

Tesis de Maestría

Control de calidad de "Maíz Morado" (Zea Mays L.- Poaceae, raza "Culli"): estudio farmacobotánico, análisis de antocianos y actividad antioxidante

Carmona Córdova, Sandra Juliana

2016-08-26

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Carmona Córdova, Sandra Juliana. (2016-08-26). Control de calidad de "Maíz Morado" (Zea Mays L.- Poaceae, raza "Culli"): estudio farmacobotánico, análisis de antocianos y actividad antioxidante. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Carmona Córdova, Sandra Juliana. "Control de calidad de "Maíz Morado" (Zea Mays L.- Poaceae, raza "Culli"): estudio farmacobotánico, análisis de antocianos y actividad antioxidante". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2016-08-26.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Maestría en Bromatología y Tecnología de la Industrialización de Alimentos

**CONTROL DE CALIDAD DE “MAÍZ MORADO” (*ZEA MAYS L. –POACEAE-*,
RAZA “*CULLI*”): ESTUDIO FARMACOBOTÁNICO, ANÁLISIS DE
ANTOCIANOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

Tesis presentada para optar al título de Magíster de la Universidad de Buenos Aires en
Bromatología y Tecnología de la Industrialización de Alimentos

Autor: Sandra Juliana Carmona Córdova

Director de tesis: Rafael Alejandro Ricco

Co-director de tesis: Beatriz Graciela Varela

Lugar de trabajo: Cátedra de Farmacobotánica. Departamento de Farmacología.

Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

Buenos Aires, 2016

CONTROL DE CALIDAD DE “MAÍZ MORADO” (*ZEA MAYS* L. - POACEAE-, RAZA “CULLI”): ESTUDIO FARMACOBOTÁNICO, ANÁLISIS DE ANTOCIANOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

RESUMEN

El “maíz morado”, es la variedad morada de *Zea mays* L. originaria de Perú, Bolivia y del Nordeste Argentino. Es empleada en la elaboración de “chicha morada”, “mazamorra morada” y “api”.

El objetivo del trabajo fue determinar los parámetros farmacobotánicos y fitoquímicos (polifenoles) aplicables al control de calidad de muestras de “maíz morado” en el marco de un laboratorio de baja complejidad.

Se analizaron muestras vegetales y muestras industrializadas que indicaban al “maíz morado” como parte de su composición. Se realizaron disociados y cortes en el estudio farmacobotánico y cocimientos (extracto acuoso), extractos etanólicos y metanólicos para el estudio de polifenoles.

El análisis microscópico para las muestras vegetales nos permitió observar caracteres presentes en el grano, como almidón (de estructura característica para la especie), esclereidas y tricomas de diferentes tipos en la gluma y marlo, como así también tráqueas anilladas en éste último. Para las muestras industrializadas, solamente en una de ellas se observó la presencia del almidón característico de *Zea mays*.

El análisis fitoquímico en las muestras vegetales permitió determinar un perfil de antocianos caracterizado por la presencia de cianidina-3-glucósido en mayor proporción y en menor proporción pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido. Aunque el perfil de polifenoles se presentó sin modificaciones entre las diversas muestras vegetales analizadas, se observó una marcada variación cuantitativa entre las mismas.

En el caso de las muestras industrializadas, sólo se detectó la presencia de cianidina-3-glucósido en una muestra, mientras que en el resto no se pudo observar ningún carácter fitoquímico relacionado con el “maíz morado”, ya que en su composición sólo se observaron colorantes artificiales.

Las técnicas empleadas son de rápida realización y bajo costo, aplicables en laboratorios de baja complejidad.

PALABRAS CLAVES: “maíz morado”, gluma, marlo, tricomas, esclereidas, antocianos, cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido, fenoles totales.

QUALITY CONTROL OF “PURPLE CORN” (*ZEA MAYS* L. -POACEAE-, BREED: “*CULLI*”): PHARMACOBOTANICAL STUDY, ANTHOCYANINS ANALYSIS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY

SUMMARY

The "purple corn" is the purple variety of *Zea mays* L., originating in Peru, Bolivia and the northeastern of Argentina. It is used in the preparation of "chicha morada", "mazamorra morada" and “api”.

The objective of this study was to determine the pharmacobotanical and phytochemical (polyphenols) parameters applicable to quality control samples of "purple corn" in the context of a low-complexity laboratory.

Plant samples (corn) and industrial samples that indicated "purple corn" as part of their composition were analyzed. Macerations and sections for the pharmacobotanical analysis were performed and decoctions (aqueous extract), ethanolic and methanolic extracts for the polyphenols study.

Microscopic analysis of plant samples allowed us to observe characters present in the grain, such as starch (characteristic structure for this species), sclereids and trichomes of different types in the glume and cob, as well as spiral tracheas in the latter. For industrial samples, in only one of them the presence of characteristic starch of *Zea mays* was observed.

Phytochemical analysis in plant samples allowed us to determine an anthocyanins profile characterized by the presence of cyanidin-3-glucoside on a greater extent and lesser pelargonidin-3-glucoside and peonidin-3-glucoside. Although the profile of polyphenols showed no changes between different plant samples analyzed, a strong quantitative variation was observed between them.

In the case of industrialized samples, only in one of them cyanidin-3-glucoside was detected while in the remainder no phytochemical character related to the "purple corn", could be observed, because in its composition only artificial coloring were observed.

The techniques used are of fast implementation and low cost, applicable in low complexity laboratories.

KEY WORDS: "purple corn", glume, cob, trichomes, sclereids, anthocyanins, cyanidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside, peonidin-3-glucoside, total phenols.

Resultados parciales contenidos en el presente trabajo fueron presentados en la XXXV Jornadas Argentinas de Botánica (23-26 de Setiembre del 2015. Ciudad de Salta. Argentina y publicado en el Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica

**ANALISIS FARMACOBOTANICO Y FITOQUIMICO DE “MAIZ MORADO”
(*ZEAMAYS* L. POACEAE)**

Ricco R.A., Carmona Córdoba S.J., Varela B.G.

Bol. Soc. Argent. Bot. 50 (Supl.): 191-192, 2015.

AGRADECIMIENTOS

Quiero comenzar dando las gracias a Dios por haberme guiado y ayudado durante esta etapa y por haberme dado las fuerzas para no rendirme nunca.

Agradezco a mis padres Felipe y Esperanza por su incondicional apoyo, por sus palabras de aliento, por siempre haber creído en mí y por su inmenso amor.

A Hernán, sin su ayuda no hubiera sido posible la finalización de este proyecto.

A mi hija Camila, a quien agradezco por haberme convertido en mamá y a quién además dedico esta tesis, espero poder ser tu mayor ejemplo.

A la Dra. Varela por la orientación brindada, su buena disposición y trato amable.

Y por último y no menos importante al Dr. Ricco, por darme la oportunidad de realizar esta tesis bajo su dirección, quien siempre estuvo presente para brindarme su apoyo, motivación y conocimientos, por haberme hecho sentir tan a gusto trabajando durante todo este tiempo aprendí mucho de él y con él, muchas gracias con todo mi corazón.

A todos Uds. muchas gracias

INDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	ORIGEN E HISTORIA DE <i>ZEА MAYS</i> L. “MAIZ”	1
	EL MAÍZ MORADO	6
1.2.	CLASIFICACIÓN BOTÁNICA	6
1.3.	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	6
1.4.	HÁBITAT	8
1.5.	COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MAÍZ MORADO (<i>ZEА MAYS</i> L. RAZA “ <i>Culli</i> ”)	8
1.5.1.	Antocianos	9
1.5.2.	Ácidos hidroxicinámicos y flavonoides	10
1.6.	USOS DE MAIZ MORADO	12
1.6.1.	Usos alimenticios	12
1.6.2.	Usos medicinales relacionados con el “maíz morado”	12
1.6.3.	Usos etnomedicinales	16
1.6.4.	CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E IMPORTANCIA DE LOS POLIFENOLES	17
1.6.5.	Antocianos o Antocianinas	18
1.6.6.	Otros polifenoles de interés	20
	<i>Flavonoides</i>	21
	<i>Ácidos hidroxicinámicos</i>	23
1.7.	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	24
2.	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	26
2.1.	OBJETIVO GENERAL	26
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
2.3.	HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN GENERAL DE LA METODOLOGÍA DE TRABAJO	27
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.1.	MATERIAL A ANALIZAR	28

<i>Muestras vegetales</i>	28
<i>Muestras industrializadas</i>	29
3.2. ANÁLISIS FARMACOBOTÁNICO	31
3.2.1. Análisis Macroscópico	31
3.2.2. Análisis Microscópico	32
<i>Obtención de disociados</i>	32
<i>Obtención de cortes</i>	32
3.2.3. Test de Viabilidad de semillas	33
3.3. ANÁLISIS FITOQUÍMICO	33
Obtención del Extracto Acuoso (Cocimientos)	34
Obtención del Extracto Etanólico	34
Obtención del Extracto Metanólico	34
3.3.1. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES	34
Cuantificación de Fenoles Totales	34
Cuantificación de antocianos	35
3.3.2. ESTUDIO DE LOS ANTOCIANOS	36
Perfil de antocianos	36
Identificación de las antocianidinas	36
3.3.3. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	37
Ensayo del DPPH	37
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	37
4. RESULTADOS	38
4.1. ANÁLISIS FARMACOBOTÁNICO	38
4.1.1. Análisis Macroscópico	38
<i>Muestras vegetales</i>	38
<i>Muestras industrializadas</i>	39
4.1.2. Análisis Microscópico	39
<i>Muestras vegetales</i>	39
<i>Análisis de los disociados</i>	39
<i>Análisis de los Transcortes</i>	44
Test de viabilidad de semillas	48
<i>Muestras industrializadas</i>	49

4.2.	ANÁLISIS FITOQUÍMICO	51
4.2.1.	CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES	51
	CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES	51
	<i>Muestras Vegetales</i>	51
	<i>Muestras Industrializadas</i>	53
	CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANOS	53
	<i>Muestras Vegetales</i>	53
	<i>Muestras Industrializadas</i>	55
4.2.2.	ANÁLISIS CUALITATIVO DE POLIFENOLES	56
	PERFIL CROMATOGRÁFICO DE ANTOCIANOS	56
	<i>Muestras vegetales</i>	56
	<i>Muestras industrializadas</i>	57
	Aislamiento e identificación de las antocianidinas	57
	<i>Muestras vegetales</i>	57
	<i>Muestras industrializadas</i>	61
4.2.3.	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	62
	<i>Muestras vegetales</i>	62
	<i>Muestras Industrializadas</i>	64
5.	DISCUSIÓN	65
5.1.	ANÁLISIS FARMACOBOTÁNICO	65
5.1.1.	ANÁLISIS MACROSCÓPICO	65
	<i>Muestras vegetales</i>	65
	<i>Muestras industrializadas</i>	65
5.1.2	ANÁLISIS MICROSCÓPICO	66
	<i>Muestras vegetales</i>	66
	<i>Muestras Industrializadas</i>	67
5.2.	ANÁLISIS FITOQUÍMICO	68
5.2.1.	CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES	68
	FENOLES TOTALES	69
	<i>Muestras vegetales</i>	69
	<i>Muestras Industrializadas</i>	71
	ANTOCIANOS	72

	<i>Muestras vegetales</i>	72
	<i>Muestras Industrializadas</i>	75
5.2.2.	ESTUDIO DE LOS ANTOCIANOS	75
	<i>Muestras vegetales</i>	75
	<i>Muestras Industrializadas</i>	77
5.2.3.	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	77
	<i>Muestras vegetales</i>	77
	<i>Muestras Industrializadas</i>	78
6.	CONCLUSIONES	80
7.	REFERENCIAS	82

CONTROL DE CALIDAD DE “MAÍZ MORADO” (*ZEA MAYS* L. –POACEAE-, RAZA “*CULLI*”): ESTUDIO FARMACOBOTÁNICO, ANÁLISIS DE ANTOCIANOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ORIGEN E HISTORIA DE *ZEA MAYS* L. “MAIZ”

El maíz es una planta de origen americano. No hay evidencia lingüística, arqueológica, pictórica, tampoco histórica, de la existencia del maíz en ninguna parte del Viejo Mundo antes de 1492; sin embargo, ya para entonces era la principal planta alimenticia de América. Conforme avanzó la exploración del Nuevo Mundo, los conquistadores se dieron cuenta de que todas las civilizaciones de América que practicaban la agricultura sembraban este grano y lo tenían como una de sus principales fuentes de alimentación. (Luna y Sánchez, 2014).

Estas civilizaciones cultivaban variedades definidas, que indicaban una antigua domesticación, empleando prácticas avanzadas de sistematización, riego y fertilización del suelo. Las distintas etapas del cultivo tenían profunda relación con las tradiciones, la religión y el acervo cultural. En el momento de la conquista, la distribución del cultivo del maíz en América era distinta a la de hoy. Se destacaban las concentraciones en México y Guatemala, en América del Norte y Central y la de Perú, Ecuador y Bolivia en Sudamérica, en estrecha correspondencia con las civilizaciones azteca, maya e inca. Además de estas concentraciones, el maíz era cultivado en todas aquellas regiones donde las condiciones del suelo y el clima permitían su desarrollo con medios primitivos como eran el fuego y los implementos de madera (Parodi, 1964).

La difusión del maíz a partir de su centro de origen, a varias partes del mundo ha sido tan notable y rápida como su evolución a planta cultivada y productora de alimentos. Los habitantes de varias tribus indígenas de América Central y México llevaron esta planta a otras regiones de América Latina, al Caribe y después a Estados Unidos de América y Canadá. Los exploradores europeos llevaron el maíz a Europa y posteriormente los comerciantes lo llevaron a Asia y África. (Paliwal y col., 2001).

Aunque existen variadas hipótesis sobre el origen del maíz, muchos investigadores creen que éste se habría originado en México, donde el maíz y el teosinte (nombre común que se le da a varias especies del género *Zea*, que crecen como maleza del maíz) han coexistido desde la antigüedad y donde ambas especies presentan una diversidad muy amplia (Wheatherwax, 1955; Iltis, 1983; Galinat, 1988; Wilkes, 1989). El hallazgo de polen fósil y de mazorcas de maíz en cuevas en zonas arqueológicas, apoyan seriamente la posición de que el maíz se había originado en México. Otra hipótesis sostiene que el maíz se habría originado en los Andes de Bolivia, Ecuador y Perú (Mangelsdorf y Reeves, 1959). La principal justificación para esta hipótesis fue la presencia de maíz reventador en América del Sur y la amplia diversidad genética presente en los maíces andinos, especialmente en las zonas altas de Perú. Una seria objeción a esta hipótesis es que no se conoce ningún pariente salvaje del maíz, incluyendo teosinte, en esa región (Wilkes, 1989).

Es generalmente aceptado el hecho de que el teosinte o teocintle es el antecesor silvestre o allegado al maíz, y que ha participado directamente en el origen del maíz cultivado. La hipótesis de Beadle de que el maíz es una forma domesticada de teosinte ha encontrado considerable apoyo (Iltis, 1983; Mangelsdorf, 1986; Galinat, 1988, 1995; Goodman, 1988; Doebley, 1990).

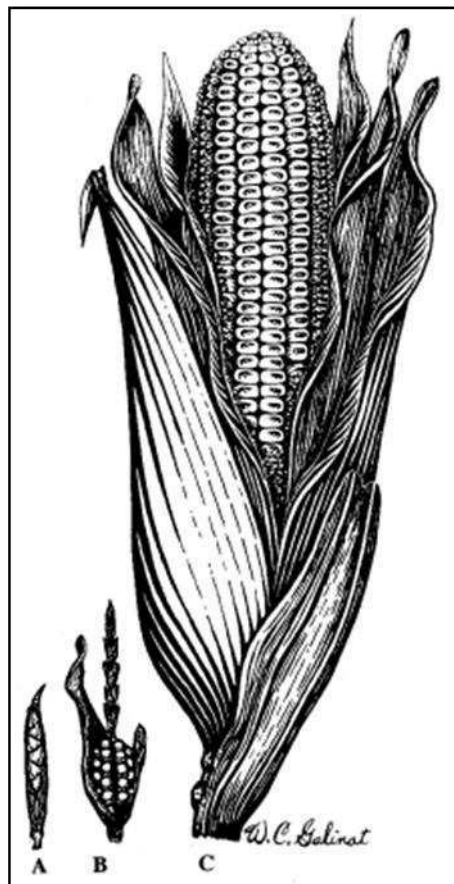


Figura N°1: El origen del maíz a partir del teocintle, es el mayor logro de fitomejoramiento reconocido a la especie humana. (A) teocintle, el antepasado salvaje. (B) Mazorca arqueológica más antigua de 5500 años de antigüedad (Long y col. 1989). (C) Mazorca actual de maíz. (Adaptado de Galinat 1992).

Los granos de teosinte están encastrados en envolturas rígidas. Los componentes de esas envolturas rígidas también están presentes en el maíz, pero su desarrollo está alterado de modo tal que los granos no están encastrados como en el teosinte, sino que están expuestos en la mazorca. Doebley y Stec (1991, 1993), Doebley y col. (1990) y Dorweiler y col. (1993) han identificado, descrito y mapeado genéticamente un *locus* de características cuantitativas (QTL), el *tg1* (arquitectura de gluma teosinte 1) el cual controla esta diferencia fundamental entre maíz y teosinte. Cuando este QTL de maíz, el *tg1*, fue transferido al teosinte, su grano no fue retenido fuertemente dentro de la cúpula y quedó

parcialmente expuesto. En el experimento contrario, cuando el QTL de teosinte fue transferido al maíz, la gluma se endureció y desarrolló características similares a las del teosinte. Este descubrimiento del *tgal* explica uno de los posibles pasos de la transformación del teosinte en maíz.

Ya sea que el maíz se haya originado del teosinte o que el teosinte y el maíz se originaron separadamente, hay un hecho indiscutido y es que el germoplasma del teosinte ha introgreído extensivamente en el del maíz durante su evolución y domesticación en México. A partir de las evidencias disponibles es posible concluir que el origen del maíz involucró la mutación de varios *loci* importantes en las formas antiguas de teosinte y de ahí esos genes se trasladaron a estructuras genéticas favorables bajo el efecto de numerosos *loci* menores (Galinat, 1988; Doebley, 1994). La notable transformación de una gramínea maleza a planta altamente productiva con una mazorca llena de granos comestibles y en tan corto tiempo, ya sea por selección natural o con la participación de agricultores, es sin embargo difícil de comprender (Paliwal y col., 2001).

En lo que respecta a su hábitat, el maíz se siembra en una gran variedad de regiones agroecológicas que van de altitudes desde 0 metros hasta cerca de los 4000 metros (Roberts y col., 1957; Ortega-Paczka y col., 2003), se cultiva desde el Ecuador hasta altas latitudes en los dos hemisferios, se siembra en suelos y climas muy variables. De acuerdo a la literatura revisada la mejor producción se logra en climas en donde las temperaturas medias en los meses calurosos varían entre 21°C y 27°C, con un período libre de heladas en el ciclo agrícola variable de 120 a 180 días (Reyes, 1990).

El maíz es un cultivo exigente en agua donde las necesidades hídricas van variando a lo largo del cultivo; cuando la semilla germina se requiere menos cantidad de agua manteniendo una humedad constante. En la fase del crecimiento vegetativo es cuando se requiere una mayor cantidad de agua, siendo la fase de floración el periodo más crítico porque de ella depende el desarrollo, la polinización y el llenado de los granos influyendo así en el rendimiento de granos de las plantas. Se adapta muy bien a todo tipo de suelo (Reyes, 1990).

Una característica fisiológica particular del maíz que favorece su adaptación a zonas tropicales en donde en ocasiones la evapotranspiración es alta, es la estructura anatómica de sus hojas, en ellas existen dos tipos de células (epidérmicas y estomáticas) con diferente organización bioquímica y estructural, que durante el proceso fotosintético les permite fijar el CO₂ en diferentes compuestos intermediarios que contienen cuatro átomos de carbono, con un gasto menor de energía y menor pérdida de agua en evapotranspiración, por esta característica se le denomina planta C4. El resultado final es una mayor eficiencia fotosintética neta, al lograr la síntesis de la hexosa más rápidamente por unidad de superficie de hoja, crecen más de prisa y funcionan eficazmente con intensidades lumínicas más altas, que las plantas C3 (compuestos de tres carbonos). Las plantas C4 crecen bien en condiciones de escasez de agua, perdiendo solamente 250 - 400 g de agua. (Lehninger, 1978).

Bajo estas condiciones, la cantidad y distribución de la lluvia son fundamentales para la producción de este cereal (Aragón y col., 2006). Su fácil adaptación a variadas condiciones ambientales abre la pauta para el despliegue de una amplia gama de tecnologías tradicionales que han sido experimentadas y enriquecidas por milenios (Olivo y col., 2001).

EL “MAÍZ MORADO”

1.2. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA

La clasificación taxonómica actual sitúa al “maíz morado” en el siguiente ordenamiento:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Subfamilia: Panicoideae

Tribu: Maydeae

Género: *Zea*

Especie: *Zea mays* L.

Raza: “*Culli*”

1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Para la caracterización del material utilizado en este estudio, se tomó como referencia los trabajos de Cámara-Hernández sobre maíces nativos. Se pudo corroborar efectivamente que las muestras adquiridas pertenecen a la raza “*Culli*”. A continuación se presenta una descripción de la planta.

