p. 217-225
- GORRITI, A, Quiñones F., Arroyo JL, Córdova A, Jurado B, Santiago I, Taype E. Extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays L.* Maíz morado. En: *Ciencia e Investigación*, 2009. Vol. 12, p. 64-74.
- GORRITI, ARILMI., et. al. Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (*Zea mays L.*): Método de extracción, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marco, Lima, Perú. 2009, Vol. 8(6), p. 509-518.
- GROSS, J. *Pigments in Fruits*. Academic Press, 1987, London, p. 59-85.
- GUILLÉN, JHOSELINE., Arismendi Sigry., Paucar Luz María. Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays L.*) var. Subnigroviolaceo, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Santa, Ancash-Perú. 2014, vol. 5, p. 211-217.
- HAGIWARA, A., *et al.* 2001. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5b]pyridine(PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Letters*, 2001, vol. 171 (1), p.17–25.
- HALLIWELL, B. "Measuring Reactive Species and Oxidative Damage in vivo and in Cell Culture: ¿How Should you do it and what do the Results Mean?", *British Journal of Pharmacology*, 2004, p.142, 231-255.
- HALLIWELL, B. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British journal of pharmacology*, 2004, Vol.142(2), p. 231-255.

- HAN, K; *et al.* Anthocyanin rich purple potato flake extract has antioxidant capacity and improves antioxidant potential in rats. En: Br. J. Nutr. Res. 2006, vol. 96, p. 1125–1133.
- HARBORNE, J. B., R. Self. Malonated cyanidin 3 glucosides in Zea mays and other grasses. Phytochemistry, 1987, vol. 26, p. 417-2418.
- HUANG, D., “The Chemistry behind antioxidant capacity assays”, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005 p.1841-1856.
- HUTCHINGS, JH. Food Color and Appearance. 2nd ed. Gaithersburg, Md.: Aspen Publishers, Inc. 1999.
- IGLESIAS, J. Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de la pesca. Univ Santiago de Compostela. Tesis doctoral, 2009, p. 1-337.
- IGNAT, I. *et al.* A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. En: Food Chemistry, 2011. vol. 126, p. 1821–1835.
- JACOB, R. The integrated antioxidant system. Nutr. Res. 1995, vol. 15, p. 755–766.
- JING, P., J. A., He J., Magnuson B., Giusti M. Structure function relationships of anthocyanins from various anthocyanin-rich extracts on the inhibition of colon cancer cell growth. . J. Agric. Food Chem, 2008, vol. 56, p. 9391-9398.
- JORHEIM, M. Isolation, Identification and properties of pyranoanthocyanins and anthocyanin forms. Tesis Post-Doctor. Bergen: University of Bergen. Department of Chemistry, 2007, p. 85.
- JOSHI, S., Verma A., Mathela C. Antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species. Food and Chemical Toxicology, 2010, vol. 48, p. 37–40.
- KAJDŽANOSKA, M., Stefova Marina. HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> identification of phenolic compounds in cultivated strawberries from macedonia. Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering. 2010, Vol. 29, No. 2, pp. 181–194.
- KALRA, EK. Nutraceutical definition and introduction. AAPS PharmSci, 2003, vol. 5, E25-9, p. 27-28.