La planta de “maíz morado” mide 165 cm de altura con 13 hojas de 65 cm de longitud y 8 cm de anchura, macollos casi ausentes, con tallos y hojas frecuentemente de color púrpura en las partes más expuestas a la luz; 2 o 3 espigas por planta, la superior ubicada en el centro de la caña, panoja de longitud mediana con pedúnculo de 20,8 cm de longitud, 39,9 % de espacio ramificado, mediano número de ramificaciones primarias y secundarias, y

ausencia de terciarias, espiga de 10 cm de longitud, delgada, con 10 o 12 hileras, a veces irregulares, de granos cortos, medianamente anchos y gruesos, poco dentados, con endospermo harinoso, blanco, aleurona incolora y pericarpio negro; el diámetro de la espiga es de 35 mm, el del marlo 21,1mm, raquis de 11,2 mm y médula de 4,8 mm, marlo y glumas de color púrpura; raquilla corta y grano bastante cubierto por las glumas. (Cámara-Hernández y col., 2011). A continuación se presenta una breve descripción de la infrutescencia femenina (Figura N°2).



Figura N°2: *Zea mays* L. “Culli” (“maíz morado”)

Granos: cada uno de los granos se encuentra en un cáliz cascaneo (gluma), están dispuestos en el marlo en hileras dobles, separados durante las primeras etapas de desarrollo por ranuras marcadas que desaparecen cuando alcanzan su tamaño completo. Presentan intensa coloración del pericarpio (Foto N°1).

Marlo: provee el soporte para los granos, cada dobles hileras de granos está soportada por una banda longitudinal leñosa, cada tira separada de su vecino por un delgado tabique de tejidos blandos. Dentro de la zona leñosa, existe una zona más estrecha que contiene haces fibrovasculares, corriendo longitudinalmente a través del marlo, a partir del cual los vástagos se extienden a través de la zona leñosa a cada cáliz cascaneo (gluma) con su grano. En la superficie del marlo, separando cada par de granos en una doble fila de su vecino, hay depresiones transversales revestidos de pelos. (Winton y Winton, 1932) (Foto N°1).



Foto N°1: Marlo y granos de “maíz morado”

1.4. HÁBITAT

El “maíz morado” crece entre los 500 a 4 000 m.s.n.m., en suelos profundos que no acumulen mucha humedad, ya que este factor sería adverso a la acumulación de pigmentos en la mazorca, pueden adaptarse a distintos climas y zonas geográficas.

Como se vio anteriormente, una de las principales características del maíz es la variedad de regiones donde puede ser cultivado; lo mismo sucede con la raza “*Culli*”, que a pesar de ser originaria de las regiones altiplánicas del Perú, Bolivia y Argentina, es cultivada en distintas partes del mundo, como por ejemplo China, Brasil y México entre otros países europeos.

1.5. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL “MAÍZ MORADO” (*ZEA MAYS L.*)

El “maíz morado” es ampliamente empleado como un componente básico de la alimentación de diversas culturas, tanto en América como en el resto del mundo debido a la presencia de almidón entre otros componentes.

La tabla N°1 muestra la composición del “maíz morado”.

MAIZ MORADO * (100 gr)	
Energía	355 Kcal/1487 Kj
Agua	11,4 gr
Proteínas	7,30 g
Grasa total	3,4 g
Carbohidratos totales	76,2 g
Carbohidratos disponibles	76,2 g
Fibra cruda	1,8 g
Cenizas	1,7 g
Calcio	12 mg
Fósforo	328 mg
Hierro	0,20 mg
Retinol	8,00 ug
Tiamina B1	0,38 mg
Riboflavina B2	0,22 mg
Niacina B3	2,84 mg
Vit. C	2,10 mg

*sin coronta

Fuente: INS 2009

Tabla N°1: Composición nutricional del “maíz morado”

Además, entre otros compuestos relacionados con las actividades biológicas atribuidas al “maíz morado”, podemos mencionar a los polifenoles, constituidos principalmente por antocianos y en menor medida los ácidos hidroxicinámicos y los flavonoides, compuestos que serán tratados especialmente a continuación.

1.5.1. Antocianos

Los antocianos representan los principales polifenoles presentes en el “maíz morado”. En la planta de maíz se encuentran en el tallo, vaina, hojas e inflorescencias; en la mazorca se pueden encontrar en brácteas, marlo y grano. En el grano se ha reportado la presencia de antocianos principalmente en el pericarpio, en la capa de aleurona, o en ambas estructuras (Salinas y col., 1999; Cui y col., 2012). Nakata y col. (1979) aislaron e identificaron los

antocianos de granos de “maíz morado” peruano, y encontraron como el principal compuesto a la cianidina-3-glucósido.

También se ha sugerido la presencia de antocianos en el germen de ciertas variedades de maíz (Betrán y col., 2001). Posteriores investigaciones han caracterizado las siguientes antocianinas para el “maíz morado” incluyendo a: cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido y sus respectivos homólogos malonados (Harborne y Self, 1997; Aoki y col, 2001; Pascual-Teresa y col., 2002) (Figura N°3)

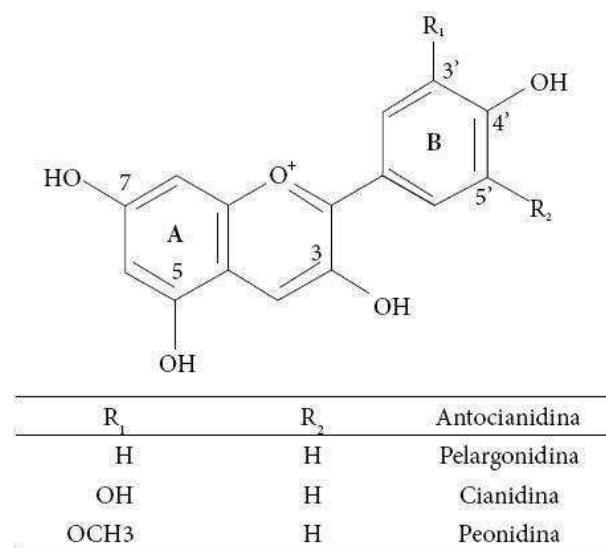
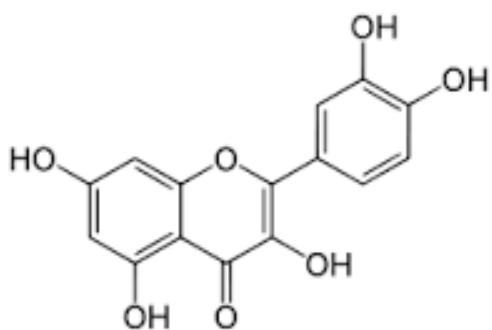


Figura N°3: Estructura química de las antocianidinas más comunes presentes en el “maíz morado”. Adaptado de Harborne (1967)

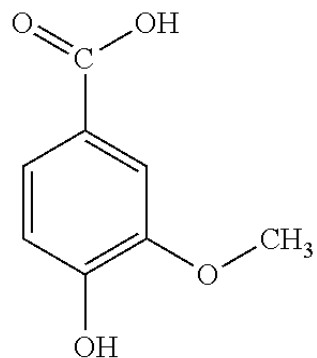
1.5.2. Ácidos hidroxicinámicos y flavonoides

Como se destacara anteriormente, entre los compuestos polifenólicos de interés podemos mencionar la presencia de derivados de los ácidos hidroxicinámicos y de flavonoides, entre los que se pueden mencionar: ácido p-cumárico, ácido vanílico, ácido protocatéquico, derivados de hesperidina y quercetina y formas de ácidos hidroxicinámicos compuestas de p-cumárico y ácido ferúlico (Pedreschi y Cisneros-Zevallos, 2007).

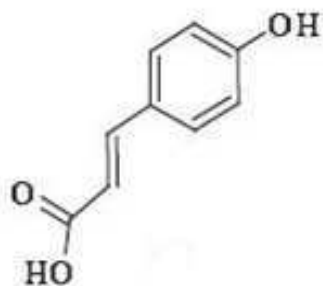
Éstos compuestos polifenólicos contenidos en el “maíz morado” actúan principalmente como antioxidantes, secuestrando especies reactivas de oxígeno e inhibiendo las enzimas productoras de radicales libres (Atmani y col., 2011) (Figura N° 4).



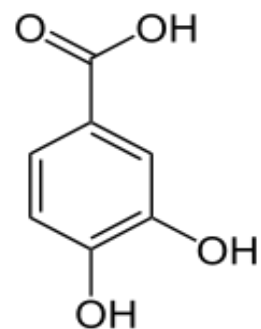
Quercetina



Acido Vanílico



Acido p-cumárico



Acido protocatéquico

Figura N°4: Compuestos fenólicos presentes en el “maíz morado”

1.6. USOS DEL MAIZ MORADO

1.6.1. Usos alimenticios

El “maíz morado” al igual que otros maíces, se destaca como alimento por su alto contenido en almidón, cercano al 80%, que lo hace una fuente rica en carbohidratos, útil para diversos usos culinarios según la región.

En Perú, se consume una bebida típica hecha de “maíz morado” llamada "chicha morada" que se cree por folclore que su consumo es beneficioso para el mejoramiento de la salud (Brack-Egg, 1999). También en Perú existe un postre llamado "mazamorra morada" que surgió en la época colonial al mezclarse el “maíz morado” y la harina de batata, con azúcar y con una variedad de frutas secas venidas de España (guindones, guindas, orejones, abridores, manzana, y membrillo) (Coloma, 2004).

En Bolivia y el noroeste Argentino, existe una preparación denominada “api”, elaborada con harina de “maíz morado” y agua, la cual se hierva hasta obtener una bebida más o menos espesa, de color púrpura, a la que se agrega azúcar y cáscara de naranja o clavo de olor (Cámara Hernández, 2007).

En México los maíces pigmentados son utilizados para la elaboración de una gran variedad de productos (tortillas, botanas, atoles, entre otros), tradicionalmente previa nixtamalización lo que involucra cambios químicos, estructurales y nutricionales en los diversos constituyentes del grano (Gómez y col., 1989; Bressani, 1990; Serna-Saldívar y col., 1990).

1.6.2. Usos medicinales relacionados con el “maíz morado”

Actualmente se dispone de una vasta bibliografía referente a los usos medicinales atribuidos al “maíz morado”. Estos usos terapéuticos están relacionados con diversas actividades biológicas, mediadas principalmente por compuestos polifenólicos, especialmente antocianos. A continuación se presenta un somero relevamiento de las actividades biológicas relacionadas con el uso o consumo de “maíz morado”.

1. Efecto quimio-preventivo. Fukamachi y col. (2008) estudiaron el efecto supresor de la cianidina-3-glucósido sobre el 7,12-dimethylbenzoantraceno, el cual induce la carcinogénesis mamaria, lo que indica que puede ser un agente quimioterapéutico prometedor.

Hagiwara y col. (2001) observaron que la administración de “maíz morado” en la dieta, produce inhibición de la carcinogénesis colon-rectal por efecto de la cianidina-3-glucósido.

En el 2013 Long y col. realizaron un estudio sobre los posibles efectos del “maíz morado” en la quimio prevención contra el cáncer de próstata. Se utilizaron ratas transgénicas para el adenocarcinoma de próstata las cuales fueron alimentadas con una dieta control o dieta a base de “maíz morado” durante 8 semanas. Los resultados mostraron una inhibición de la proliferación de células LNCaP por disminución de la expresión de ciclina D1 y la inhibición de la fase G1 del ciclo celular en las ratas alimentadas en base a “maíz morado”. El “maíz morado” disminuyó la incidencia de adenocarcinoma de la próstata lateral y se enlenteció la progresión del cáncer de próstata. Los resultados sugirieron que la cianidina-3-glucósido y pelargonidina-3-glucósido son los compuestos activos.

2. Efecto sobre el sistema circulatorio. Arroyo y col. (2008) describieron el efecto hipotensor de un extracto hidroalcohólico de “maíz morado” en ratas hipertensas inducidas con L-NAME. Se utilizaron cinco grupos de ratas: control positivo, control negativo y tres grupos para las dosis 250, 500 y 1000 mg/kg, El tratamiento se realizó por vía oral una vez por día durante 25 días. Las mediciones de la presión arterial media (PAM), presión arterial sistólica (PAS) y presión arterial diastólica (PAD) se realizaron en forma interdiaria. Al día 18 se observaron los mayores niveles de presión arterial tanto en el grupo control positivo como en los tres grupos anteriormente mencionados.

La reducción de la presión arterial fue dosis dependiente, observándose un mayor efecto con 1000 mg/kg, obteniéndose en promedio una disminución de 20,1% de la PAM, 20,7% de la PAS y 15,7% de la PAD, en relación con el grupo control positivo en el día 25.

La hipertensión por L-NAME disminuye la síntesis de óxido nítrico lo que genera vasoconstricción, mientras que la cianidina-3-glucósido induce la expresión de la sintasa de óxido nítrico endotelial con un aumento de la liberación de óxido nítrico, efectos que mejoran la disfunción endotelial y normalizan la presión arterial.

Shindo y col. (2007) estudiaron el efecto inhibitorio del “maíz morado” sobre el aumento de la presión arterial. Moreno-Loaiza y Paz-Aliaga (2010) determinaron el efecto vasodilatador del “maíz morado” mediado por síntesis de óxido nítrico.

- 3. Efecto antiinflamatorio.** Castañeda y col. (2004) realizaron estudios en ratas, en cinco grupos de 10 animales cada uno: control negativo, control positivo (diclofenaco, 10mg/kg) y tres grupos a los que se les administró extracto atomizado de “maíz morado” a las dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg de peso, respectivamente. Se inyectó un agente irritante (carragenina al 1 % en solución salina) en la bolsa de aire en el lomo de la rata. Al exudado de la bolsa de aire se le realizó el recuento leucocitario y la determinación de proteínas totales. La administración del extracto atomizado resultó en un efecto inhibitorio de la inflamación (menor recuento leucocitario, menor concentración de proteínas) dosis dependiente, obteniéndose el 28,95%, 38,21% y 54,15% de inhibición respectivamente, para las diferentes dosis ensayadas, efecto comparable al presentado por el diclofenaco (53,02 %).

Kang y col. (2012) estudiaron el efecto antiinflamatorio del extracto de “maíz morado”, el cual bloquea la expresión génica del mecanismo inflamatorio mediado por la IL-8 (interleuquina). Terra y col. (2009) observaron el incremento de la producción de citoquinas antiinflamatorias y el descenso de marcadores proinflamatorios como la IL-6 y además del factor de necrosis tumoral y la proteína reactiva C.

- 4. Efecto anti-obesidad.** La ingesta de “maíz morado”, aún en dietas altas en grasa, proporciona menores signos de desarrollo de obesidad, además de prevenir el aumento de la producción de insulina. Tsuda y col. (2003) realizaron un estudio en el que se emplearon cuatro dietas: control, una dieta rica en antocianos de “maíz morado” (PCC), una alta en grasas (HF) y una cuarta alta en grasas que incluía antocianos de “maíz morado” (HF-PCC).

Los resultados mostraron que los ratones del grupo HF-PCC mostraron significativamente menos signos de desarrollar de obesidad, cuando se compara con los tratados con dieta HF. El grupo dieta-HF desarrolló un estado de hiperglucemia, hiperinsulinemia e hiperleptinemia. Esta situación no se observó en el grupo dieta-HF-PCC en el que las patologías eran completamente normalizadas. En conclusión, los investigadores señalaron que las dietas ricas en antocianos de “maíz morado” proporcionan una base nutricional y bioquímica para su uso como "alimento funcional", que puede ser beneficioso para ayudar a prevenir la diabetes y obesidad

Fruebis y col. (2001) determinaron los posibles mecanismos de acción la cianidina-3-glucósido (presente en el “maíz morado”) sobre la disfunción de grasa celular, la expresión genética de células específicas de la grasa y la regulación de los mensajeros químicos (adipocitoquinas), tales como la hormona adiponectina. Se observó que la adición de este pigmento en la dieta regula los niveles de adiponectina, hormona que se encuentra disminuida en los casos de obesidad.

Tsuda (2008) realizó un estudio sobre el efecto preventivo de las antocianinas del “maíz morado” sobre la disfunción de los adipocitos y su relación con el desarrollo de obesidad y el síndrome metabólico.

- 5. Efecto hipocolesteromiante.** Arroyo y col. (2007) determinaron la actividad hipocolesterolémica del consumo crónico del extracto hidroalcohólico atomizado del “maíz morado” en ratas hipercolesterolémicas. Se utilizaron cinco grupos de seis ratas cada uno, un control negativo y cuatro grupos con ratas hipercolesterolémicas: control positivo y tres grupos para las dosis de extracto de “maíz morado” (250, 500 y 1000 mg/kg, respectivamente). En el día 60 se determinaron los niveles séricos de colesterol total, triglicéridos y colesterol HDL (mg/dL) y adicionalmente se realizaron cortes histológicos de la arteria aorta donde se observó la ausencia de ateromas. Se determinó una disminución del colesterol total en las ratas hipercolesterolémicas que consumieron extracto de “maíz morado” en las dosis de 250 y 500 mg/kg en relación con el grupo control positivo (reducción de 21,5 y 11,2 % respectivamente), la dosis de 1000 mg/kg no tuvo efecto sobre el nivel de colesterol. No se observaron cambios para los niveles

de triglicéridos y colesterol HDL. Se observó una disminución notable de formaciones ateromatosas en los grupos tratados con dosis incrementales 250 mg/kg y 500 mg/kg existiendo una ausencia en la dosis de 1000 mg/kg. Ronceros y col. (2012) observaron la disminución de triglicéridos y aumento de colesterol HDL, en el tratamiento de pacientes dislipidémicos que consumieron “maíz morado”. Guzmán-Gerónimo y col. (2012) determinaron el efecto positivo para disminuir entre otros parámetros colesterol total, triglicéridos y el aumento de colesterol HDL.

6. Efecto antioxidante. Bolívar y col. (2003) estudiaron el potencial antioxidante del “maíz morado”, el cual estaría relacionado con la presencia de compuestos que presentan en su estructura varios grupos hidroxilos responsables de la capacidad de reacción frente a los radicales DPPH.

Arroyo y col. (2007, 2008) realizaron estudios de actividad antihipertensiva y antioxidante de extractos hidroalcohólicos de “maíz morado”. En dichos estudios se observa un marcado efecto antioxidante de dichos extractos, medidos como la disminución de la producción de malondialdehído en estudios de lipoperoxidación.

Yang y Zhai (2010) evaluaron la capacidad antioxidante de los granos y marlo de “maíz morado” utilizando los métodos de DPPH, FRAP y TEAC, y a su vez comparándolos con BHT. Se encontró que la mayor capacidad antioxidante fue aquella presentada por el marlo, seguida por los granos y por último el BHT.

1.6.3. Usos etnomedicinales

Además de los usos mencionados, el “maíz morado” es empleado en numerosos países para una amplia diversidad de afecciones (Castañeda y col., 2004):

- En Cuba y Haití, las semillas molidas, son utilizadas como cataplasmas para golpes, torceduras y fracturas.
- En Filipinas para el tratamiento de edemas de las embarazadas.
- En Taiwán para el tratamiento de la hepatitis.
- En Trinidad y Tobago, las semillas son usadas como anti diarreicas, analgésicas, antisépticas y diuréticas.

Otras alteraciones tratadas tales como dismenorrea y cólicos menstruales, para los cuales se toma infusión de estigmas de “maíz morado” y ramas de *Chenopodium ambrosioides* (Pliego, 2011).

1.7. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E IMPORTANCIA DE LOS POLIFENOLES

Los compuestos fenólicos son característicos de las plantas y se encuentran generalmente en forma de ésteres o glucósidos en lugar de como compuestos libres (Vermerris, 2006), son sintetizados en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario. Algunos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales. Otros participan en funciones de defensa ante situaciones de estrés y estímulos diversos (hídrico, luminoso, etc.) (Quiñones y col., 2012).

Haslam (1998) define a los polifenoles como compuestos solubles en agua, que tienen una masa molecular comprendido entre 500 a 3 000 y 4 000 Da y poseen de 12 a 16 grupos hidroxilos fenólicos sobre 5 o 7 anillos aromáticos por cada 1 000 Da de masa molecular.

Existen varias clases y subclases de polifenoles que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos. Los principales grupos de polifenoles son: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (Quiñones y col., 2012).

Los fenoles están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Robbins, 2003; Kähkönen y col., 2003). La actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienviejecimiento (Velioglu y col., 1998; Proestos y col., 2005).

Altas ingestas de frutas y verduras están asociadas con el mantenimiento de la salud y la prevención de enfermedades. El pensamiento vigente vincula el alto contenido de antioxidantes con la inhibición de las enfermedades provocadas por el daño oxidativo, tales como la enfermedad cardíaca, las hemiplejias y el cáncer (Robbins, 2003). Entre otras propiedades conocidas podemos destacar la actividad antiviral, antiinflamatoria, efectos sobre la fragilidad capilar, inhibición de la agregación plaquetaria, entre otros. (Siddhuraju y col., 2003).

En el presente trabajo el enfoque se realizó sobre el estudio de antocianos en particular y secundariamente se cuantificaron los fenoles totales presentes en muestras vegetales de *Zea mays* L. “Culli” y de productos industrializados en base a “maíz morado”.

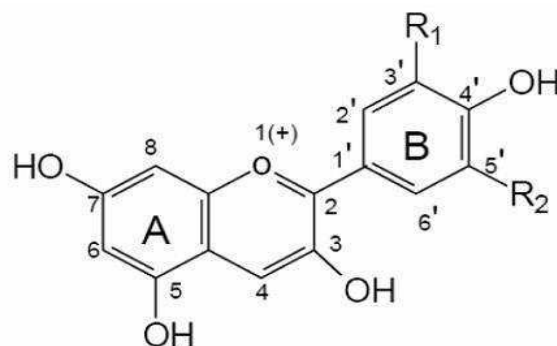
1.7.1. Antocianos o Antocianinas

Los antocianos, son un grupo de compuestos fenólicos ampliamente distribuidos en el reino vegetal, cuyo espectro de colores va desde el naranja hasta el azul. Representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo humano (Strack y Wray, 1994).

Todos los antocianos se derivan de la estructura básica del catión flavilo. Se conocen 20 antocianidinas, pero solo seis: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina, son importantes en los alimentos. Los pigmentos de antocianina se componen de una aglicona (antocianidina) esterificada con uno o más azúcares. Solamente se han hallado cinco azúcares como partes de las moléculas de antocianinas. Son en orden de abundancia relativa, glucosa, ramnosa, galactosa, xilosa y arabinosa (Fennema, 2009).

La ruta de biosíntesis de las antocianinas está muy bien definida a nivel genético y enzimático, con secuencias de genes disponibles para todos los pasos de la biosíntesis para las principales antocianinas, como para las actividades secundarias de modificación.

El núcleo de la antocianidina es una estructura de 15 de carbonos (C5-C3-C5) de dos anillos aromáticos (los anillos A y B) unidas por un tercer anillo (anillo C) (Figura N°5).



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

Figura N°5: Estructura y sustituyentes de las antocianinas
(Durst y Wrolstad, 2001)

El grado de oxidación del anillo define varios tipos de flavonoides. Las antocianidinas tienen dos dobles enlaces en el anillo C, por lo tanto tienen carga positiva. La estructura básica de la antocianidina, se modifica por la adición de una amplia gama de grupos químicos, en particular mediante hidroxilación, acilación y metilación. Usualmente la hidroxilación y metilación, ocurren antes de futuras modificaciones. Por lo tanto, hay un pequeño número de tipos de antocianidinas que se han identificado como la base de la gran cantidad de antocianinas posteriores, con diferentes patrones de glicosilación y acilación. (Gould y col., 2009).

La biosíntesis de los antocianos es activada por la exposición a la radiación UV (Takahashi y col., 1991; Méndez y col., 1999; Singh y col., 1999; Markham, 1982; Giusti y col., 1999), y sus funciones en los órganos vegetativos son la de amortiguar el daño por radiación UV

de los tejidos vegetales (Takahashi y col., 1991; Koostra, 1994) y la captación de radicales libres actuando como agentes antioxidantes (Tsai y col., 2002; Weisel y col., 2006; Noda y col., 2000; Kähkönen y Heinonen, 2003; Halliwell y Gutteridge, 1999). Estos radicales pueden aumentar su producción en las células por factores de estrés ambientales, como la saturación de flujo de luz o altos niveles de radiación UV (Gould, 2003).

En general, en medio ácido (pH 1-2), las antocianinas tienen un intenso color rojizo, que corresponde al equilibrio entre el catión flavilo y una estructura conocida como carbinol pseudobase. Aumentando el pH a 6,5 - 8, se produce la formación de una estructura de color violeta denominada anhidrobases. Los pigmentos derivados de pelargonidina y cianidina producen un color que va del rosa al rojo-púrpura, mientras que los de delphinidina muestran un color púrpura-azulado (Goto y Kondo, 1991).

Las antocianinas son responsables de un amplio espectro de actividades biológicas, entre las que se pueden mencionar: antioxidante, anticancerígena y antimutagénica (Bomser y col., 1996; Kähkönen y Heinonen, 2003; Remeuf y col., 1983; Kamei y col., 1995; Katsube y col., 2003; Yoshimoto y col., 1999; Yoshimoto y col., 2001).

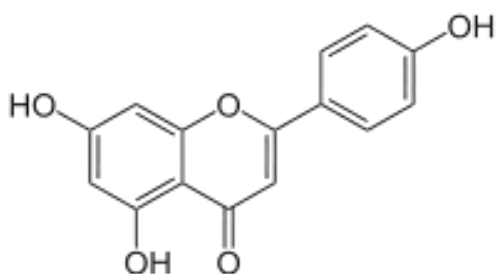
Además, los antocianos se han utilizado en el tratamiento de diversos trastornos de la circulación de la sangre resultante de la fragilidad capilar (Wang y col., 1997) en estudios vaso-protectores y antiinflamatorios (Lietti y col., 1976; He y Giusti, 2010), en la inhibición de la agregación plaquetaria (Morazzoni y Magistretti, 1986), y en el mantenimiento de la permeabilidad vascular normal (Wang y col., 1997), prevención la isquemia-reperfusión en el corazón y en trastornos de hiperlipidemia (Toufektsian y col., 2008), además de prevenir la obesidad y reducir la hiperglicemia (Tsuda y col., 2003).

1.7.2. Otros polifenoles de interés

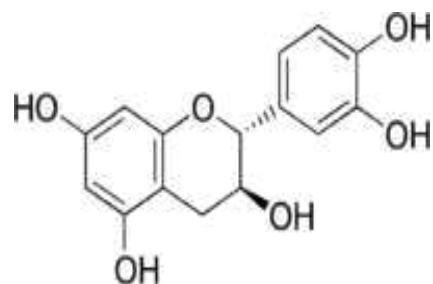
Como se mencionara anteriormente, entre los compuestos fenólicos presentes en el “maíz morado” pueden mencionarse los flavonoides y los ácidos hidroxicinámicos, metabolitos que son cuantificados en la medición de fenoles totales junto a otros compuestos de naturaleza fenólica.

Flavonoides

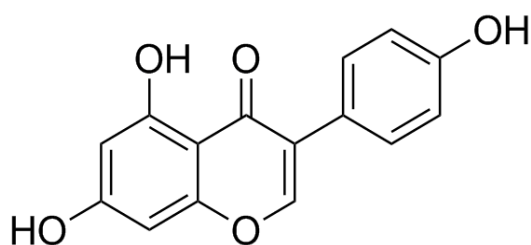
Los flavonoides son compuestos fenólicos polihidroxilados que constan de dos anillos aromáticos unidos a través de tres átomos de carbono, constituyendo una estructura base denominada C6-C3-C6. Se pueden clasificar de acuerdo a la estructura del anillo C3, quien determina la naturaleza de los compuestos (Bohm, 1998), que incluyen a las flavonas (apigenina, luteolina, etc.), los flavonoles (quercetina, miricetina), las flavanonas (naringenina y hesperidina), las catequinas (catequina y galocatequina), las antocianidinas (cianidina y pelargonidina), y las isoflavonas (genisteína y daidezina), entre otros (Ross y Kasum, 2002) (Figura N°6).



Apigenina



Catequina



Genisteína

Figura N°6: Estructura de algunos flavonoides

Existen dos rutas biosintéticas que dan como resultado la biosíntesis de los flavonoides, estas son la ruta del ácido shikímico (o vía aromática) y la ruta del acetato (vía malonato), y han sido estudiadas extensamente en una amplia gama de plantas (Winkel, 2001; Marles y col., 2003; Broun, 2005; Dixon y col., 2005; Koes y col., 2005).

Están ampliamente distribuidos en alimentos y bebidas de origen vegetal, como frutas, verduras, té, cacao y vino (Kelm y col., 2005; Schreier, 2005). Realizan una amplia variedad de funciones fisiológicas y ecológicas y son conocidos por ser sintetizados por las plantas como compuestos de defensa contra microorganismos patógenos, insectos, animales herbívoros, entre otros. Su actividad es probablemente debido a su capacidad para formar complejos con proteínas y con las paredes celulares bacterianas (Marjorie, 1999). Además intervienen en la atracción de insectos para la polinización y dispersión de semillas, protección contra la radiación UV (Wiseman y col., 1996), como reguladores de la actividad hormonal (Nicholson y Hammerschmidt, 1992; Dixon y Steele, 1999; Koes y col., 1994; Winkel, 1996) y pueden actuar además como potentes agentes antioxidantes.

Entre otras funciones también se ha demostrado que los flavonoides inhiben la carcinogénesis *in vitro* y hay pruebas fehacientes de que también lo hacen *in vivo* (Caltagirone y col., 2000; Miyagi y col., 2000). Esta inhibición se produce al afectar los eventos moleculares en la iniciación, promoción y etapas de progresión del cáncer (Deschner y col., 1991; Makita y col., 1996; Tanaka y col., 1999; Kandaswami y col., 1991), como por ejemplo el papel de las isoflavonas en la prevención del cáncer de mama y de próstata (Cornwell y col., 2004; Dixon, 2004; Adlercreutz, 2002; Greenwald, 2004; Holzbeierlein y col., 2005; Magee y Rowland, 2004).

Adicionalmente, su empleo cobra importancia en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la edad. La mayoría de estos informes se centran en las características antioxidantes de las dietas ricas en flavonoides y su mejora en la salud cardiovascular (Mitchell y col., 1998; Wiseman y col., 2000).

Ácidos hidroxicinámicos

Los fenilpropanoides son compuestos naturales que tienen un anillo aromático al que está unido una cadena lateral de tres átomos de carbono. Biosintéticamente derivan del aminoácido aromático fenilalanina y pueden contener uno o más residuos C6-C3. Dentro de este grupo de compuestos, los más destacados son los ácidos hidroxicinámicos, que son importantes en la planta no solo como elementos esenciales en la constitución de la lignina, sino también en relación con la regulación del crecimiento y resistencia a las enfermedades, ya que poseen actividad antimicrobiana (Padmavati y col., 1997; Werlein y col., 2005).

Los más comunes en la naturaleza son: ferúlico, sinápico, cafeico y *p*-cumárico. Su separación es simple mediante el empleo de técnicas de cromatografía planar (por ejemplo TLC) y son fácilmente detectados por su fluorescencia azul-verdosa a la luz UV de 366 nm. Estos compuestos se presentan normalmente en las plantas bajo la forma de ésteres, como el ácido clorogénico, formado por los ácidos cafeico y quínico (Figura N°7).

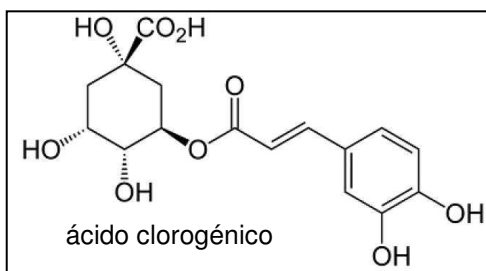
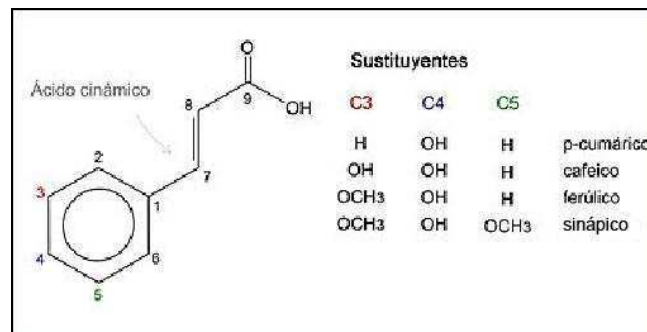


Figura N°7: Estructura y sustituyentes de los principales ácidos hidroxicinámicos

Los ácidos hidroxicinámicos en general son agentes antioxidantes (Richelle y col., 2001; Young y Woodside, 2001; Langley, 2005), prevención del cáncer de estómago (Ferguson y col., 2005), reducción de la glucosa e insulina (van Dijk y col., 2009), efecto antibacterial (Herald y Davidson, 1983), entre otros.

1.8. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Un radical libre es un átomo o molécula con uno o más electrones desapareados, como por ejemplo: radical hidroxilo, radical peróxido, anión superóxido, óxido nítrico, oxígeno singulete entre otros (Kalyanaraman, 2013). Son capaces de existir en forma independiente generando reacciones en cadena.

Las reacciones que afectan a los radicales libres se dividen normalmente en tres categorías: **iniciación**: se generan los primeros radicales libres a partir de moléculas estables. Puede ser inducido por cualquiera de las siguientes formas: térmica, fotoquímica, radioquímica o por oxidación-reducción, **propagación**: un nuevo radical se genera a expensas de otro, de tal manera que no se pierde en ningún momento el carácter de radical y el proceso continúa y **terminación**: se consumen radicales y no se generan nuevos radicales, por lo que se pierde el carácter de radical en el proceso. Normalmente es cuando dos radicales reaccionan entre sí y forman moléculas estables.

Los radicales libres son conocidos por ser importantes contribuyentes a las enfermedades degenerativas asociadas al envejecimiento (Atoui y col, 2005). Los seres humanos están expuestos a un gran número de agentes oxidantes producto de la contaminación ambiental, compuestos químicos que se añaden a los alimentos o simplemente como productos de las reacciones bioquímicas que se llevan a cabo en el organismo, resultando en la formación de radicales libres que serán los responsables del daño oxidativo a las moléculas de las células con efectos negativos en el metabolismo celular (Venereo, 2002).

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, mediado por la transferencia de electrones a un agente oxidante, se encuentran naturalmente en el organismo y en ciertos alimentos. Los antioxidantes dietéticos incluyendo flavonoides, carotenoides y vitamina C (Howard y col., 2003), pueden conferir beneficios para la salud mediante la protección contra el estrés oxidativo, mediante la prevención del daño a las proteínas, el ADN y los lípidos (Huang y col., 2005).

El maíz es una buena fuente de antioxidantes naturales tales como vitaminas, carotenoides, flavonoides y otros compuestos fenólicos (López-Martínez y col., 2009; Montilla y col., 2011).

2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. OBJETIVO GENERAL

El objetivo general planteado abarca el estudio de ésta especie desde distintas áreas del conocimiento: farmacobotánica, fitoquímica y actividad biológica.

Se realizará el análisis de materiales vegetales provenientes de muestras del comercio, y de muestras industrializadas, con el objeto de evaluar la autenticidad de las muestras desde el punto de vista botánico (cuando corresponda), el de fenoles totales, contenido de antocianos y su actividad antioxidante.

El estudio aquí planteado se realiza en el marco de un laboratorio de baja complejidad, que permitirá la realización de estudios y técnicas que implican bajo costo, poco tiempo de desarrollo y equipamiento estándar presente en un laboratorio de control de calidad.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer los parámetros farmacobotánicos relevantes para el control de calidad de las muestras vegetales analizadas (infrutescencias: granos y marlo). Estos parámetros serán de gran utilidad al momento de analizar muestras trituradas y reducidas a polvo.

Se procederá además al análisis de algunos productos industrializados que destaquen la presencia de “maíz morado” en su composición.

2. Realizar el análisis de los polifenoles presentes.

Dicho análisis comprenderá:

Obtención de extractos acuosos (cocimientos), alcohólicos y metanólicos, sobre los que se realizarán:

2.1. Cuantificación de fenoles totales

2.2. Cuantificación de los antocianos.

2.3. Obtención del perfil de antocianos

Se propone un estudio comparativo entre diferentes tipos de extractos, con el objeto de determinar el poder de extracción para cada uno de ellos y su relación con el contenido de polifenoles (fenoles totales y antocianos).

3. Determinar la actividad antioxidante para los extractos anteriormente mencionados.
4. Analizar la presencia de antocianos como parámetro de control de calidad en productos industrializados a base de “maíz morado”.

2.3. HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN GENERAL DE LA METODOLOGÍA DE TRABAJO

Como hipótesis de trabajo se plantea que los caracteres microscópicos presentes pueden ser empleados en el control de calidad de diferentes tipos de muestras de “maíz morado” o que lo incluyan en su composición.

Entre los compuestos principales presentes se encuentran los antocianos, responsables del color violeta-oscuro del “maíz morado”, compuestos que estarán presentes en los extractos acuosos empleados para obtener la “chicha morada”. Pero dada la estructura química de estos compuestos, se propone el estudio de extractos hidroalcohólicos, donde se prevé la presencia de altas concentraciones de antocianos, constituyendo una interesante fuente de estos metabolitos.

Además se propone determinar el perfil de antocianos presente para las distintas muestras y extractos. Las variaciones esperadas se verán reflejadas en la actividad antioxidante que puedan presentar los extractos aquí obtenidos.

La metodología empleada es la actualmente utilizada en los diversos estudios farmacobotánicos, de análisis de polifenoles y de actividad antioxidante.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El diseño experimental comprendió el análisis farmacobotánico, fitoquímico y de capacidad antioxidante de las distintas muestras vegetales. Con estos resultados como parámetro, se realizaron los mismos protocolos de análisis para muestras industrializadas.

3.1. MATERIAL A ANALIZAR

El diseño experimental está basado en el análisis farmacobotánico, fitoquímico y de actividad antioxidante, de muestras comerciales de *Zea mays* L. “maíz morado”.

En el caso de las muestras industrializadas, se tuvo en cuenta la composición de estas para la realización de los análisis antes mencionados.

Muestras vegetales

Todas las muestras (muestras N°1 a N°7) fueron compradas en el mercado de Liniers (Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina) entre los meses de agosto del 2014 y marzo del 2015.



Foto N°2: Muestras de “maíz morado”

Muestras industrializadas

Las muestras industrializadas fueron compradas en la ciudad de Lima, Perú. A continuación se detalla la composición de cada una, según lo detallado en el rotulo o empaque.

Muestra N°8: bebida lista para tomar de chicha morada. Ingredientes: agua tratada, azúcar, “maíz morado”, manzana, ananá, membrillo, acido cítrico (E-330), canela y clavo de olor, benzoato de sodio, y sorbato de potasio (E-202).



Foto N°3: “Chicha morada”

Muestra N°9: chips de “maíz morado”. Ingredientes: “maíz morado”, aceite vegetal, ajonjolí (sésamo) y sal marina.



Foto N°4: Chips de “maíz morado”

Muestra N°10: mezcla en polvo para preparar mazamorra morada. Ingredientes: azúcar, espesantes (fécula de papa y almidón de maíz), acidulante (ácido fumárico), sabor idéntico al natural a “maíz morado” y frutas, edulcorantes (aspartame y acesulfame K) y colorantes artificiales (rojo allura y azul brillante).



Foto N°5: Mezcla para preparar “mazamorra morada”

Muestra N°11: mezcla en polvo para preparar bebida instantánea sabor a chicha morada. Azúcar, acidulante (ácido málico), edulcorantes artificiales (aspartame y acesulfame K), regulador de acidez (citrato trisódico y sal), antihumectante (fosfato tricalcio), estabilizante (carboximetilcelulosa) y colorantes artificiales (rojo allura, azul brillante, azul indigotina y rojo carmoisina). Contiene fenilalanina.

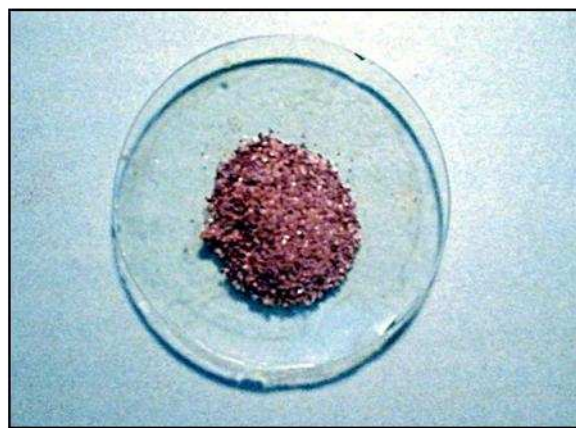


Foto N°6: Mezcla para preparar “chicha morada”

Muestra N°12: mezcla en polvo para preparar bebida instantánea sabor a chicha morada. Azúcar, acidulante (ácido cítrico), edulcorantes artificiales (ciclamato de sodio, sacarina de sodio, aspartame), espesantes (gomas de celulosa E-446, goma xántica E-415), sabor a chicha morada idéntico al natural, sabor a canela idéntico al natural, sabor a limón natural, antiaglomerante (fosfato tricálcico), colorantes (rojo N° 40, indigotina E-132), regulador de acidez (citrato de sódico), vitamina C (0,30% m/m). Contiene fenilalanina.



Foto N°7: Mezcla en polvo para preparar “chicha morada”

3.2. ANÁLISIS FARMACOBOTÁNICO

El análisis farmacobotánico comprende el análisis macroscópico y microscópico de las muestras vegetales. Podrá ser realizado sobre las muestras industrializadas en los casos donde pueda ser viable.

3.2.1. Análisis Macroscópico

El análisis macroscópico involucra la descripción macroscópica y la determinación de materia extraña.

La descripción macroscópica incluye a su vez el estudio de la forma de presentación (material entero, triturado, etc.); la determinación de los caracteres organolépticos (color, olor y sabor) y de la materia extraña (presencia de elementos extraños a la muestra).

3.2.2. Análisis Microscópico

El análisis microscópico llevado a cabo incluyó la obtención y observación de disociados y de cortes.

Obtención de disociados

Se realizaron disociados leves y disociados fuertes, para poder determinar los caracteres microscópicos relevantes empleados en el análisis del control de calidad.

El método de disociado leve consistió en someter el material vegetal a la acción de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 5 %, durante 5 min, a ebullición. Luego se enfrió y se lavó el material disociado con agua destilada y se observaron al microscopio. El disociado se observó mediante el empleo de microscopía de campo claro (IRAM, 1993).

El método de disociado fuerte consistió en someter el material a la acción de una solución acuosa de hidróxido de potasio al 10%, durante 5 minutos, a ebullición. Luego se enfrió y se enjuagó con agua repetidas veces. Posteriormente se agregó una solución acuosa de ácido crómico al 25% la cual se dejó actuar por 30 minutos a temperatura ambiente.

A continuación se lavó el material disociado con agua destilada y se observaron al microscopio (IRAM, 1993).

Los disociados se observaron mediante el empleo de microscopía de campo claro. Se empleó un microscopio Zeiss Axioscop 2 Plus provisto de una cámara digital Sony Exawave HAD.