- KANTS, Y. Isolation and determination of polymeric polyphenols Using Sephadex LH-20 and analysis of Grape Tissue Extracts. En: American Journal of Enology and Viticulture, 1990. Vol. 41, no. 3, p. 223-228.
- KATO, Y., Mapes S., L M Mera O, J L Serratos H, R A Bye B. Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D. F. 2009, p. 116.
- KENJI, H; *et al.* Effect of supplementation of purple pigment from anthocyanin rich corn (*Zea mays L.*) on blood antioxidant activity and oxidation resistance in sheep. En: Livestock Science, 2012, vol. 145, p. 266-270.
- KUSKOSKI, E. M., G., García, M. C., Troncoso, A. M., &Fett, R. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. FoodScience and Technology (Campinas), 2004, Vol.24(4), p. 691-693.
- KUSKOSKI, E., Agustín G.,Troncoso Jorge., Mancini Filho, Roseane Fett. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos, Universidad de Sevilla, Departamento de Química Analítica y Departamento de Bioquímica, Bromatología y Toxicología, Facultad de Farmacia, Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 2005, vol. 25(4) p. 726-732.
- Liu, R. Whole grain phytochemicals and health. J. Cereal Sci. 2007, Vol. 46, p. 207-219.
- MANRIQUE, A. "Maíz morado peruano" Instituto Nacional de Investigación Agraria (Serie Folleto R.I N<sup>a</sup> 04-00), Lima, Perú, 2000, p. 5, 6.
- MAPES, C., Kato T., Mera L., Serratos J., y Bye R." Origen y diversificación del maíz: Una revisión analítica", Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 2009, p 21.
- MARTINEZ, CRUZ. Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schltdl (zarzamora). En: Revista mexicana de ciencias farmacéuticas. 2011, Vol. (42) 4, p. 66-71.
- MEDINA, R. Extracción de la colorante antocianina a partir del maíz morado y su aplicación en la industria alimentaria. En: Ing. ind. alim., 2012. p. 67.
- MEX, ÁLVAREZ., *et. al.* Actividad antioxidante de cinco variedades de maíz cultivadas en Campeche, México. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 2013, vol.12, p. 558-571.



- MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C.A. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple juices and blackcurrant drink, en: Food Chemistry, 1997, Vol. 60(3): p. 331-337.
- MINGUEZ, M., et. al. Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales; mucho más que simples “colorantes naturales”. grupo de química y bioquímica de pigmentos. departamento de biotecnología de alimentos. instituto de la grasa (csic). Sevilla, 2005, vol.26, p. 108-113.
- MOLINA, A., “La química está en todas partes” Revista digital ciencia y didáctica, Andalucía, España. 2009, Vol. 25, p. 1-155.
- OBANDO, M., Gelpud C., Burbano E. Características morfoagronómicas en variedades nativas de milho (*Zea mays L.*) en putumayo, 2012, p. 1-14.
- ORTEGA, P. La diversidad del maíz en México. En: Sin Maíz no Hay País. G Esteva, C Marielle (coords). Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas. México, D. F. 2003, p. 123-154.
- PAOLA, F., et. al. *In vitro* antioxidant and bioactive properties of corn (*Zea mays L.*), 2017, vol. 67(4).
- PARSONS, D. “Maíz. Manuales para educación agropecuaria”, Editorial Trillas, México, 1987, p.:12.
- PEDRESCHI, R. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays L.*). Elsevier, 2005. P. 956–963.
- PEÑARRIETA., et al. Total antioxidant capacity and content of flavonoids and other phenolic compounds in canihua (*Chenopodium pallidicaule*): An Andean Pseudocereal. En: Mol. Nutr. Food Res. 2008. Vol. 52, p. 708 – 717.
- PEREIRA, C., et.al. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment, en: Food Science, 2010, Vol. 75 (2): p. 173-176.
- PÉREZ, A. “Alimento con color natural”, (Boletín Semanal n°28), 2004, p. 5.
- PRIOR, R. L. W., X., Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. J. Agric. Food Chem., 2005, vol. 53, p. 4290-4302.