Obtención de cortes

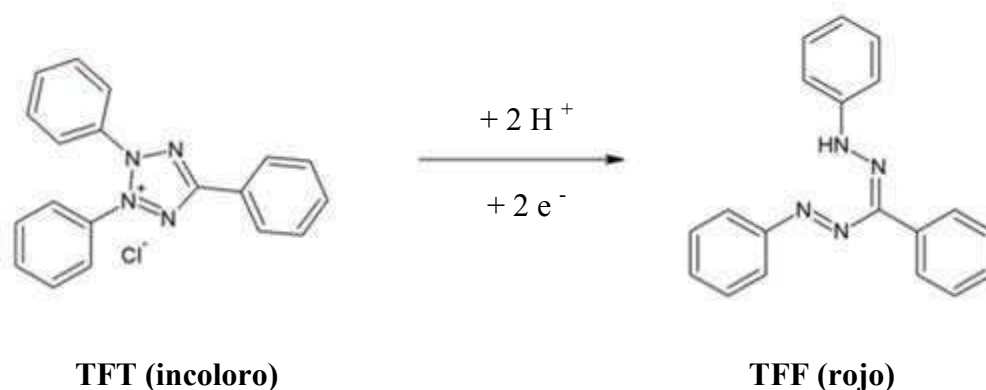
La obtención de cortes se trata prácticamente de un procedimiento artesanal que involucra la siguiente secuencia de pasos: hidratación o ablandamiento del material, la obtención de cortes (transversales o longitudinales), el vaciado y el posterior montaje para su observación.

La hidratación y ablandamiento consiste en colocar una pequeña cantidad de material en un vaso de precipitado con 20-30 veces su volumen de agua. Se coloca sobre una plancha calefactora y se lleva el agua a ebullición durante cinco minutos.

El material previamente ablandado se cortó a mano alzada o con un micrótopo manual. Se obtuvieron de esta manera cortes transversales del marlo y longitudinales de los granos. Estos cortes fueron posteriormente vaciados empleando una solución al 50% de hipoclorito de sodio. Los cortes así vaciados se lavaron con agua y se montaron entre porta y cubre objeto para su observación microscópica (D'Ambrogio, 1986; Zarlavsky, 2014).

3.2.3. Test de Viabilidad de semillas.

Demuestra la capacidad germinativa de las semillas. Consiste en colocar cortes longitudinales o transversales de semillas en contacto con una solución acuosa al 0,1 % de cloruro de trifeniltetrazolio (TFT). Después de una hora de incubación a 30°C, los embriones vivos, respirantes, se colorean de rojo debido a la formación de trifenilformazano (TFF) (Moore, 1962).



3.3. ANÁLISIS FITOQUÍMICO

Sobre el material vegetal y las muestras de productos industrializados se llevaron a cabo las extracciones correspondientes, que consistieron en extractos acuosos (cocimientos), etanólicos y metanólicos.

Se trabajó utilizando material vegetal entero (choclo) y marlos; se pesaron dos porciones de 5 g de choclo, la primera porción se utilizó en su totalidad y la segunda porción se desgranó, de esta manera poder obtener el aporte del marlo a contenido de fenoles totales y antocianos.

Para cada extracto se cuantificaron el contenido de fenoles totales, el de antocianos y capacidad antioxidante y se determinó el perfil cromatográfico de antocianos.

En el caso de los productos industrializados se efectuaron los mismos análisis teniendo en cuenta la composición de los mismos.

Obtención del Extracto Acuoso (Cocimientos)

Se realizaron cocimientos al 10%. Se pesaron 5 gr del material vegetal, se colocaron en un vaso de precipitados y se adicionaron 50 ml de agua destilada. Se llevó a ebullición durante 30 min, se dejó enfriar y posteriormente se filtró. El extracto se llevó con agua destilada hasta volumen final de 50 ml.

Obtención del Extracto Etanólico

Se pesaron 5 g del material vegetal, se colocaron en un recipiente con tapa y se adicionaron 50 ml de etanol 50%. La extracción se llevó cabo a temperatura ambiente, durante 48 h. Posteriormente se filtró y se llevó a volumen.

Obtención del Extracto Metanólico

Se pesaron 5 g de material vegetal, se colocaron en un recipiente con tapa y se adicionaron 50 ml de metanol absoluto. La extracción se llevó cabo a temperatura ambiente, durante 48 h. Posteriormente se filtró y se llevó a volumen.

3.3.1. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES

Cuantificación de Fenoles Totales

Se determinó mediante el método de Folin–Ciocalteu de acuerdo con Makkar y col. (1993). Alícuotas (50 µl) de los extractos fueron transferidas a tubos de ensayos y el volumen llevado a 500 µl con agua desionizada. Se adicionaron a continuación 250 µl de reactivo de Folin-Ciocalteu y 1250 µl de solución acuosa de carbonato de sodio al 20 %. Luego de 40 minutos se midió la absorbancia a 725 nm. Se realizó una curva de calibración con ácido gálico. El contenido de los fenoles totales se expresó como equivalentes de ácido gálico

(EAG: mg ácido gálico/g material seco) (Scalbert y col., 1989). Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

Cuantificación de antocianos

Se realizó mediante la técnica de cuantificación por espectroscopia diferencial, según una modificación de la técnica de Lee y colaboradores (2005). Brevemente, a una alícuota del extracto se le adicionó una solución buffer KCl pH 1,0. Se realizaron las lecturas a 510 nm y 700 nm. Luego se efectuaron nuevamente las lecturas en buffer acetato de sodio (CH₃CO₂Na.3H₂O) pH 4,5. Para estas mediciones se utilizó un espectrofotómetro UV-visible Hewlett Packard 8452A (Diode Array Spectrophotometer). Se calcularon las diferencias de absorbancia por la siguiente ecuación:

$$A = (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH1}} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH4,5}}$$

Los resultados obtenidos se expresaron como equivalentes de cianidina-3-glucósido (ECG: mg de cianidina-3-glucósido/g material seco).

$$\text{ACt (mg de Cian.-3-glu/gr M.S.)} = \frac{A * \text{PM} * \text{FD} * V}{\epsilon * l}$$

Donde:

ACt: Antocianinas totales

A: Cambio en la absorbancia

PM: Peso molecular para cianidina-3-glucósido (449.2 g/mol)

FD: Factor de dilución

V: Volumen de la muestra

ϵ : Coeficiente de extinción molar para cianidina-3-glucósido (26 900)

l: Longitud de paso de celda (1cm)

3.3.2. ESTUDIO DE LOS ANTOCIANOS

Perfil de antocianos

El perfil de antocianos se llevó a cabo mediante la realización de cromatografías en capa delgada (TLC/CCD) en sílica gel empleando como fase móvil el sistema de solventes acetato de etilo-ácido acético-ácido fórmico-agua (100:11:11:26). Los cromatogramas se observaron a la luz visible.

Debido a que cada compuesto tendrá una forma única de interactuar con la matriz y el solvente, algunos compuestos se moverán más rápido que otros. Se toma el valor de R_f que es la relación entre la distancia de migración del compuesto dividido por la distancia que el disolvente ha migrado (frente de solvente) y que tiene por definición un valor máximo de 1. El valor de R_f tiende a ser constante para una combinación dada de compuesto, solvente y la matriz.

Identificación de las antocianidinas

La identificación de las antocianidinas se realizó mediante los siguientes procedimientos:

Hidrólisis ácida. Se realiza la separación de los azúcares presentes en los antocianos mediante una hidrólisis ácida, obteniéndose así las antocianidinas correspondientes. Una alícuota de los extractos se somete a la acción de una solución de HCl 2N a 100° C, durante 60 minutos. El hidrolizado se deja enfriar, se filtra y se extrae el aglicón utilizando alcohol amílico, permaneciendo los azúcares en la fase acuosa ácida. La fracción amílica se evapora hasta sequedad y el residuo se redisuelve en HCl 0.1% en metanol.

Determinación de los valores de R_f en distintos sistemas de solventes. El estudio cromatográfico se lleva a cabo en TLC de celulosa, unidireccional ascendente. Se emplean las siguientes fases móviles:

Forestal: ácido acético – ácido clorhídrico – agua, 30:3:10.

Fórmico: ácido fórmico – ácido clorhídrico – agua, 5:2:3.

BAA: n-butanol – ácido acético – agua, 6:1:2.

Se emplearon como sustancias de referencia cianidina y pelargonidina. También se efectúan co-cromatografías con esos testigos.

Este estudio permite detectar las diferentes antocianidinas presentes en el extracto.

Aislamiento y purificación. Se realizó mediante el empleo de cromatografía en capa delgada descendente, empleando celulosa (papel) como fase estacionaria y Forestal como fase móvil, ya que resultó ser el solvente que permitió las mejores separaciones de los compuestos presentes. Se obtuvieron así tres bandas cuyos *Rf* corresponden a cianidina, peonidina y pelargonidina. Las bandas se cortaron y eluyeron en MeOH/HCl 0,01 %.

Estudios de espectroscopía UV-visible: Se realizan los espectros de absorción entre 220 y 800 nm de las antocianidinas aisladas. Se realizaron los shifts con reactivo de AlCl₃ al 5 % en metanol.

3.3.3. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Se estudió la actividad antioxidante total hidrosoluble de los extractos anteriormente mencionados, empleando el ensayo de DPPH.

Ensayo del DPPH

Este método se basa en la medición de la habilidad de compuestos antioxidantes para reducir el radical DPPH el cual se encuentra en medio metanólico, a partir del decremento en absorbancia de la reacción, en función del tiempo (Prior y col., 2005). Esta reacción produce un cambio de color en la solución y se monitorea espectrofotométricamente a 517nm.

Se utilizaron alícuotas de cada extracto de 10, 30 y 50 µl y fueron llevadas a 1 ml con metanol absoluto; y luego se incorporó 2 ml de la solución de DPPH. Luego de 30 minutos a oscuridad y temperatura ambiente, se determinó la disminución de la absorbancia a 517nm también en oscuridad.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En todos los casos, los resultados cuantitativos se expresaron como valor promedio ± desvío estándar. El análisis entre extractos se efectuó mediante el análisis comparativo de las medias (t-test), mediante el empleo del programa SigmaStat 3.5®.

4. RESULTADOS

4.1. ANÁLISIS FARMACOBOTÁNICO

Como se mencionara en el capítulo de materiales y métodos, el análisis farmacobotánico comprende una serie de estudios macroscópicos y microscópicos. A continuación se detallan los resultados obtenidos.

4.1.1. Análisis Macroscópico

Muestras vegetales

El material vegetal se presentó bajo la forma de choclo (marlo y granos) sin desgranar y desgranado. Todas las muestras presentaron color y olor característico.

Las mediciones de tamaños presentaron los siguientes valores promedio:

Choclo: 12,0 cm de longitud, diámetro de 4,0 cm,

Grano: 13,2 mm de largo, ancho de 11,4 mm y espesor de 4,9 mm.

Marlo: 25,0 mm de diámetro.

En uno de los materiales se observó la presencia de una posible contaminación por hongos. El resto de los materiales analizados se presentó sin modificaciones macroscópicas aparentes.



Foto N°8: Choclo entero y granos de “maíz morado”



Foto N°9: Grano de “maíz morado”

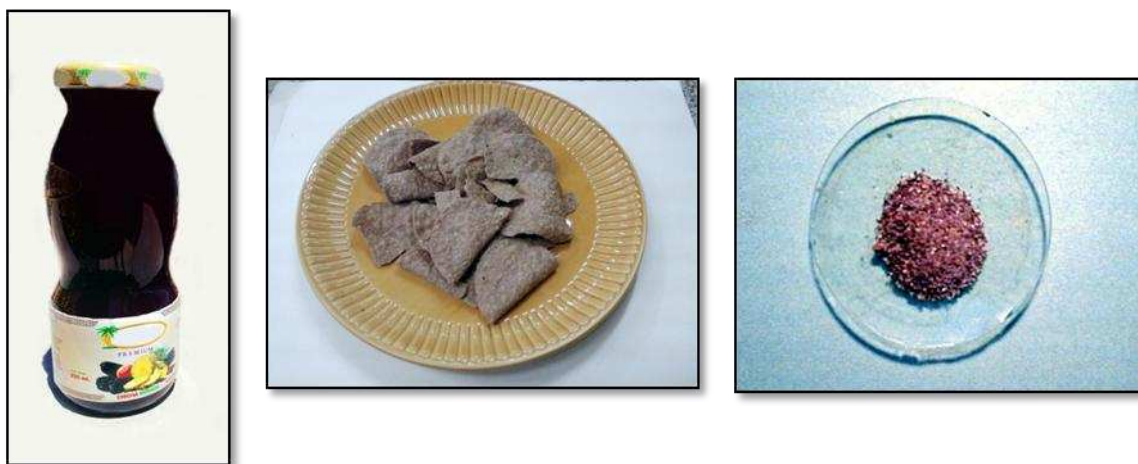
Muestras industrializadas

Las muestras comerciales industrializadas se presentaron bajo tres diferentes formas: polvo, “chips”, y líquida.

La muestra N° 8 corresponde a un líquido de color violeta intenso, de sabor y olor dulce.

La muestra N°9 se presentó bajo la forma de “chips”, de color pardo-violáceo, de sabor salado y levemente aromático.

Las muestras en polvo (N° 10, 11 y 12) se presentaron bajo la forma de un polvo fino, de color violeta, de olor y sabor dulce y aromático, que responde a los componentes de cada muestra.



Presentación de las muestras: líquido, “chips” y polvo.

4.1.2. Análisis Microscópico

Muestras vegetales

Análisis de los disociados

El análisis de las muestras vegetales consistió del estudio de 7 muestras, donde se determinaron los caracteres microscópicos relevantes presentes en el marlo y el grano.

A continuación se detallan dichos caracteres:

Elementos presentes en el grano. En el grano puede observarse la presencia de esclereidas, células que contienen aleurona, parénquima de reserva amilífero y tricomas eglandulares, simples y unicelulares.

1. Esclereidas:



Foto N°10: Esclereida del pericarpio (400x)

2. Células con aleurona:



Foto N°11: Célula con aleurona (400x)

3. Almidón:

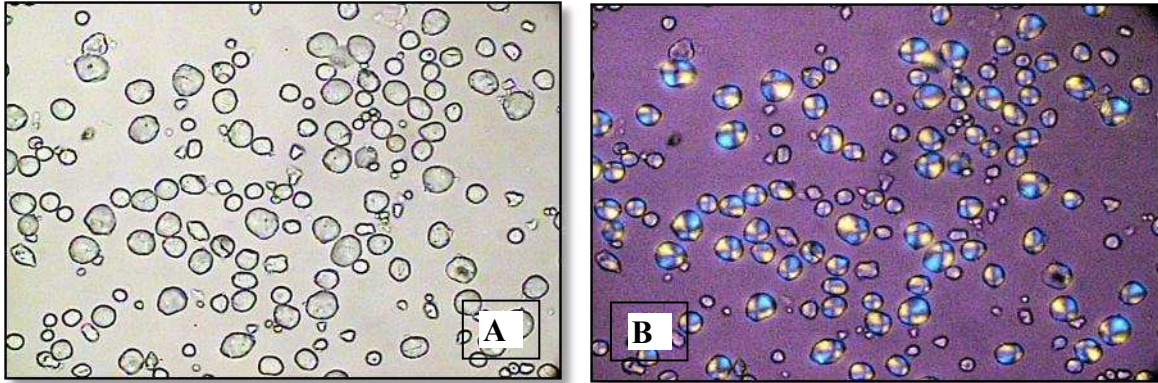


Foto N°12: **A:** Granos de almidón en campo claro (400x). **B:** Granos de almidón bajo luz polarizada (400x)

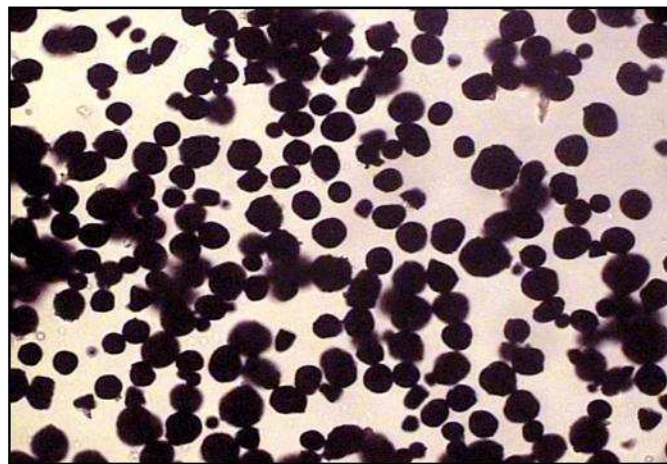


Foto N°13: Reacción de lugol en granos de almidón (400x)

4. Tricomas:

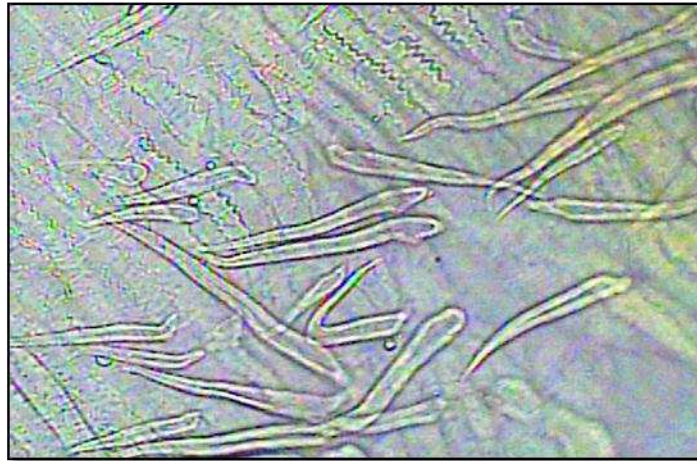


Foto N°14: Tricomas eglandulares unicelulares (100x)

Elementos del marlo. El análisis microscópico permitió determinar la presencia de esclereidas de diferente formas, tricomas eglandulares de diferentes tipos y tráqueas anilladas.

1. Esclereidas:

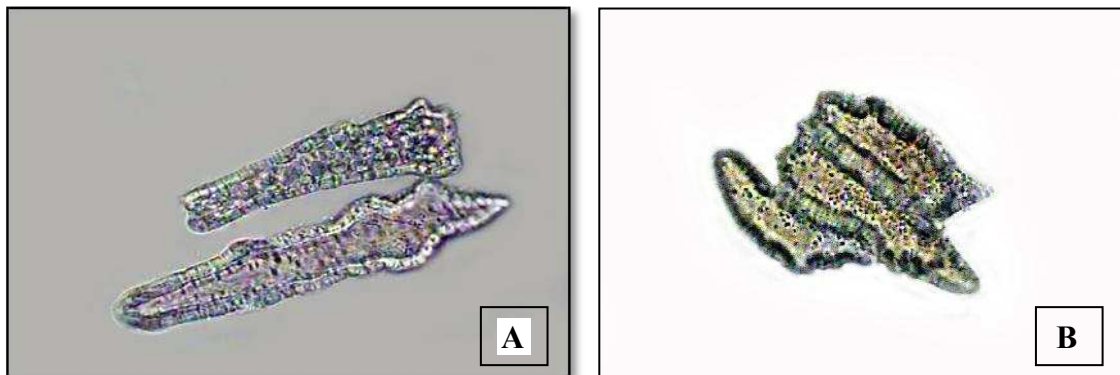


Foto N°15: Esclereidas. **A, B:** 400x

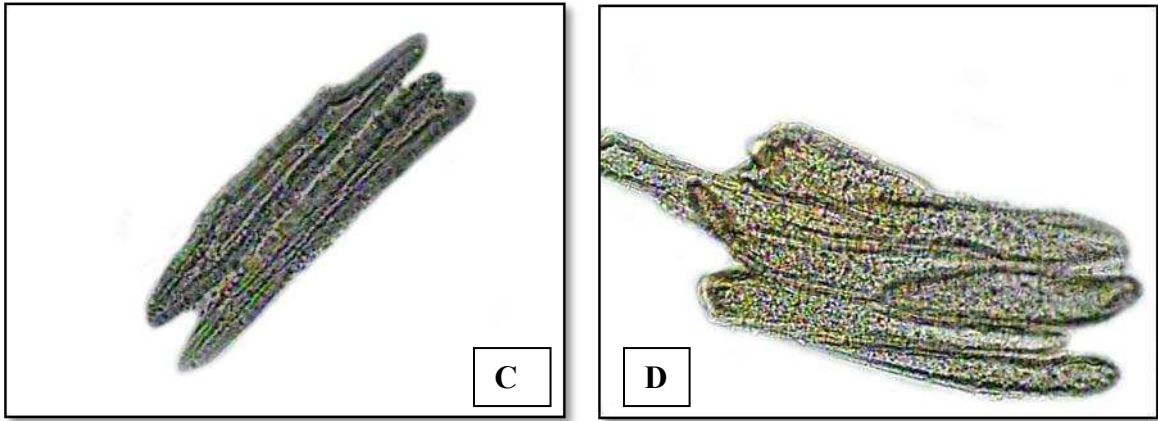


Foto N°16: Esclereidas. **C, D:** 400x

2. Tricomas

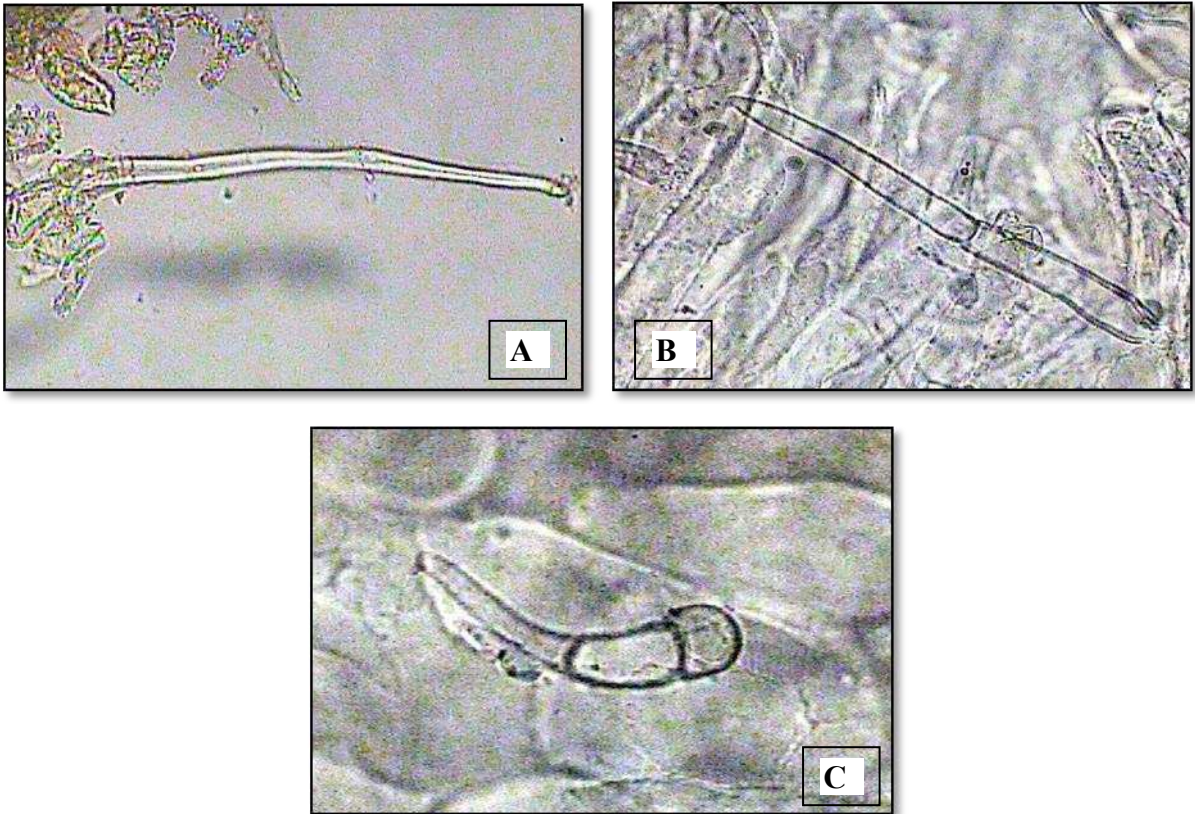


Foto N°17: **A:** Tricoma glandular unicelular (200x), **B:** Tricoma glandular bicelular (400x), **C:** Tricoma glandular tricelular (400x)

3. Tráqueas

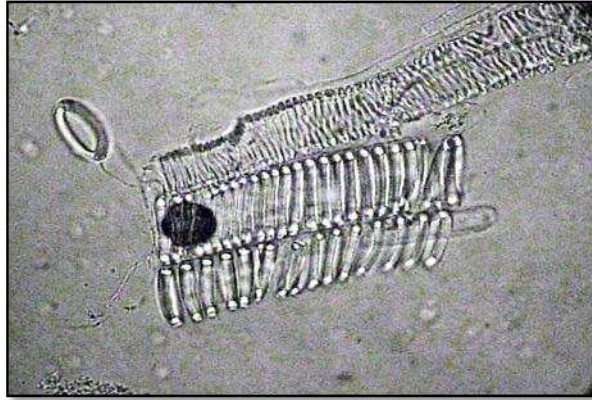


Foto N°18: Tráqueas anilladas (200x)

Análisis de los Transcortes

Transcorte del pericarpio del grano

Se pudo observar que el grano de “maíz morado” presenta las mismas características microscópicas que se pueden encontrar en otras variedades de *Zea mays* L. El pericarpio está constituido por el epicarpio (*ep*) de células alargadas, punteadas y sin pelos, el mesocarpio (*m*) de células iguales al epicarpio pero de paredes más gruesas y el endocarpio (*e*) de células cruzadas y tubulares. (Figura N°8 y Foto N°19).

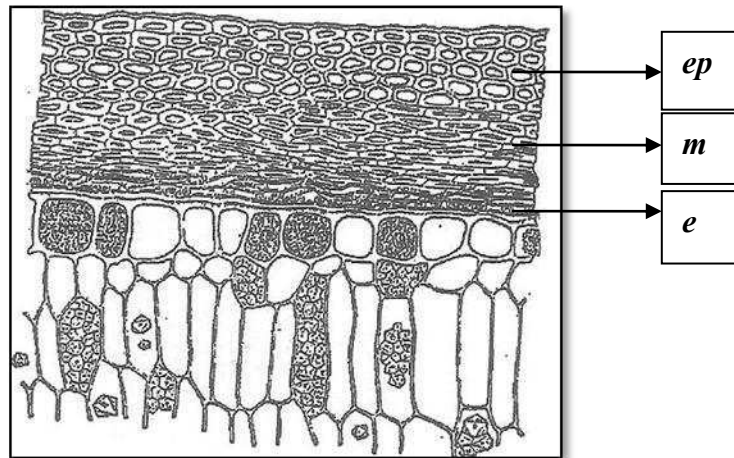


Figura N°8: Esquema de referencia de pericarpio de maíz (*Zea mays* L.).

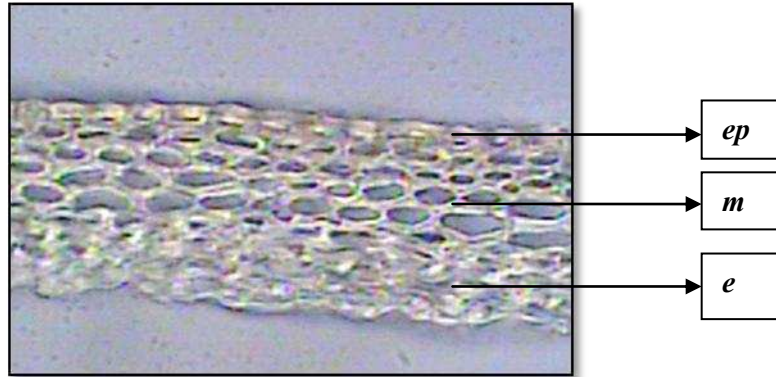


Foto N°19: Pericarpio del grano de “maíz morado” (100x)

Transcorte del marlo

El análisis del transcorte del marlo permite apreciar las siguientes estructuras:

Epidermis de células pequeñas, de paredes delgadas, con pelos articulados unicelulares y en punta y pelos de puntas romas, **esclerénquima** con células de formas alargadas, paralelas a la superficie y células isodiamétricas en las capas interiores, **zona vascular** con vasos anillados, espiralados y contrapuestos y **parénquima** de células redondeadas de paredes delgadas y con abundante espacio intercelular (Figura N°9) (Winton y Winton, 1932).

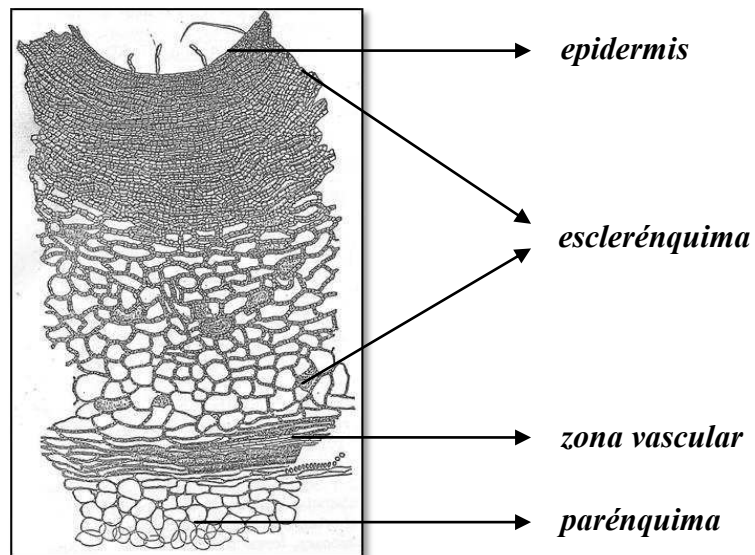


Figura. N°9: Esquema de referencia del transcorte del marlo de *Zea mays* L

Estas mismas estructuras fueron observadas en el material analizado donde pueden observarse los distintos tejidos anteriormente mencionados (Foto N° 20 a Foto N° 23).

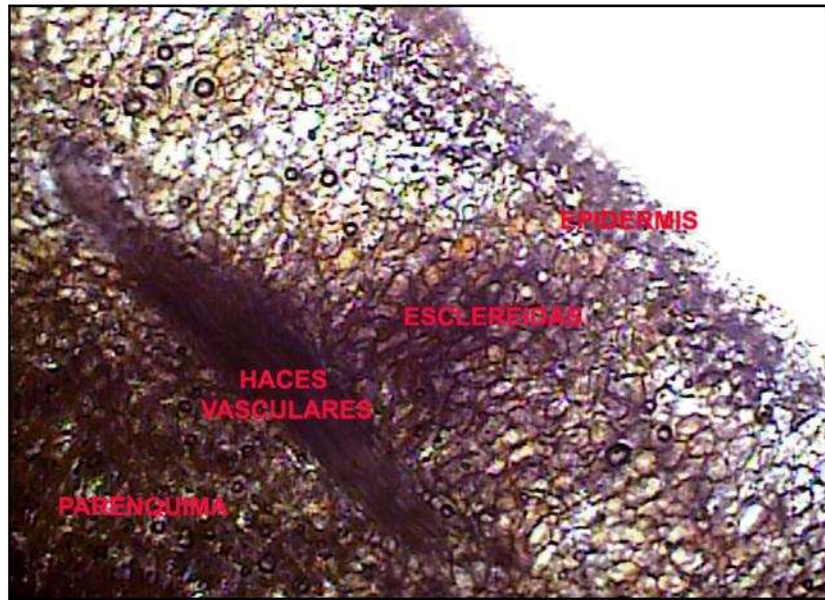


Foto N°20: Transcorte del marlo (50x)

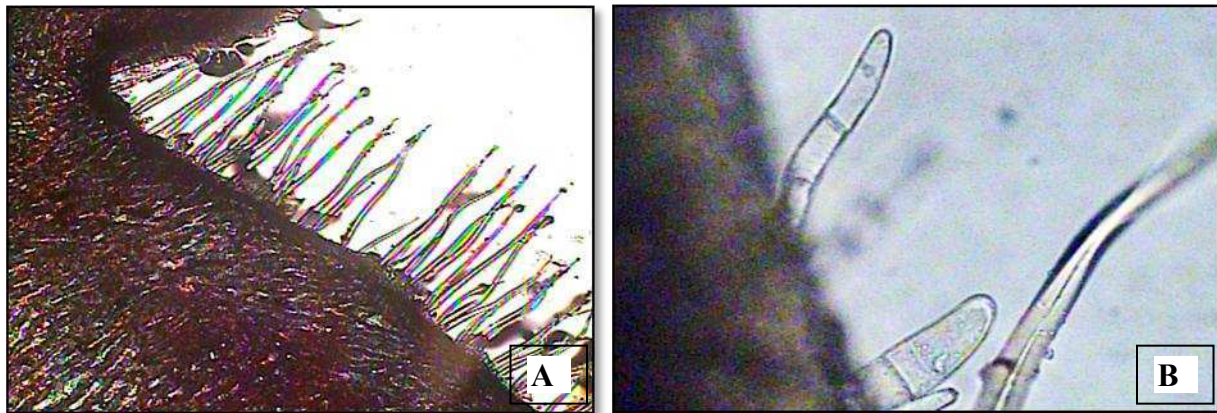


Foto N°21: Tricomos de la epidermis. **A:** (50x); **B:** (400x)

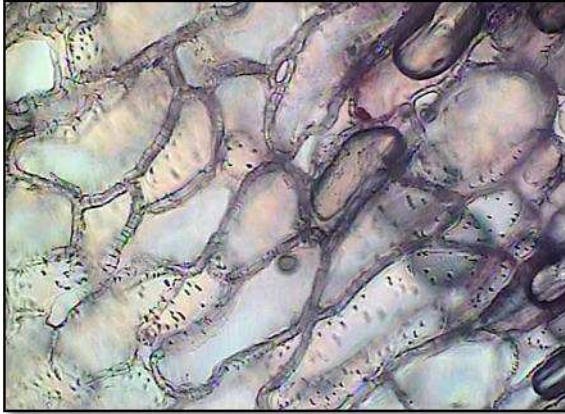


Foto N°22: Esclerenquima (400x)



Foto N°23: Células del parénquima y haz vascular (400x)

Transcorte de la gluma

Las glumas están formadas de a pares, una gluma inferior y una gluma superior y son de textura delgada y rugosa. Las células de la gluma presentan bordes un tanto irregulares debido a que están relacionadas a tejido epidérmico y se pueden encontrar tricomas en su base. (Foto N° 24, N° 25 y N° 26).



Foto N°24: Gluma y porción de marlo (10x)

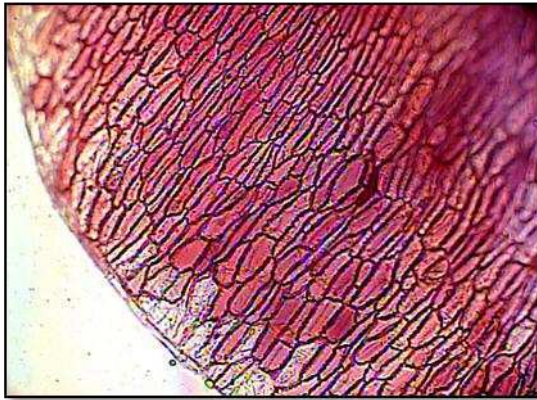


Foto N°25: Células de la gluma (100x)

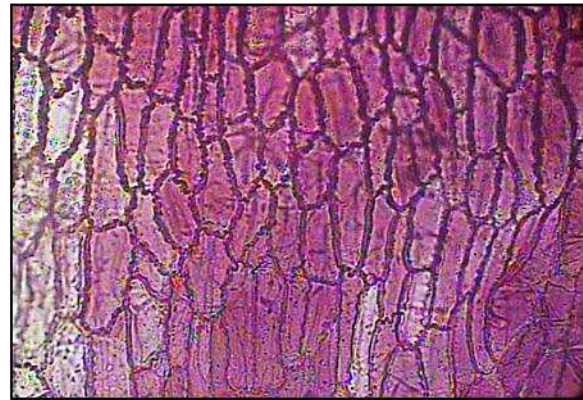


Foto N°26: Células de la gluma (400x)

Test de viabilidad de semillas

Se embebió la semilla en una solución incolora de 2,3,5-trifenil tetrazolio por pocos minutos y se incubó a 37 °C. Se observó una coloración rojiza (formazan) como resultado de la reacción química de oxido reducción característica de las células vivas. La viabilidad medida a través de esta prueba es una característica única y distintiva de una semilla latente (Foto N° 27).

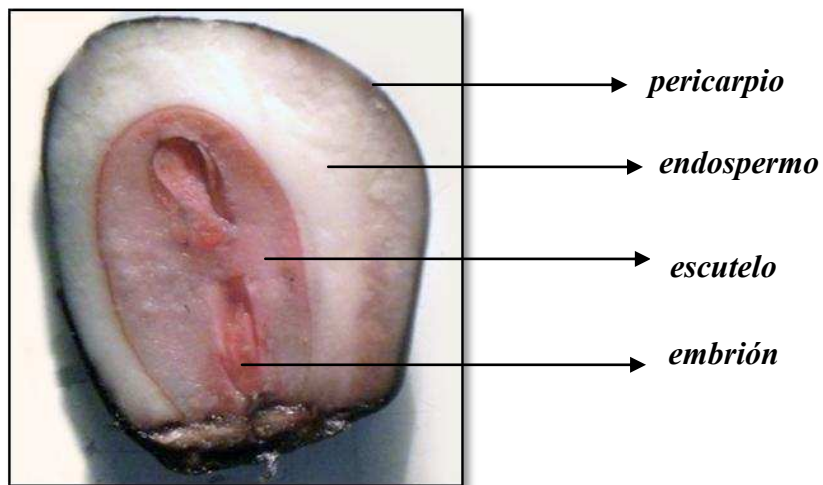


Foto N°27: Corte transversal en grano de “maíz morado” (4x)

Muestras industrializadas

El análisis microscópico fue viable en las muestras N° 9: chips de “maíz morado” y N° 10: mezcla para preparar “mazamorra morada”.

- **Muestra N°9:** chips de “maíz morado”, se pudo evidenciar la presencia de células con oxalato de calcio y aceite (Foto N° 28-A), se observó además polen (espículado) proveniente de una flor probablemente perteneciente a la familia Asteraceae (Compuestas) (Foto N° 28-B).

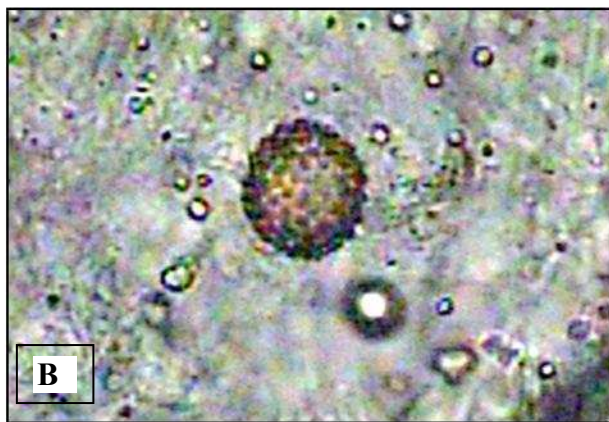
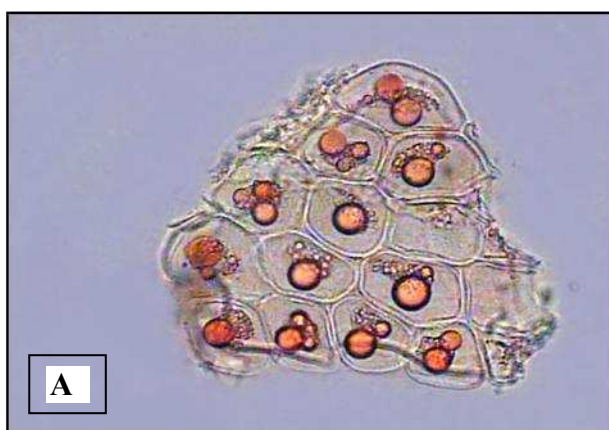


Foto N°28: A: Células con aceite. Reacción de Sudan (400x). **B:** Grano de polen (400x)

- **Muestra N°10:** “mezcla para preparar mazamorra morada”, se comprobó la presencia de almidón de *Zea mays* (almidón poliédrico) y almidón de *Solanum tuberosum* (de forma ovoidal y estriaciones concéntricas bien marcadas) (Foto N° 29)

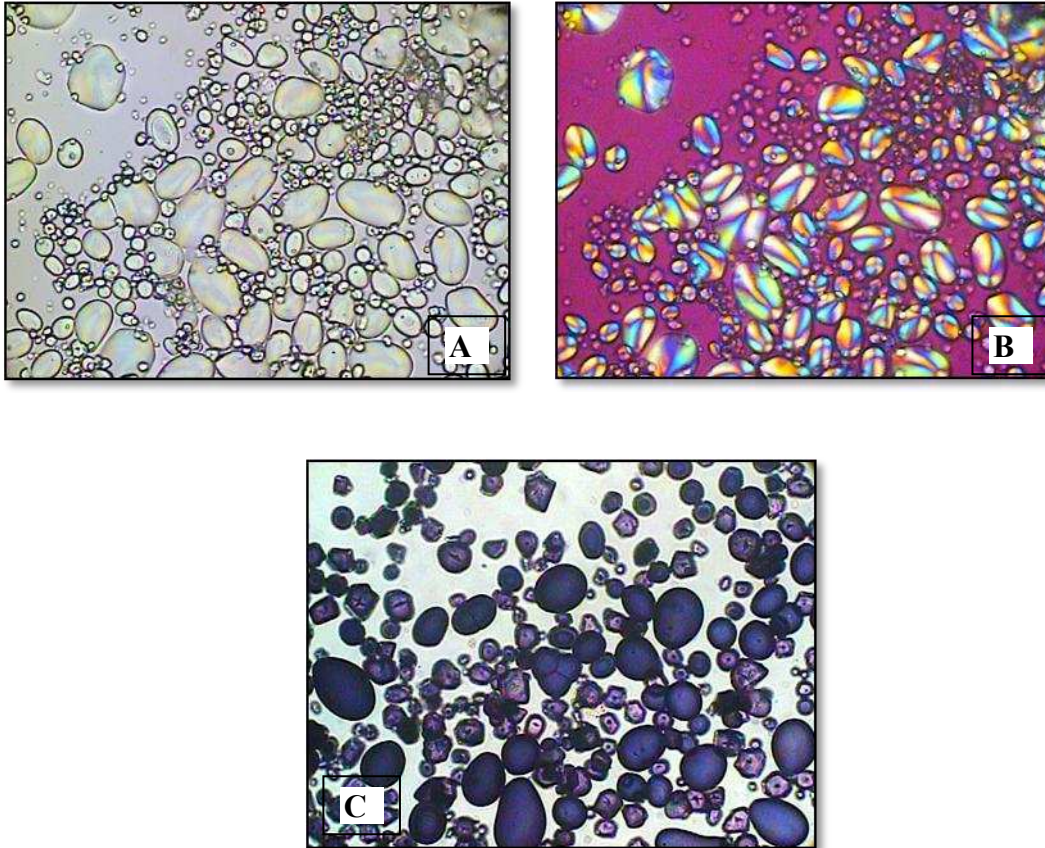


Foto N° 29. A: Granos de almidón de *Zea mays* y *Solanum tuberosum* bajo luz blanca.