- QUIÑONES, R., Coy- Barrera E. Composición de antocianinas monomericas de cinco fenotipos de maíz coloreado (*Zea mays L.*) de la región central colombiana. Revista Facultad de Ciencias Universidad Nacional de Colombia, 2015, p. 38-61.
- QUINONES, R., Coy–Barrera Ericsson. composición de antocianinas monoméricas de cinco fenotipos de maíz coloreado (*Zea mays L.*) de la región central COLOMBIANA, 2015, p.48.
- QUIÑONES, X., Rodríguez Karen., Evaluación Del Extracto De Flavonoles Y Antocianinas Contenidos En El Agraz (*Vaccinium Meridionale Swartz*) Obtenidos A Nivel Laboratorio Por Medio De Los Métodos De Extracción Por Solventes Y Extracción Asistida Por Microondas. Proyecto integral de grado para optar el título de: INGENIERO QUÍMICO. Fundación Universidad De América Facultad De Ingenierías. Bogotá. 2016.
- QUISPE, F., Arroyo Karim., Gorriti Arilmí. Características morfológicas y químicas de 3 cultivares de maíz morado (*Zea mays L.*) en Arequipa – Perú. 2011, vol. 8, p. 205-211.
- RAMIREZ, C; *et al.* Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E depleted rats, en: Free Radical Biology & Medicine, 2001, Vol. 31(9): p. 1033-1037.
- RAMOS, A., *et. al.* Screening and antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. Journal of ethnopharmacology; 82003, vol. 7, p. 241-246.
- RE, R., *et. al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med., 1999, vol. 26(9), p. 1231-1237.
- ROSERO, J. C. R. Extracción y caracterización de los principios activos fenólicos con actividad antioxidante a partir de residuos de aguacate: epicarpio y semilla (*Persea americana*). universidad de Nariño, 2017.
- SALINAS Y. Extracción y uso de pigmentos del grano de maíz (*Zea mays L.*) como colorantes en yogur". En: *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 2005, vol. 55(3), p. 293-298.
- SANATCRUZ L. Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos, Tesis de Maestría en Ciencias Química, Bogotá, Colombia. Universidad Nacional de Colombia, 2011.
- SELLAPPAN, S.; AKOH, C.C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. J. Agric. Food Chem., 2000, vol. 50, p. 2432-2438.

- SILVA, C. Maíz genéticamente modificado. Universidad Federal de Viçosa, Brasil. PUBLICACIÓN DE AGRO-BIO. 2005, p. 60.
- STINTZING, FC, et. al. Color and Antioxidant Properties of Cyanidin-based Anthocyanin Pigments. J Agric Food Chem. 2002, vol. 50:61, p. 72-81.
- STRAUS, J. Anthocyanin synthesis in corn endosperm tissue culture. I: Identity of the pigments and general factors. Plant Physiol, 1959. p. 536-540.
- TAIZ L., & Zeiger E. Fisiología vegetal (Vol. 10). Universitat Jaume I.2006.
- TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; FERRERES, F. y GIL, M. I., Antioxidant phenolic metabolites from fruits and vegetables and changes during postharvest storage and processing. En: RAHMAN, Atta-ur (Ed.). Studies in Natural products Chemistry: Bioactive natural products (Parte D).Amsterdam: Elseiver, 2000.p. 739-735.
- TRABELSI, N., et. al. Isolation of powerfull antioxidants from the medicinal halophyte Limoniastrum guyonianum. Food Chemistry; 2012, vol. 135, p. 1419-1424.
- VALDÉS, R. Clasificación de los géneros de gramíneas (Poaceae) mexicanas. En: Acta Botánica Mexicana, 1995, vol.33, p. 37-50.
- VELEZ, G., et. al. Conservación y uso sostenible de la biodiversidad Derechos colectivos sobre Biodiversidad y soberanía alimentaria. En: Revista semillas, 2004, vol. 22/23, p.15.
- VENEREO, G, J. R. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Revista Cubana de medicina militar, 2002, Vol. 31(2), p. 126-133.
- VENEREO, J. “Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes” Revista cubana de medicina militar, Cuba, 2002, p. 126-133.
- VILAPLANA, M. Beneficios cardiovasculares, antioxidantes y gastrointestinales de los frutos secos. Offarm: Farmacia y Sociedad, 2003, Vol.22(8), p. 74-80.
- VON, E., J.H.; STEVEN J. Colorantes. En: FENNEMA, O.R. Química de los Alimentos. Zaragoza: Acribia SA, 2000, p. 773-854.
- WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R.L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins, en: J. gric. Food Chem. 1997, Vol. 45(2): p. 304-309.

- WU, D. & Sun, D. Colour measurements by computer vision for food quality control – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 2013, vol. 29(1), p. 5–20.
- WU, X. P., R. L. Anthocyanidin and glycoside moieties alter anthocyanin absorption and metabolism following a meal of berries in the weanling pigs. *J. Nutr*, 2005, vol. 135, p. 2417-2424.
- YÁNEZ, C. “Catálogo de maíces amarillos” INIAP, Programa de Maíz, Quito, Ecuador, 2005, p. 5
- YÁNEZ, C. “Catálogo de recursos genéticos de maíces de altura ecuatorianos” INIAP, Programa de Maíz, Quito, Ecuador, 2003, p. 1, 125, 127. YÁNEZ C., Zambrano, J., Caicedo, M., Sánchez, V. y Heredia, J., Op. Cit., p. 145.
- YANG, Z. Optimization extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays L.*) cob using tristimulus colorimetry. En: *European Food Research and Technology*, 2007, vol. 227(2), p. 409-415.
- YÚFERA, E. Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria II. Ed. Reverte, Barcelona, España, 1995, p.
- ZHENDONG, Y ., W. Z. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays L.*). Elsevier, 2009, p. 169-176.
- ZHU, K-X., Lian C-X., Guo X-N., Peng W., Zhou H-M. Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*, 2011, vol. 126, p. 122–1126.

## 11. ANEXOS.

Anexo A. Certificado de clasificación taxonómica del herbario de la universidad de Nariño.

**CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA**

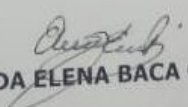
La suscrita directora del **HERBARIO PSO DE LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO**, certifica que la estudiante: **ESTEFANÍA JOHANNA CARRERA HARO**, del programa de Química, con código: **27140272**, solicitó la identificación taxonómica para una muestra botánica, la cual contiene la siguiente información:

**Nombre común reportado:** Maíz morado.  
**Lugar de colecta:** Municipio de Nariño.  
**Coordenadas:** 1°37'04"N-77°41'46"O.  
**Altura sobre el nivel del mar:** 2240 msnm.  
**Fecha de colecta:** No reporta.