B: Granos de almidón de *Zea mays* y *Solanum tuberosum* bajo luz polarizada (200x)

C: Reacción de Lugol en granos de almidón de *Zea mays* y *Solanum tuberosum* (400x)

4.2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO

Para el análisis fitoquímico se realizaron las cuantificaciones de los polifenoles, éstas comprenden el estudio de fenoles totales, y antocianos. Se analizaron 7 muestras vegetales (N° 1 a N° 7) y 5 muestras industrializadas (N° 8 a N° 12).

4.2.1. CUANTIFICACION DE POLIFENOLES

CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES

Muestras Vegetales

Los siguientes gráficos muestran los resultados de la cuantificación de fenoles totales de los extractos acuoso, etanólico y metanólico, correspondientes a las muestras N° 1 a N° 7 (Gráfico N° 1 a N° 3).

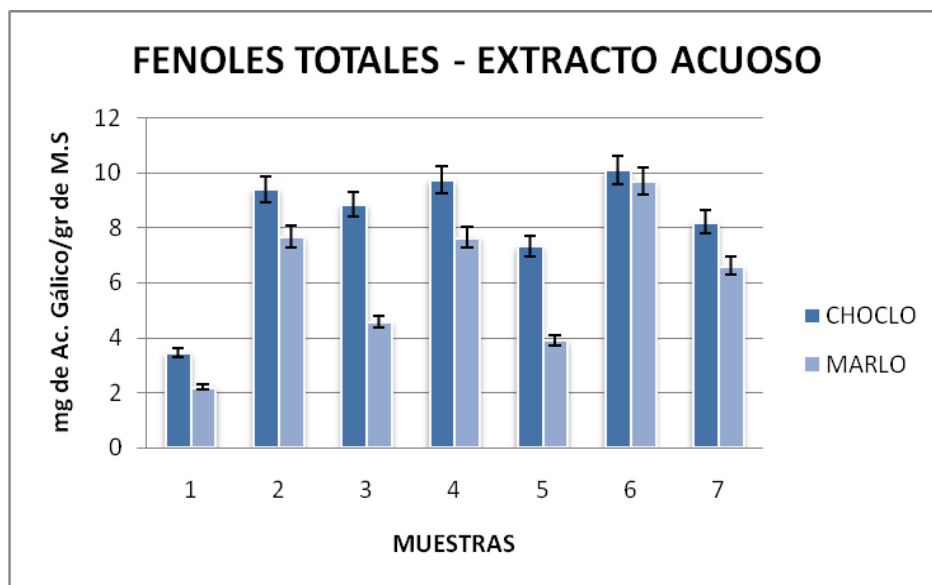


Gráfico N°1: Cuantificación de fenoles totales en el extracto acuoso, expresados como EAG (EAG: mg ácido gálico/g material seco)

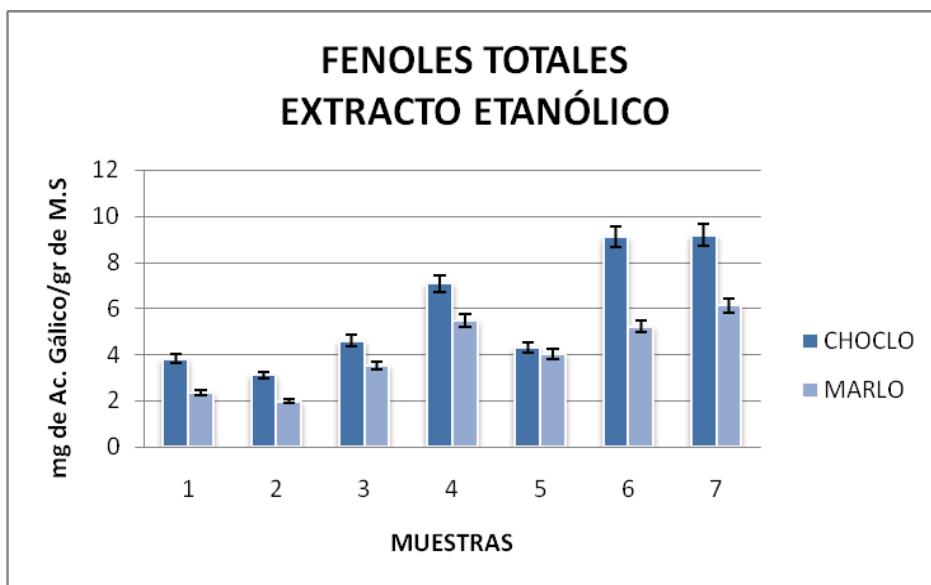


Gráfico N°2: Cuantificación de fenoles totales en el extracto etanólico, expresado como EAG (EAG: mg ácido gálico/g material seco)

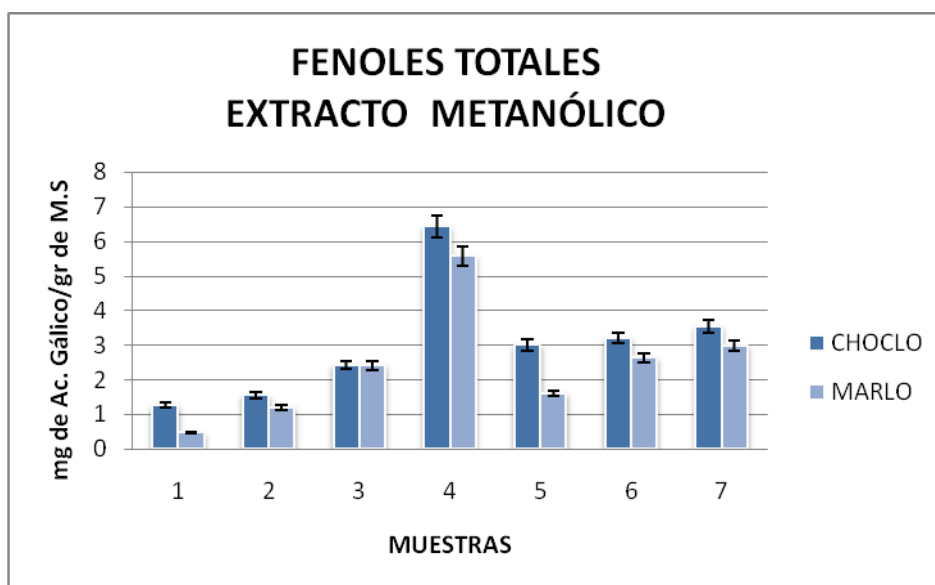


Gráfico N°3: Cuantificación de fenoles totales en el extracto metanólico, expresado como EAG (EAG: mg ácido gálico/g material seco)

Muestras Industrializadas

El siguiente gráfico muestra los resultados de la cuantificación de fenoles totales para las muestras N°8 a N°12. En el caso de la N°8, al tratarse de una muestra líquida de base acuosa, se analizó sin realizar extracto alguno y el valor expresado corresponde a mg de ácido gálico / ml de muestra (Gráfico N°4).

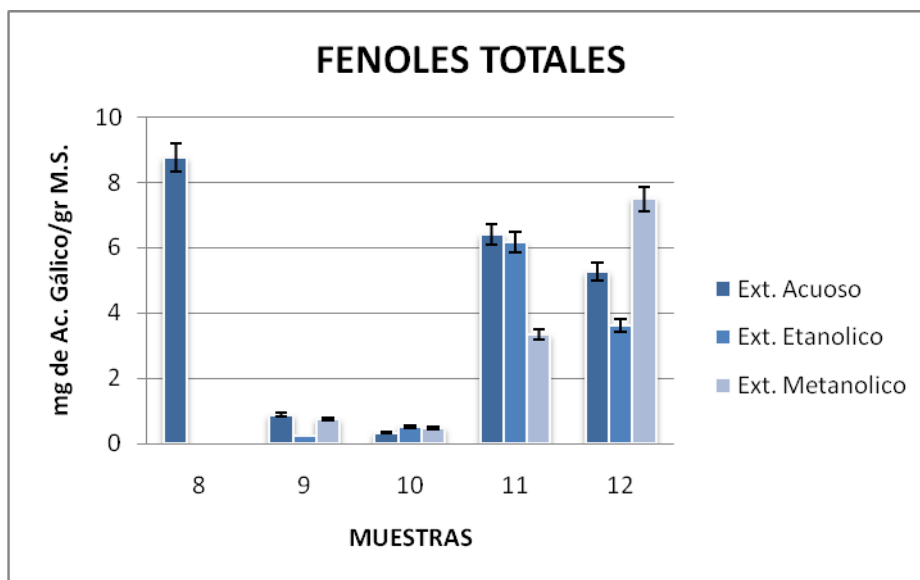


Gráfico N°4: Cuantificación de fenoles totales, expresado como EAG (EAG: mg ácido gálico/ml).

Nota. Muestra N° 8: mg de ácido gálico/ml de muestra.

CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANOS

Muestras Vegetales

Los siguientes gráficos muestran los resultados de la cuantificación de antocianos en el extracto acuoso, etanólico y metanólico, correspondientes a las muestras N° 1 a N° 7 (Gráfico N°5 a N°7).

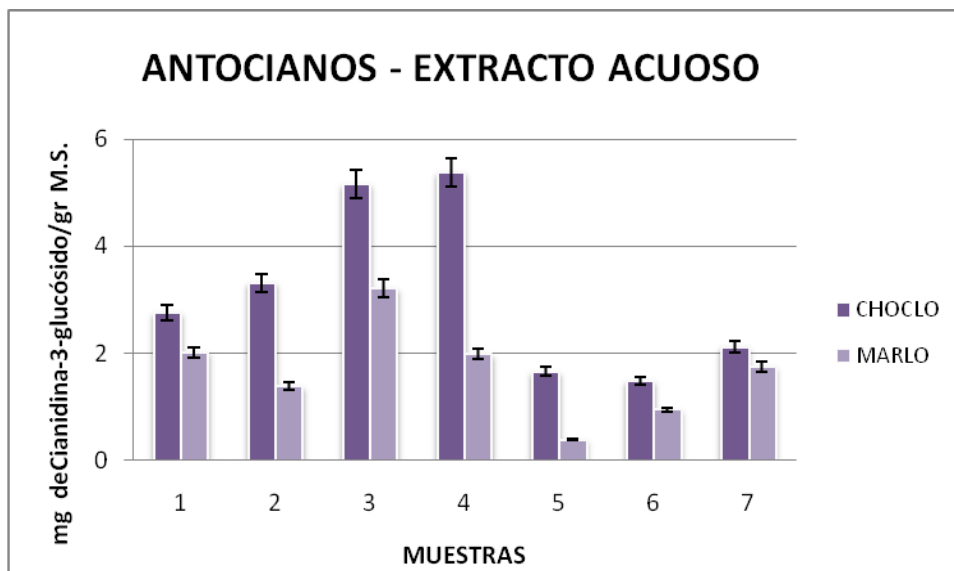


Gráfico N° 5: Cuantificación de antocianos totales, expresado como ECG (ECG: mg de cianidina-3-glucósido / g material seco)

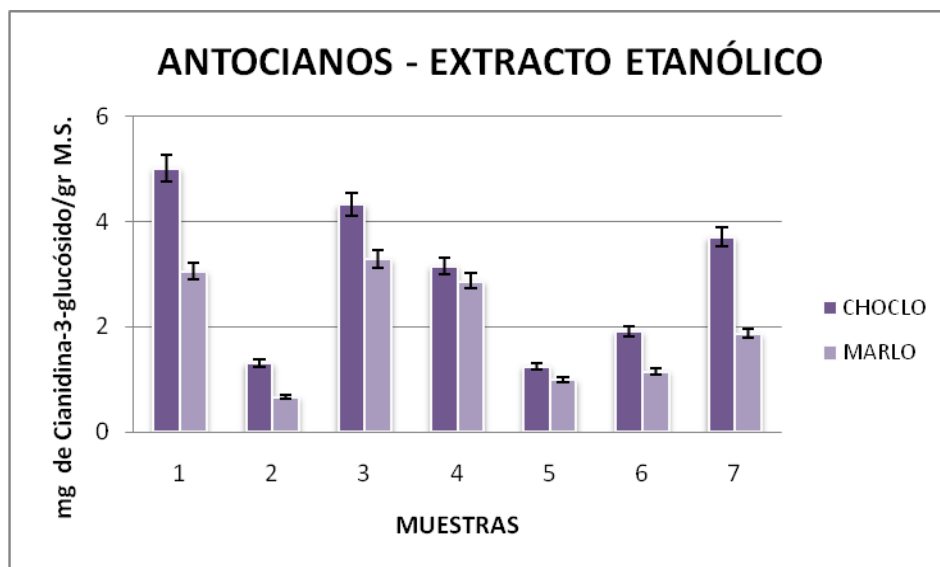


Gráfico N° 6: Cuantificación de antocianos totales, expresado como ECG (ECG: mg de cianidina-3-glucósido / g material seco)

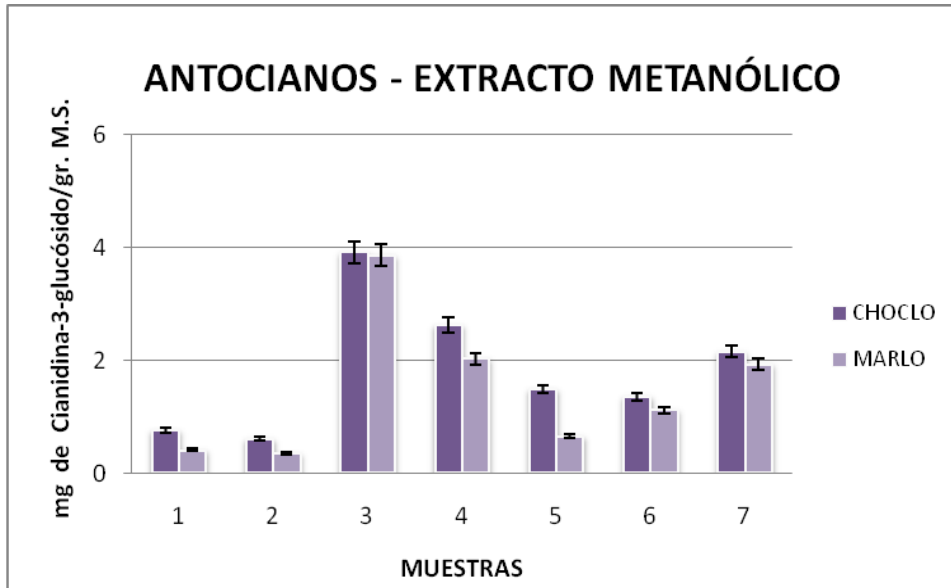


Gráfico N° 7: Cuantificación de antocianos totales, expresado como ECG (ECG: mg de cianidina-3-glucósido / g material seco)

Muestras Industrializadas

Se realizó la cuantificación de antocianos de las muestras N°8 a N°12.

En lo que respecta a las muestras N° 9 a N° 12, no se detectaron cantidades cuantificables de antocianos por éste método.

La muestra N°8 fue el único material en que pudo cuantificarse los antocianos. Por tratarse de una muestra líquida de base acuosa, valor promedio corresponde a 8,77 mg de cianidina-3-glucosido / ml de muestra.

4.2.2. ANALISIS CUALITATIVO DE POLIFENOLES

PERFIL CROMATOGRÁFICO DE ANTOCIANOS

El análisis del perfil cromatográfico de antocianos presentes en las muestras vegetales, se realizó mediante cromatografías en capa delgada (TLC) de sílica gel, utilizando como fase móvil el sistema de solventes acetato de etilo - ácido acético - ácido fórmico - agua, 100:11:11:26.

Muestras vegetales

El perfil de antocianos queda determinado principalmente por la presencia de cuatro bandas (compuestos) para todas las muestras analizadas. Dos de las principales bandas se corresponderían con los compuestos cianidina-3-glucósido y pelargonidina-3-glucósido, cuyas posiciones en el cromatograma concuerdan con los correspondientes testigos (Foto N°30).

Las dos bandas restantes corresponderían a peonidina-3-glucósido y/o a los derivados malonados de los antocianos presentes, teniendo en cuenta los antocianos conocidos para esta especie, según trabajos realizados por otros autores (Pascual-Teresa y col., 2002; Aoki y col., 2001).

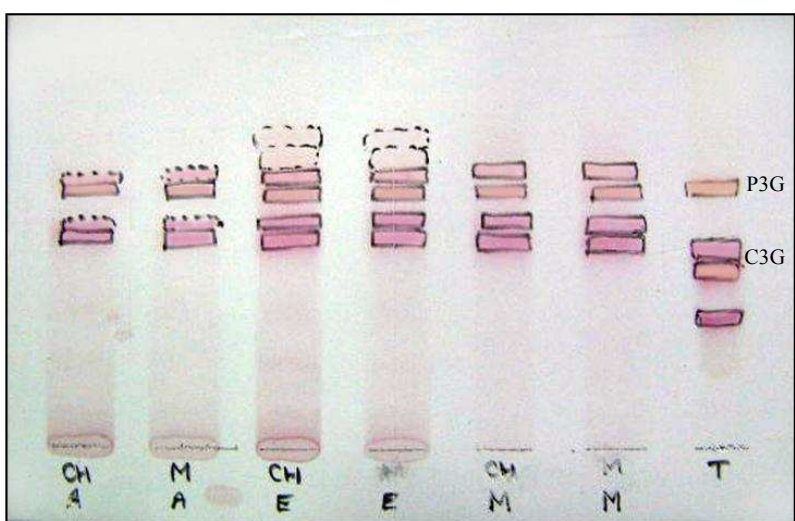


Foto N°30: Perfil cromatográfico de las muestras vegetales P3G: pelargonidina-3-glucósido; C3G: cianidina-3-glucósido

Muestras industrializadas

En el caso de las muestras industrializadas, se pudo apreciar que sólo la muestra N°8 presentó cianidina-3-glucosido. El resto de las muestras no presentaron las antocianinas características del “maíz morado”, las que fueron apreciadas en el caso de las muestras vegetales (Foto N°31).

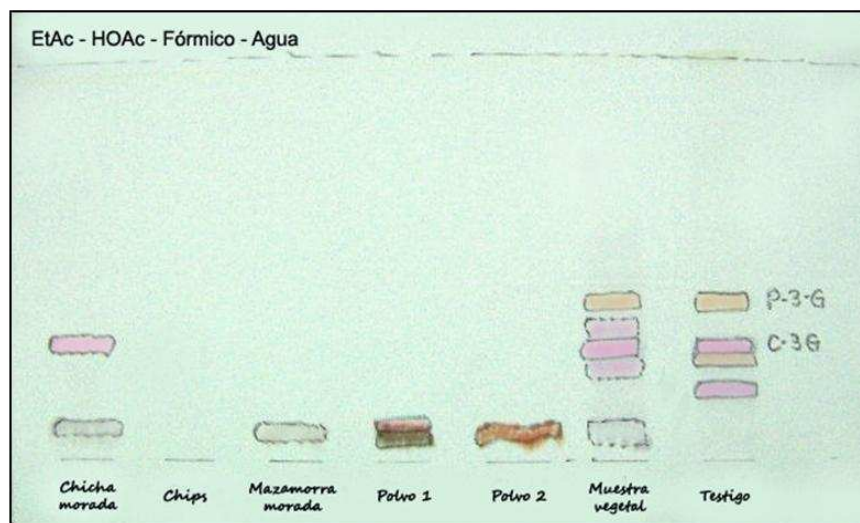


Foto N°31: Perfil Cromatográfico de las Muestras Industrializadas

Aislamiento e identificación de las antocianidinas

Muestras vegetales

Como se mencionara en la sección de metodología, cada extracto fue sometido a una hidrólisis acida con posterior extracción en alcohol amílico. Para determinar la mejor fase móvil se efectuaron diversas cromatografías en capa delgada, resultando el solvente Forestal como el más adecuado para la separación de las antocianidinas. Se observaron tres bandas cuyos *R_f* corresponden con los compuestos cianidina (47), peonidina (63) y pelargonidina (68) (Foto N°32).

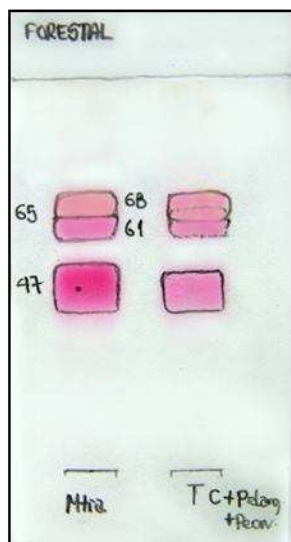


Foto N°32: Perfil de antocianidinas

El aislamiento de los compuestos se efectuó mediante una cromatografía de partición, descendente, empleando celulosa (papel Whatman 3 MM) y como solvente de corrida Forestal. Se observan tres bandas correspondientes a las antocianidinas cianidina, peonidina y pelargonidina (Foto N°33).

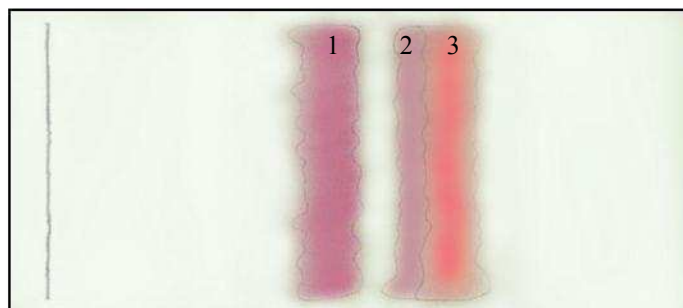


Foto N°33: Aislamiento de los productos de hidrólisis ácida

1: cianidina; 2: peonidina; 3: pelargonidina

Para la identificación de los compuestos, cada banda presente fue recortada y eluida en metanol/HCl. Luego se filtró y concentró cada extracto en un evaporador rotatorio (Foto N°34).