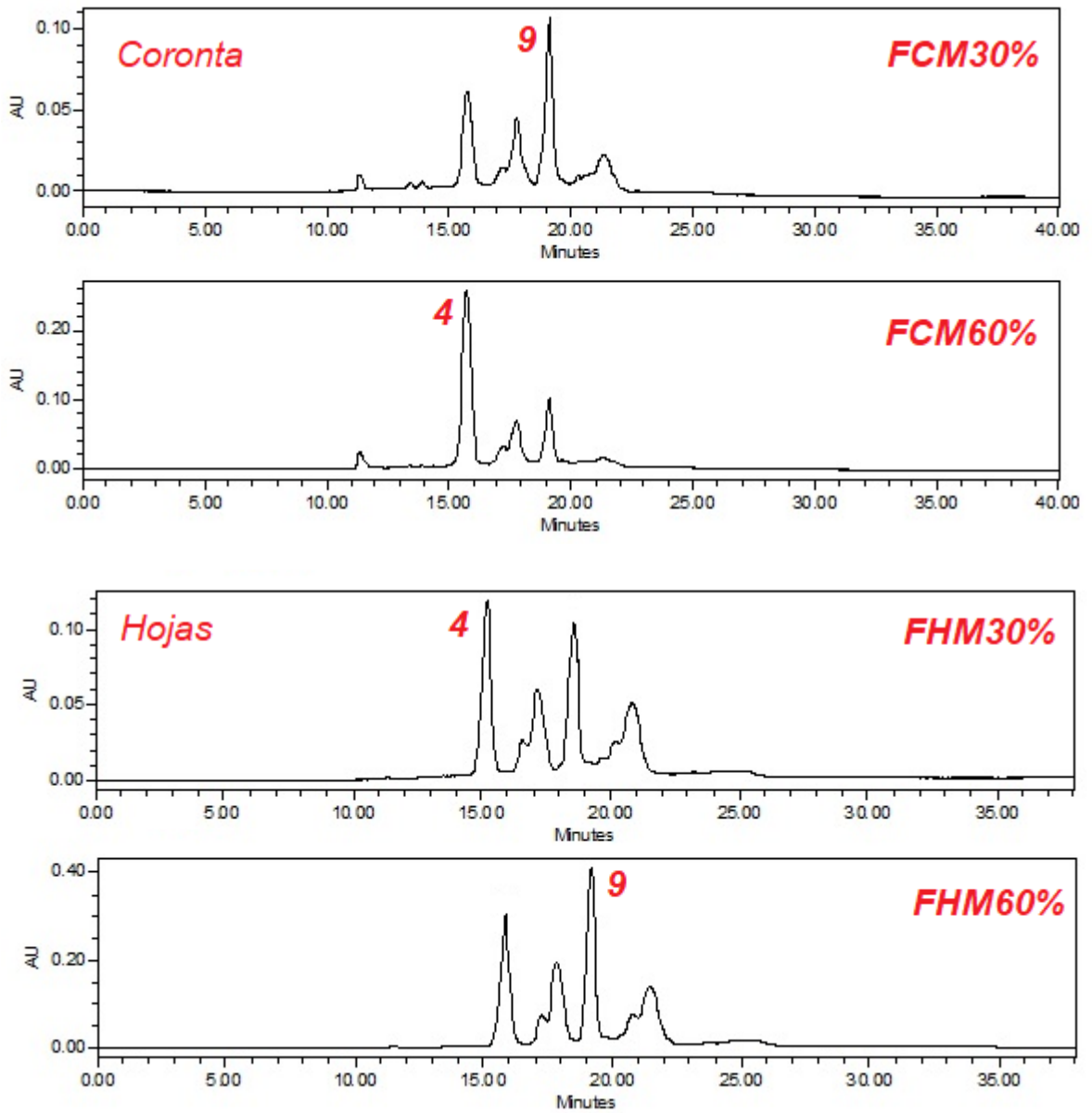
Una vez revisadas las características morfológicas del ejemplar y comparado con los exsiccados registrados en el Herbario de Investigaciones –HERBARIO PSO-, como única colección vegetal legalmente registrada en el departamento de Nariño, la muestra corresponde a la familia Poaceae, especie:

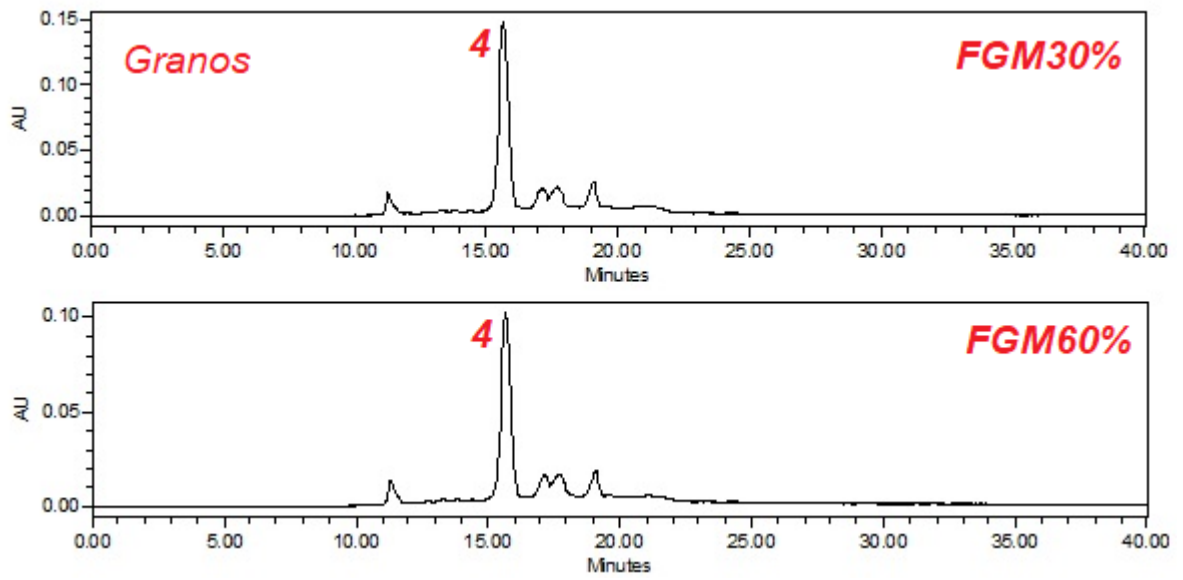
***Zea mays* L.**

Se expide a solicitud de la interesada, como soporte para el anteproyecto de grado denominado "**ESTUDIO QUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO DE LA FRACCIÓN POLIFENÓLICA (ANTOCIANINAS) AISLADA DE LOS GRANOS, HOJA Y CORONTA DEL MAÍZ MORADO (*Zea mays* L.) CULTIVADO EN EL DEPARTAMENTO DE NARIÑO**", a los 26 (veintiséis) días del mes de mayo de 2017.

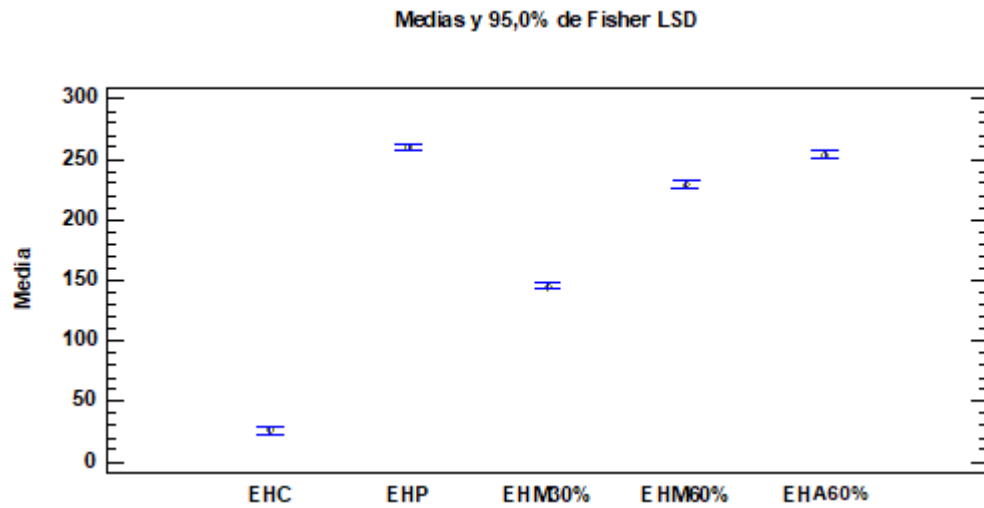
  
**AIDA ELENA BACA GAMBOA**

Anexo B. Perfiles cromatográficos de las fracciones aisladas con metanol 30% y 60% mediante cromatografía de exclusión por tamaño molecular (granos, hojas y corontas).

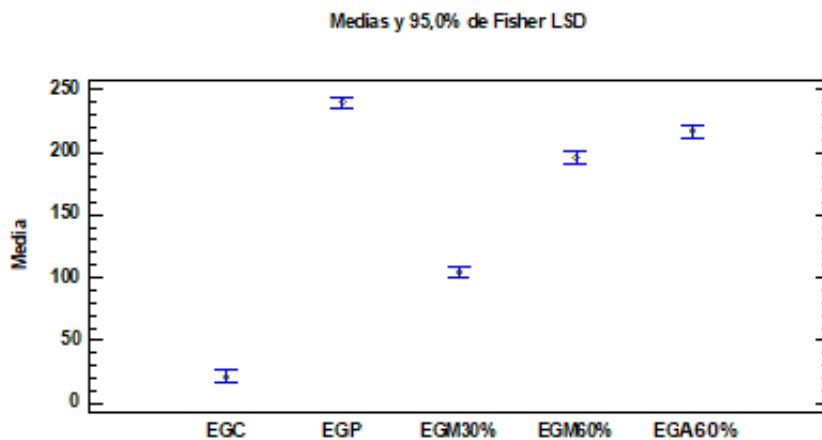




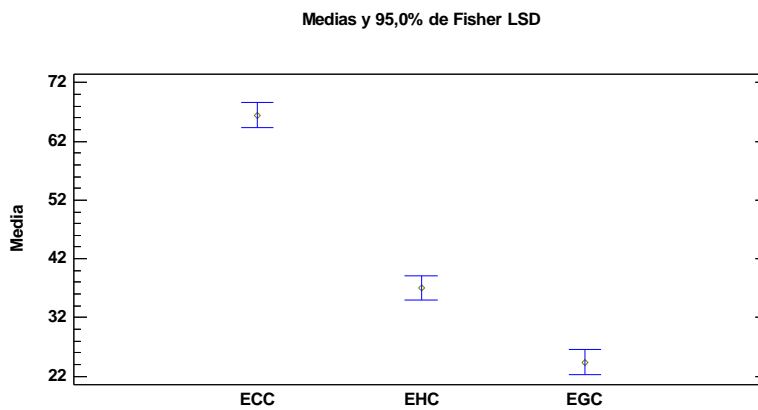
Anexo C. Gráfico de medias para el CFT de las muestras de hojas EHC, EHP, EHM30%, EHM60% y EHA60%.



Anexo D. Gráfico de medias para el CFT de las muestras de granos EGC, EGP, EGM30%, EGM60% y EGA60%.

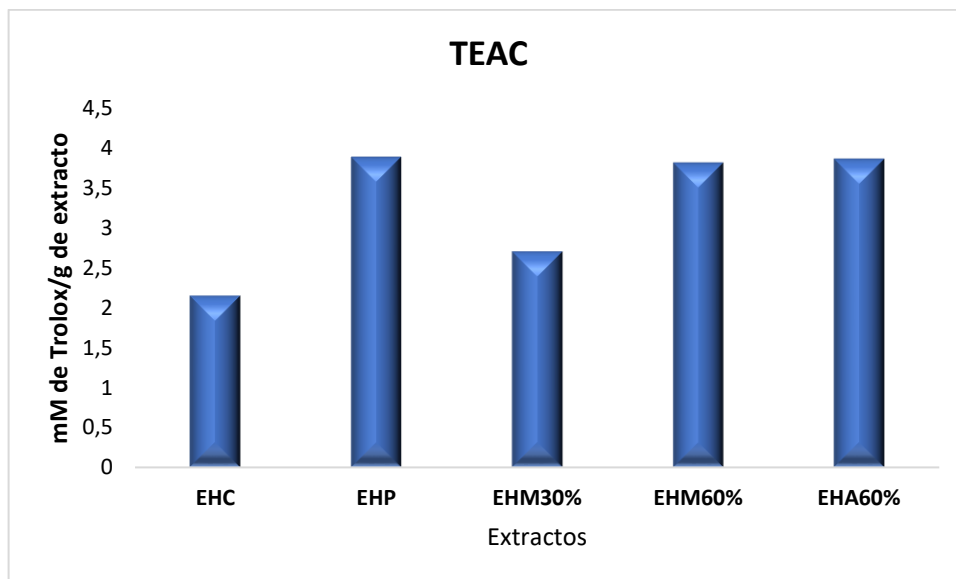


Anexo E. Gráfico de medias para el CFT de los extractos crudos de granos, hojas y corontas.