Foto N°34: Elución de las antocianidinas

Posteriormente se determinaron los valores de *R_f* en tres sistemas de solventes y se efectuaron los espectros UV-Visible correspondientes (Tabla N°2 y Figura N°10)

	<i>R_f</i> (x100)			<i>Color</i>	<i>V. máx. (nm) MeOH-HCL</i>	<i>Cambio de color con AlCl₃</i>
	<i>Forestal</i>	<i>Fórmico</i>	<i>BAA</i>			
Cianidina	49	22	68	magenta	535	+
Pelargonidina	68	33	80	rojo	520	-
Peonidina	63	30	71	magenta	532	-

Tabla N°2: Características fisicoquímicas de los compuestos aislados

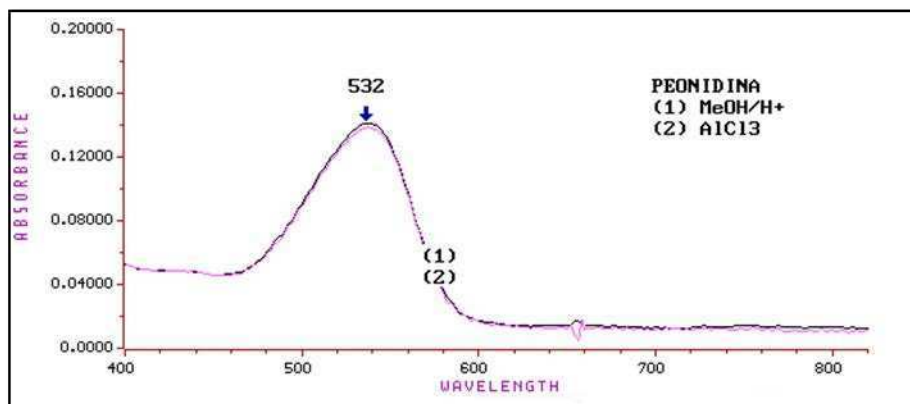
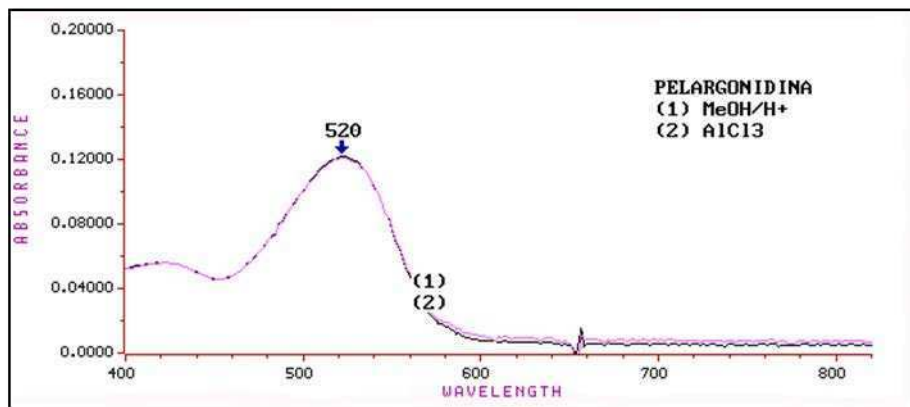
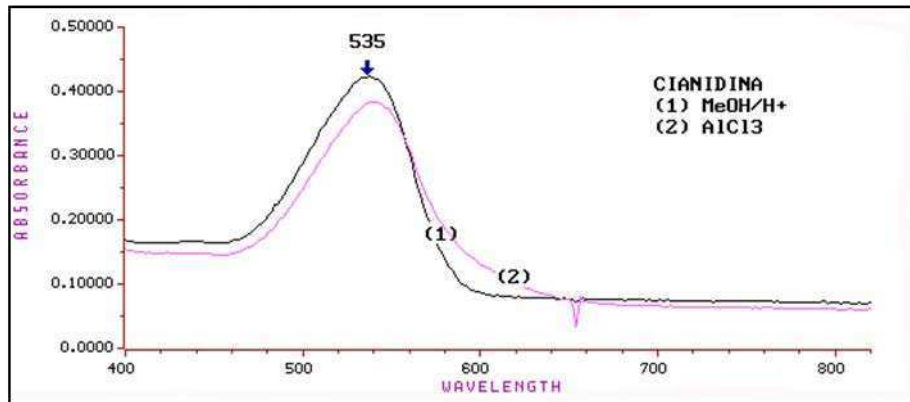


Figura N°10: Espectros correspondientes a las antocianidinas de “maíz morado”:
 cianidina, pelargonidina y peonidina.

Muestras industrializadas

Se realizó un análisis comparativo los hidrolizados (extracto amílico) de las muestras industrializadas y de una muestra vegetal y de los testigos cianidina y pelargonidina.

Como puede observarse en el cromatograma, la muestra N°8 (chicha morada) fue la única de las muestras industrializadas que presentó antocianidinas, la cual corresponde a la cianidina (Foto N°35).

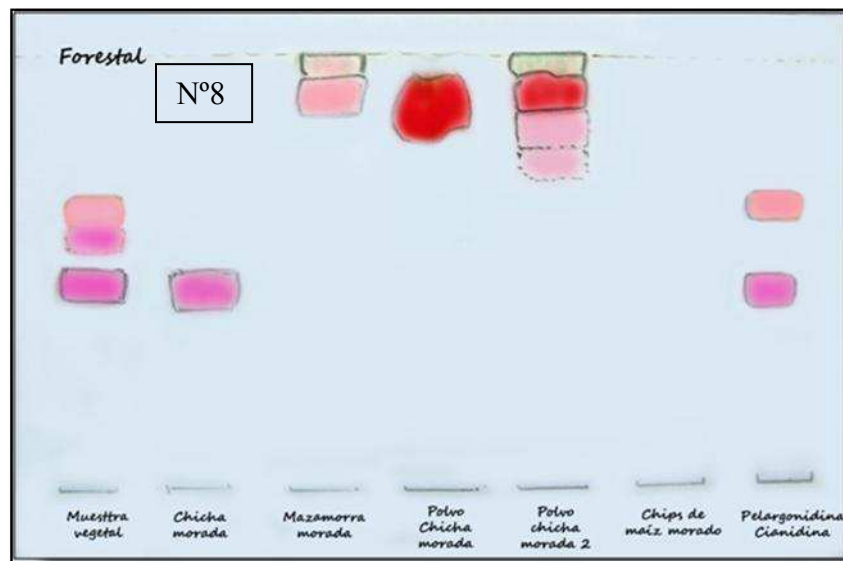


Foto N°35: Perfil Cromatográfico de las Muestras Industrializadas

Como se mencionó anteriormente, mediante el empleo de una técnica sencilla pudo determinarse el perfil cualitativo de las antocianidinas, caracterizado por la presencia de tres compuestos principales, que corresponden a cianidina, pelargonidina y peonidina, según resulta del análisis cromatográfico y espectroscópico y que concuerdan con los datos observados en bibliografía.

4.2.3. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Para el análisis de actividad antioxidante se empleó el método de DPPH. Se analizaron 7 muestras vegetales correspondientes a las muestras N°1 a N°7, y 5 muestras industrializadas correspondientes a las muestras N° 8 a N° 12.

Muestras vegetales

Los siguientes gráficos muestran los resultados de la cuantificación de la actividad antioxidante mediante el método de DPPH en los extractos acuoso, etanólico y metanólico, correspondientes a las muestras N° 1 a N° 7 (Gráfico N°8 a N°10).

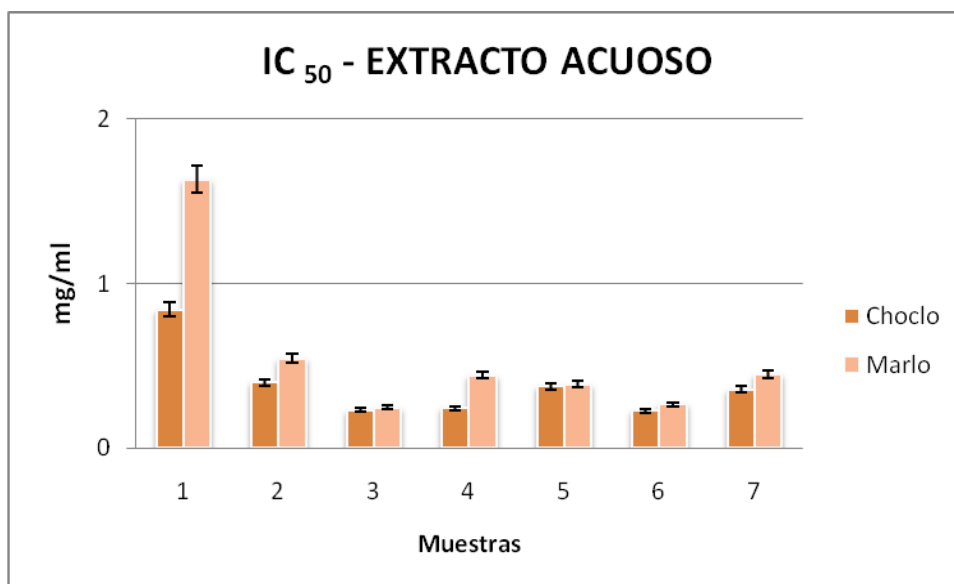


Gráfico N°8. Cuantificación de la actividad antioxidante empleando el método de DPPH del extracto acuoso para muestras vegetales

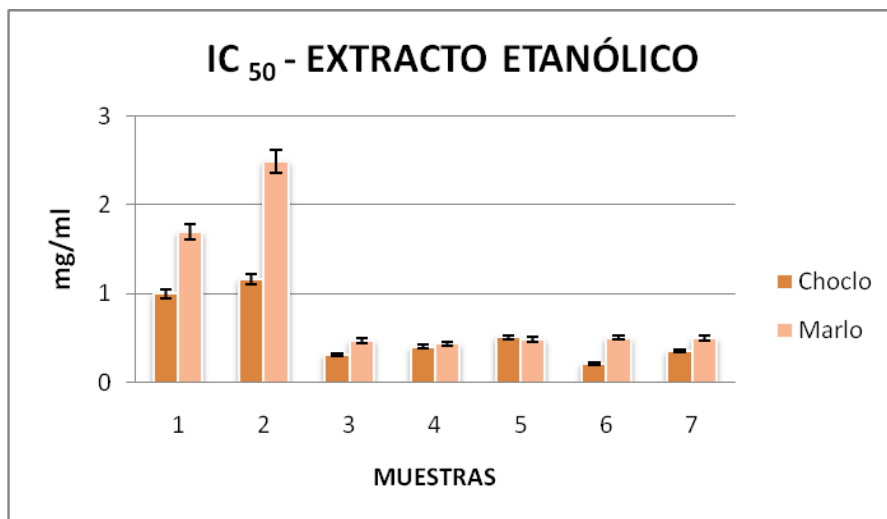


Gráfico N°9. Cuantificación de la actividad antioxidante empleando el método de DPPH del extracto etanólico para muestras vegetales

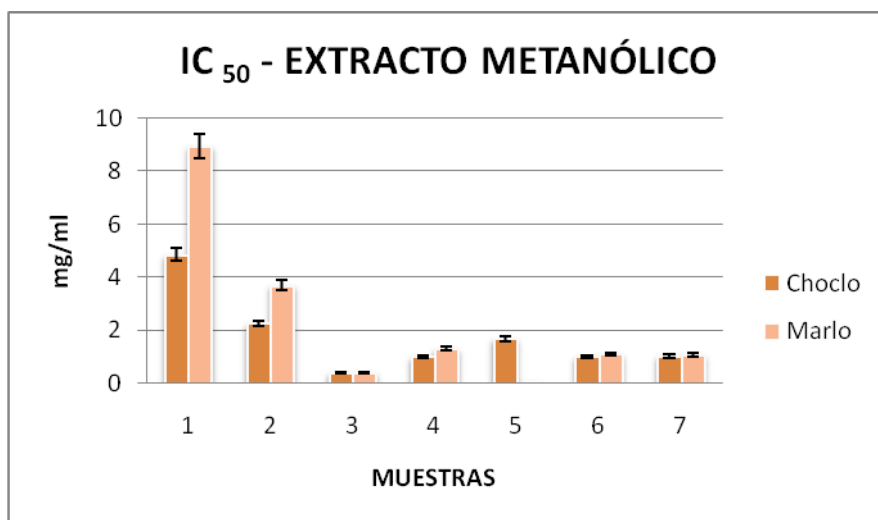


Gráfico N°10. Cuantificación de la actividad antioxidante empleando el método de DPPH del extracto metanólico para muestras vegetales

Muestras Industrializadas

El siguiente gráfico muestra los resultados de la cuantificación de la actividad antioxidante mediante el método de DPPH en la muestra lista para tomar (N°8) y en los extractos acuoso, etanólico y metanólico correspondientes a las muestras N° 9 a N° 12 (Gráfico N° 11).

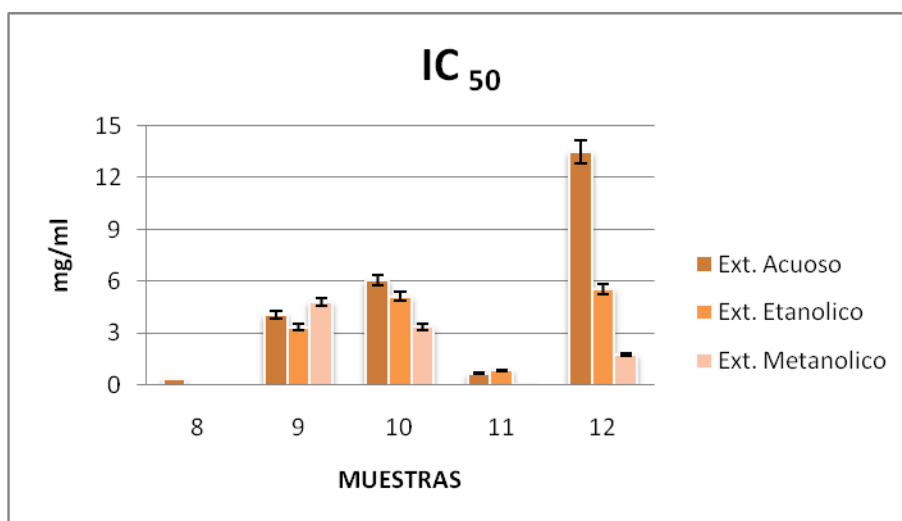


Gráfico N°11. Cuantificación de la actividad antioxidante empleando el método de DPPH en muestras industrializadas

5. DISCUSIÓN

5.1. ANÁLISIS FARMACOBOTÁNICO

5.1.1. ANALISIS MACROSCÓPICO

Muestras vegetales

Las muestras vegetales se trabajaron de dos maneras, choclo (marlo y granos) y marlo desgranado. La longitud promedio de la espiga de “maíz morado” fue de 12,0 cm, con un diámetro promedio de 4,0 cm. Los granos presentaron valores promedios de 13,2 mm de longitud, 12,4 mm de ancho y 4,9 mm de espesor. El color que presentaron las muestras fue violeta intenso, abarcando la totalidad del grano y del marlo. Tanto las dimensiones como el color se corresponden a las características macroscópicas del “maíz morado” raza “*Culli*”, descrito por Cámara Hernández (2011).

Al realizar un corte transversal del grano, se observa un embrión lanceolado, endosperma de color blanco y textura harinosa (Foto N°27). En lo que respecta al marlo, éste es de consistencia dura.

Macroscópicamente no se observó material extraño, que pueda interferir con los resultados de los análisis.

Muestras industrializadas

Como se mencionara en la sección de materiales y métodos, las muestras analizadas abarcaron tanto a muestras en polvo, chips y una muestra líquida.

Todas las muestras presentaron sabor dulce (muestra líquida N°8 y muestras en polvo N°10 a N°12), debido a la adición de ingredientes edulcorantes y sabores particulares, dependiendo de las diferentes formulaciones.

La muestra N°8 presentó un color violeta intenso, similar a la preparación artesanal, y sabor complejo determinado por la presencia de extractos de manzana, ananá, membrillo, canela y clavo.

La muestra N° 9 presenta color violeta pálido y sabor característico de un *snack* de maíz, ligeramente salado, característico de las tortillas de maíz.

Las muestras N° 10 a N° 12 se presentaron bajo la forma de un polvo de dilución instantánea, la muestra N°10 corresponde a un postre con características de la “mazamorra morada” y las muestras N°11 y N°12 corresponden a mezclas para preparar “chicha morada”.

5.1.2 ANALISIS MICROSCÓPICO

Muestras vegetales

Con el objeto de determinar los caracteres anatómicos relevantes en el análisis de muestras vegetales de “maíz morado”, se analizaron, mediante el empleo de diferentes técnicas, tanto los granos como el marlo.

Cabe destacar que todas las muestras vegetales analizadas presentaron los mismos caracteres anatómicos.

Características del grano. Se determinó la presencia almidón característico de *Zea mays*, grano poliédrico con hendidura central trirradiada (Foto N°12), células con contenido de aleurona (Foto N°11), moderada presencia de esclereidas (Foto N°10), así como tricomas (Foto N°14), estos últimos provienen de la zona de la pilorriza que une la base del grano y el marlo.

Características del marlo. Principalmente constituido por esclereidas de distintos tipos (Foto N°15 y N°16), tricomas unicelulares, bicelulares y tricelulares (Foto N°17), además de tráqueas anilladas (Foto N°18).

Este estudio permitió obtener información relevante respecto de los caracteres microscópicos. Es así que la presencia de almidón trirradiado, los tricomas en su conjunto y los diferentes tipos de esclereidas podrían ser considerados elementos principales para la caracterización de muestras de maíz, que en éste caso involucra al “maíz morado”.

En lo que respecta al análisis de los transcortes, el análisis comprendió el estudio del pericarpio del grano, glumas y marlo.

En el grano se evidencian las tres capas que comprenden el pericarpio: epicarpio (constituido por células alargadas, punteadas y sin pelos), el mesocarpio (de células iguales al epicarpio pero de paredes más gruesas) y el endocarpio (formado por células cruzadas y tubulares). Para su correcta visualización se realizó la técnica de vaciado donde se eliminó el pigmento del epicarpio (Foto N°19).

No se encontraron estructuras distintas a las que se pueden encontrar en otras razas de *Zea mays*, resultados que concuerdan con lo detallado por Winton y Winton (1932).

En el caso del marlo, este está constituido por una epidermis de células pequeñas de paredes delgadas (Foto N°20), presentando pelos articulados unicelulares agudos y pelos de puntas romas (Foto N°21). Hacia el interior se observa un tejido esclerenquimático ampliamente desarrollado, constituido por células alargadas, paralelas a la superficie y células isodiamétricas en las capas interiores (Foto N°22). Una zona vascular con vasos anillados, espiralados y contrapuestos y por último una médula constituida por células paarenquimáticas redondeadas de paredes delgadas y con abundante espacio intercelular (Foto N°23). Estas observaciones concuerdan con la descripción de Winton y Winton (1932).

Las glumas están formadas de a pares, una gluma inferior y una gluma superior y son de textura delgada y rugosa. Las células de la gluma presentan bordes un tanto irregulares debido a que están relacionadas a tejido epidérmico y se pueden encontrar tricomas en su base (Foto N°24).

Por lo expuesto, la realización de transcortes aporta información valiosa al momento de contar con elementos de diagnóstico aplicables al control de calidad farmacobotánico.

Muestras Industrializadas

En lo que respecta a las muestras industrializadas, cabe señalar que solo las muestras N°8, N°9 y N°10 presentaron algún carácter vegetal en su composición.

En el caso de la muestra N° 8, si bien presentó restos de material vegetal, no pudo determinarse que pertenezca a “maíz morado”, ya que las células presentes pertenecen al tejido parenquimático, tejido poco diferenciado.

En la muestra N°9 se pudo apreciar almidón característico de *Zea mays* L., y además, células con oxalato de calcio y células con gotas de aceite (Foto N°28-A), lo cual coincidiría con el agregado de sésamo (*Sesamum indicum* L.) y aceite vegetal usado para su cocción.

En el caso de la muestra N°10 se encontró almidón de maíz (grano poliédrico con una hendidura central trirradiada) y almidón de papa (*Solanum tuberosum* L.) constituido por granos ovoides, con hilio excéntrico y estrías (Foto N°29 A-C), tal cual se indica en su composición.

Como puede observarse, para aquellas muestras que presentaron algún elemento vegetal en su composición, el almidón constituyó un elemento de diagnóstico que nos informara sobre la presencia de material vegetal proveniente de maíz. No se observó la presencia de otros elementos característicos, como esclereidas y tricomas, lo que nos indica que solamente se empleó la fécula de maíz para la formulación de las muestras N° 9 y N° 10.

La no detección de esclereidas en las muestras analizadas nos indica la ausencia de otros elementos provenientes del grano y del marlo, éste último presente normalmente en la elaboración de micropulverizados de “maíz morado”.

5.2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO

5.2.1. CUANTIFICACION DE POLIFENOLES

El análisis fitoquímico de las muestras de “maíz morado” comprendió, entre otros estudios, la cuantificación de fenoles totales y antocianos.

Se realizaron tres tipos de extractos: acuosos (cocimientos), etanólico y metanólico en los que se realizó un análisis comparativo.

De la misma forma se procedió con las muestras industrializadas, salvo la muestra N°8, que debido a su presentación líquida, se analizó directamente.

FENOLES TOTALES

Muestras vegetales

La cuantificación de fenoles totales en el **extracto acuoso** permitió determinar valores comprendidos entre 3,44 y 10,11 EAG con un promedio de $8,16 \pm 2,28$ EAG para la extracción en el choclo y valores entre 2,21 y 9,70 con un promedio de $6,05 \pm 2,59$ EAG para la extracción en el marlo, con un aporte del 74 % por parte del marlo al total de polifenoles. Puede observarse una gran variación en la concentración de fenoles totales entre el valor inferior y el superior (muestras N° 1 y N° 6, respectivamente).