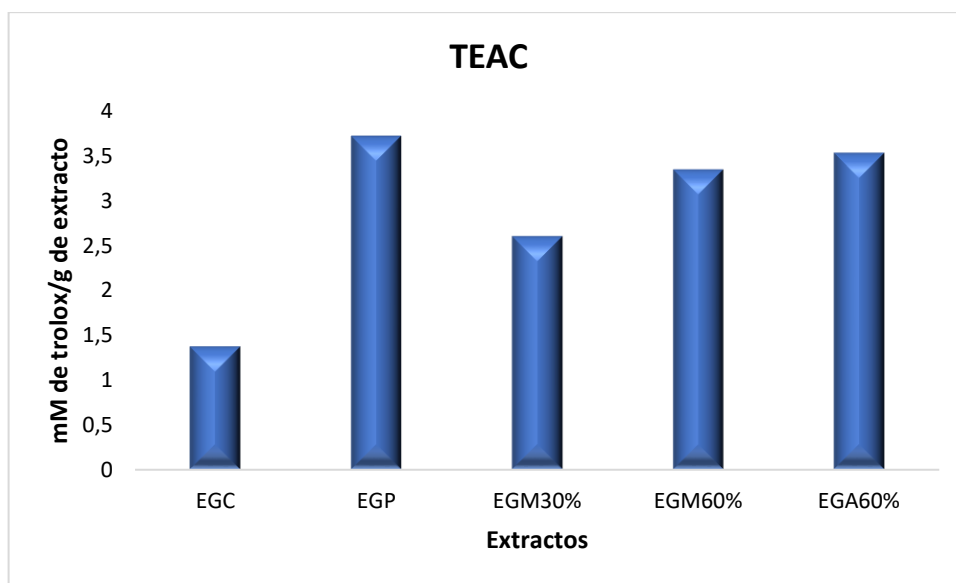


Anexo F. Valores TEAC de los extractos de hojas y las fracciones aisladas mediante cromatografía de exclusión por tamaño.

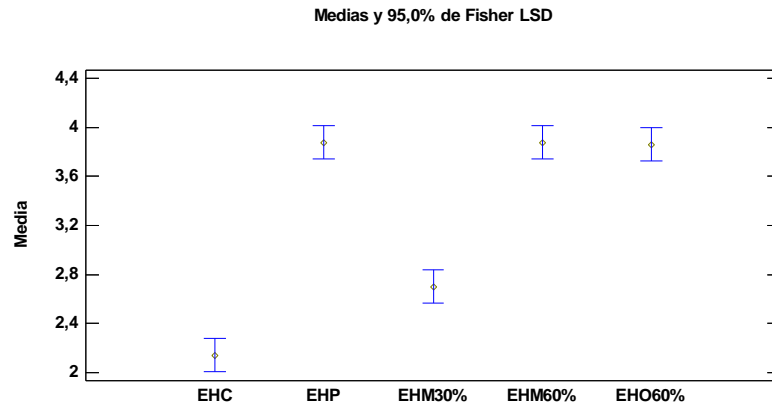




Anexo G. Valores TEAC de los extractos de hojas y las fracciones aisladas mediante cromatografía de exclusión por tamaño.



Anexo H. Gráfico de medias para la actividad antioxidante TEAC de las muestras de hojas EHC, EHP, EHM30%, EHM60% y EHO60%.



Anexo I. Grafico de medias para los valores  $EC_{50}$  de los extractos de coronta de maiz morado.