La muestra N° 1 presenta valores muy por debajo del promedio de fenoles totales, traduciéndose en una disminución del valor promedio y alto valor para el desvío estándar (Gráfico N° 1).

Para el **extracto etanólico** se determinaron valores comprendidos entre 3,82 y 9,19 EAG, con un promedio de $5,90 \pm 2,55$ EAG para la extracción en el choclo y en el caso del marlo se determinaron valores comprendidos entre 2,36 y 6,14 EAG, con un promedio de $4,11 \pm 1,59$ EAG. El aporte del marlo fue del 70% al total de polifenoles.

Las muestras con mayores aportes fueron las N° 6 y N° 7. Se destaca que las muestras N° 1 y N°2 presentaron los valores más bajos de fenoles totales (Gráfico N° 2).

En el **extracto metanólico** los valores se encontraron entre 1,27 y 6,42 EAG, con un promedio de $3,06 \pm 1,71$ EAG para la extracción en el choclo y 0,47 a 5,58 EAG para la extracción en el marlo con un promedio de $2,41 \pm 1,65$ EAG. El aporte del marlo al total de polifenoles fue del 79%.

La muestra N°1 presentó el valor más bajo de fenoles totales, encontrándose las mayores concentraciones en la muestra N° 4 (Gráfico N° 3).

Si bien los extractos acuoso y etanólico (provenientes del choclo) presentaron concentraciones mínimas y máximas similares, en los acuosos se observó un valor promedio mayor, constituyéndose en el extracto de elección para la extracción de compuestos polifenólicos.

En lo que respecta al extracto metanólico, éste presentó el menor poder de extracción de los tres analizados, por lo que no constituiría un solvente adecuado para la obtención de extractos enriquecidos en polifenoles (Gráficos N°12 y N° 13).

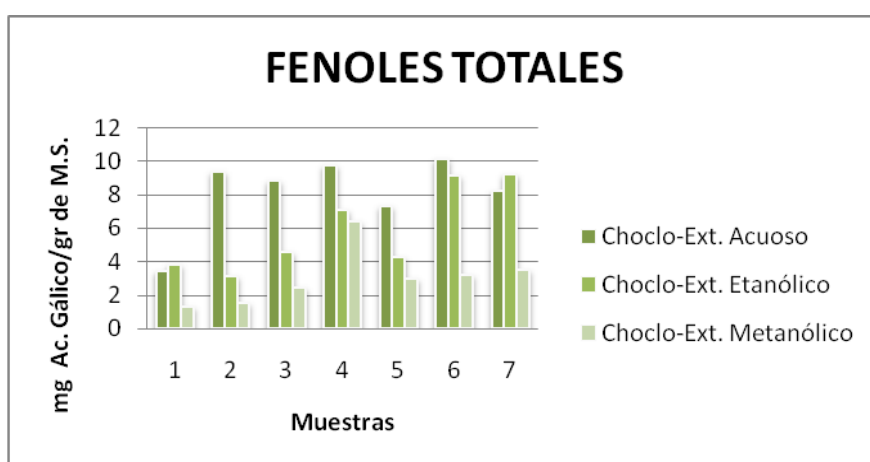


Gráfico N° 12: Comparación entre los diferentes tipos de extractos para cada muestra de choclo analizada

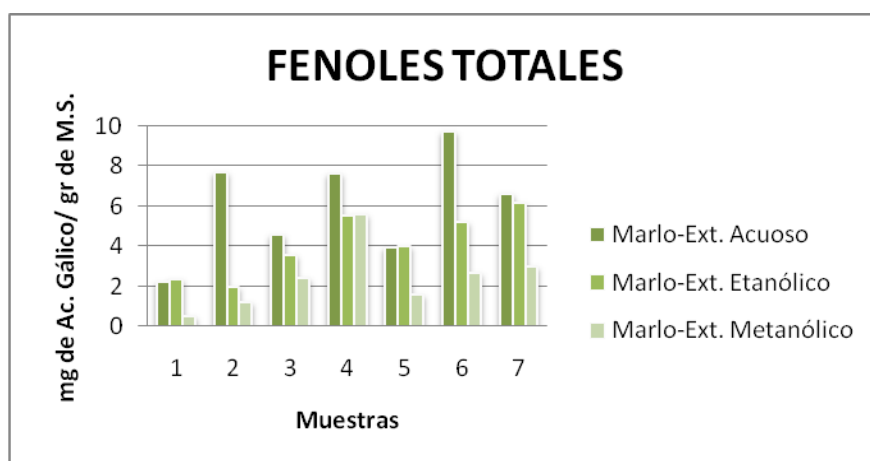


Gráfico N° 13: Comparación entre los diferentes tipos de extractos para cada muestra de marlo analizada

En todos los casos, si se evalúa el aporte del marlo, se observan valores del 74 al 79 % respecto del total de polifenoles presentes, constituyendo una importante fuente de éstos compuestos.

Muestras Industrializadas

En la muestra N°8 (muestra líquida) fue imposible determinar la masa seca de la misma, dando como resultado de los procesos de secado y liofilizado, una muestra gomosa, debido a la alta higroscopicidad y presencia de azúcares. El promedio de fenoles totales para esta muestra fue de 8,77 mg ácido gálico equivalente / ml de extracto (Gráfico N° 4).

En el resto de las muestras, la cuantificación de los fenoles totales en el **extracto acuoso** presentó valores comprendidos entre 0,32 y 6,40 mg ácido gálico equivalente / g de muestra (Gráfico N° 4).

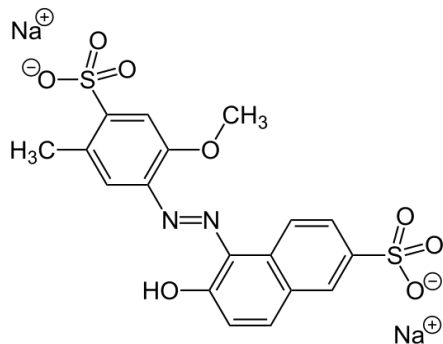
Para el **extracto etanólico** los valores están comprendidos entre 0,24 y 6,17 mg ácido gálico equivalente / g de muestra (Gráfico N° 4).

Para el extracto **metanólico** los valores se encuentran entre 0,47 y 7,50 mg ácido gálico equivalente / g de muestra (Gráfico N° 4).

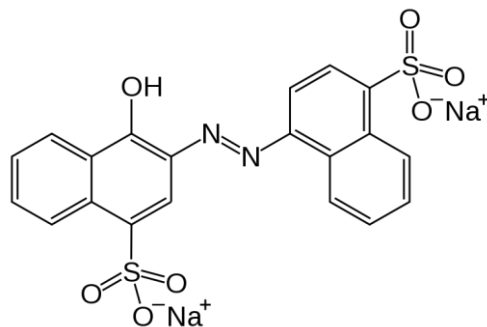
Dada la gran diferencia entre los diferentes tipos de muestras analizadas, es inviable un análisis comparativo entre las mismas. Los resultados solamente expresan los contenidos equivalentes de fenoles totales para cada muestra analizada.

Las muestras N°9 y N°10 presentaron los menores valores de fenoles totales, que esperarían determinarse, dada sus composiciones: aceite vegetal, sésamo, sal y “maíz morado” para la muestra N°9 y azúcar, fécula, acidulante, frutas, edulcorantes y colorantes para la muestra N°10.

En las muestras N°11 y N°12 se determinaron los mayores de fenoles totales (Gráfico N°4). Estas muestras declaran en su composición la presencia de colorantes sintéticos, que podrían ser los responsables de los altos valores de fenoles totales. El análisis químico de estas muestras evidenció la presencia de una alta concentración de colorantes sintéticos.



Rojo Allura



Rojo Carmoisina

Estructura de algunos colorantes sintéticos presentes en las muestras analizadas.

ANTOCIANOS

Muestras vegetales

La cuantificación de antocianos para el **extracto acuoso** permitió determinar valores comprendidos entre 1,49 y 5,37 ECG con un valor promedio de $3,12 \pm 1,59$ ECG para la extracción en el chcolo.

Para los extractos proveniente de los marlos, los valores están comprendidos entre 0.39 y 3,21 ECG con un promedio de $1,67 \pm 0,9$ ECG. El aporte del marlo al total de antocianos fue del 53%.

Las muestras con mayores valores de antocianos fueron las N°3 y N°4, mientras que los menores valores se observaron en las muestras N°5 y N°6 (Gráfico N°5).

Para el **extracto etanólico** se determinaron valores comprendidos entre 1,25 y 5,02 ECG con un promedio de $2,96 \pm 1,50$ ECG para la extracción en el chcolo.

En el marlo los valores van de 0,66 a 3,29 ECG con un promedio de $1,98 \pm 1,08$ ECG. El aporte del marlo al total de antocianos fue de 67%.

Las muestras con mayores valores de antocianos fueron las muestras N°3 y N°4, el menor valor lo presentó la muestra N°5 (Gráfico N°6).

Para el **extracto metanólico** se determinaron valores comprendidos entre 0,61 y 3,92 ECG con promedio de $1,85 \pm 1,16$ ECG para la extracción en el choclo.

Para el marlo, los valores van de 0,35 a 3,87 ECG con un valor promedio de $1,48 \pm 1,25$ ECG, constituyendo el aporte del marlo al total de antocianos del 80%.

Las muestras con mayores valores de antocianos fueron las muestras N°3 y N°4, el menor valor lo presentaron las muestras N°1 y N°2 (Gráfico N°7).

Si se comparan los diferentes extractos entre sí, puede observarse que las muestras N°3 y N°4 presentaron las mayores concentraciones en los tres extractos analizados, tanto para el choclo como para los marlos (Gráficos N°14 y N°15).

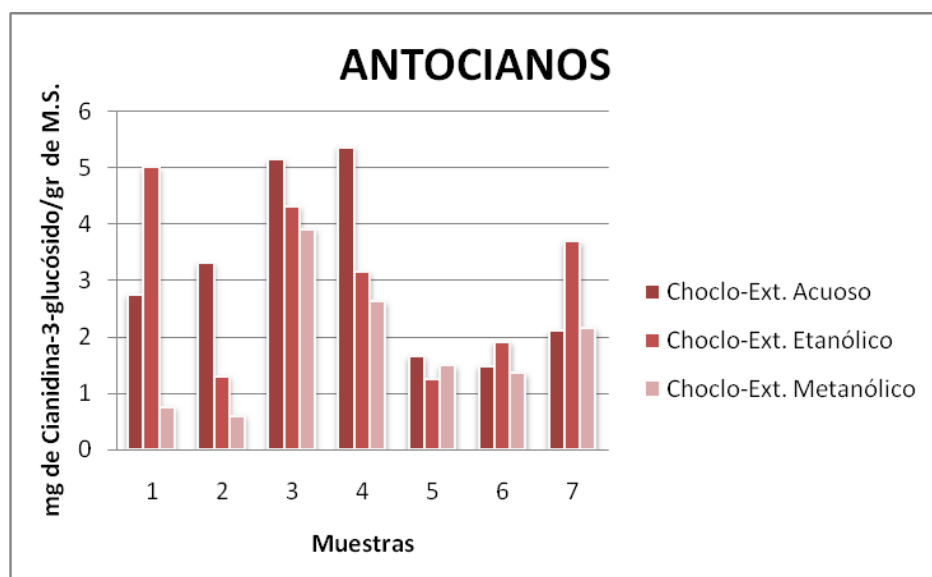


Gráfico N°14: Comparación entre los diferentes tipos de extractos para cada muestra de choclo analizada

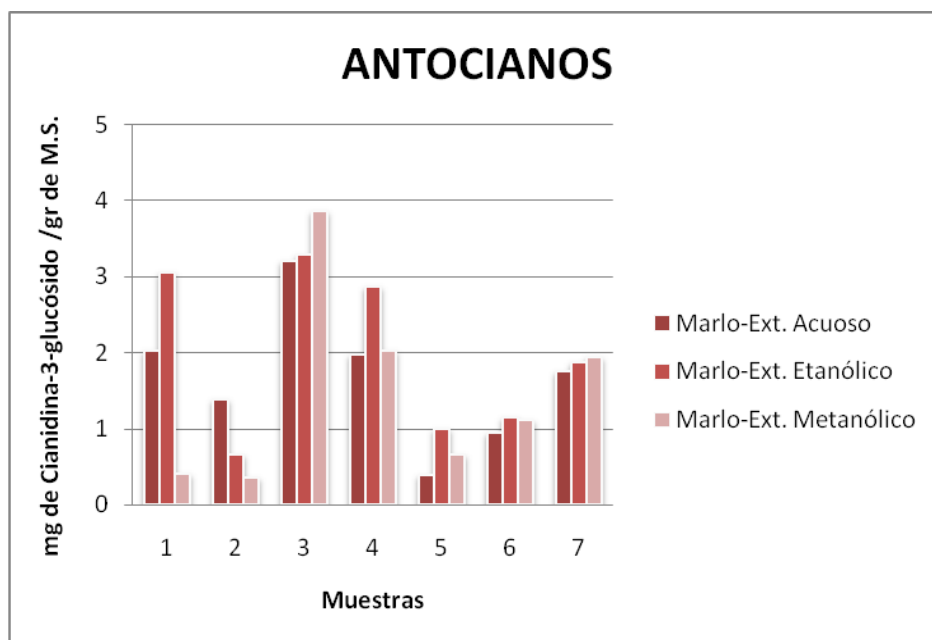


Gráfico N°15: Comparación entre los diferentes tipos de extractos para cada muestra de marlo analizada

Por otro lado, si bien es de esperar una correlación entre contenido de fenoles totales y antocianos, en el presente estudio no se ha podido establecer en términos generales dicha correlación.

En algunas muestras, sí se ha presentado una correlación entre contenido de fenoles y antocianos, como puede observarse en los extractos acuosos de las muestras N°3 y N°4, donde altos valores de fenoles se correlacionan con altos valores de antocianos. Por otro lado, esta condición se invierte para los extractos acuosos de las muestras N°6 y N°7.

En los extractos metanólicos es donde se observa una mayor correlación entre contenido de fenoles y antocianos, donde bajos valores de fenoles para las muestras N°1 y N°2 se acompañan de bajos valores de antocianos, mientras que en las muestras N°5, N°6 y N°7 valores medios de fenoles se correlacionan con concentraciones medias de antocianos.

Salinas y col. (1999) postulan que las características físicas del grano como tamaño y color pueden afectar la concentración de antocianinas. El tamaño influye por un efecto de dilución de las antocianinas en la harina del grano, dado que las antocianinas se localizan en el pericarpio y en la capa de aleurona. Bhornchai y col. (2014) determinaron los cambios

que se producen en el contenido de antocianos por la cocción tradicional, encontrando que el agua de cocción presenta cantidades significativas de antocianos.

Muestras Industrializadas

Para el análisis de antocianos en las muestras industrializadas, la muestra N°8 fue la única que presentó concentraciones cuantificables de antocianos, cuyo valor fue de 8,77 cianidina-glucósido equivalente / ml de muestra, compatible con la presencia de “chicha morada” según se detalla en su formulación. Como se mencionó anteriormente, fue imposible determinar la masa seca de la muestra debido al alto contenido de azúcar, por lo que las concentraciones mencionadas se expresan por ml de extracto original.

En el caso de la muestra N°9 (“chips de maíz morado”), no presentó cantidades cuantificables de antocianinas, lo cual puede deberse a que durante la molienda del grano de “maíz morado”, para la obtención de harina, se elimina el pericarpio y el germen, para obtener solamente el almidón, eliminándose en dicho proceso aquellas partes del grano que contiene los antocianos.

De igual manera para la muestra N°10 la cantidad de antocianos cuantificables fue nula, debido a que para su elaboración se utiliza como ingrediente el almidón de maíz.

Las demás muestras N°11 y N°12 no aportaron valores significativos de antocianos, situación que responde a la ausencia de “maíz morado” en sus formulaciones, detallándose la presencia de “saborizante a chicha morada”.

5.2.2. ESTUDIO DE LOS ANTOCIANOS

Muestras vegetales

El estudio de antocianos permitió determinar la presencia de antocianos basados en cianidina, pelargonidina y peonidina en todas las muestras vegetales, resultados que concuerdan con diversas investigaciones que han reportado dichos compuestos (Figura N°10).

Así, los estudios realizados por Pascual-Teresa y col., 2002; Córtes y col., 2006; Pedreschi y Cisneros-Zevallos, 2007 y Yang y col., 2010, entre otros, determinaron, mediante el

empleo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), los antocianos cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido, entre otros (Figura N°11).

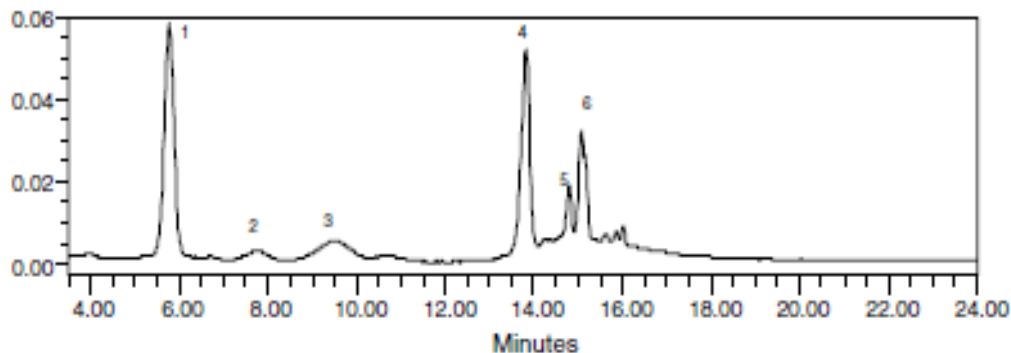


Figura N°11: Espectros de antocianinas “maíz morado” por HPLC (1: Cianidina-3-glucósido, 2: Pelargonidina-3-glucósido, 3: Peonidina-3-glucósido, 4-6: no identificados con los estándares disponibles. Tomado de Pedreschi y Cisneros-Zevallos (2007).

La determinación en el presente estudio de cianidina, peonidina y pelargonidina, como resultado de la hidrólisis ácida de los extractos, concuerda con los estudios previos realizados por Aoki y col. (2001), Pascual-Teresa y col. (2002), Pedreschi y Cisneros-Zevallos (2007), quienes observaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-DAD), empleando la técnica de hidrólisis ácida, la presencia de cianidina, pelargonidina y peonidina. (Figura N°12).

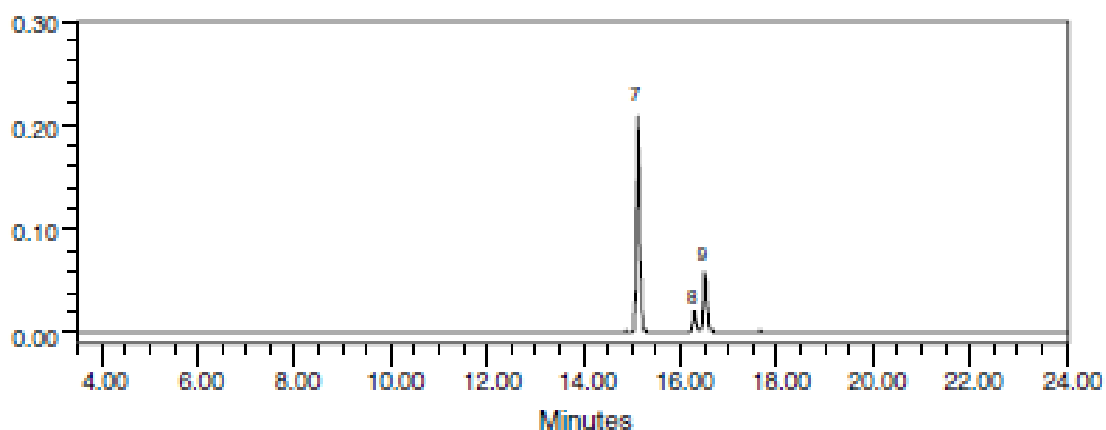


Figura N°12: Espectros de antocianinas. Cianidina (7); Pelargonidina (8); Peonidina (9) Tomado de Pedreschi y Cisneros-Zevallos (2007).

Muestras Industrializadas

Como se mencionó anteriormente, sólo las muestras N° 8 y N° 9 provienen de fuentes vegetales y señalan en su composición la presencia de “maíz morado”, pero solo la N°8 presentó antocianos (cianidina-3-glucósido), que es el antociano presente en mayor proporción en el “maíz morado”.

En el caso de las muestra N° 9 (chips de “maíz morado”), no se determinó la presencia de antocianinas, posiblemente a que estas son eliminadas durante la molienda del grano de “maíz morado”. Además se ha reportado que los procesos como el de nixtamalización, ocasiona una elevada degradación de las antocianinas del grano por el pH alcalino de la solución acuosa del cocimiento, estimándose que entre el 40 y el 70% de las antocianinas se pierden al transformar el grano a masa y tortilla (Salinas y col., 2003). Si se elaboran frituras, el porcentaje de pérdidas aumenta aún un poco más (De la Parra y col., 2007).

Las demás muestras analizadas no presentaron antocianos. El color característico de los productos a base de “maíz morado” es aquí imitado por la presencia de colorantes artificiales.

5.2.3. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La metodología empleada en la determinación de la actividad antioxidante, es la más utilizada en laboratorios de baja complejidad, debido a la facilidad con que puede llevarse a cabo, ya que sólo se requiere de un espectrofotómetro UV-Visible para su determinación.

Muestras vegetales

El **extracto acuoso** presentó valores altos de capacidad antioxidante para las muestras analizadas, siendo las muestra N°3, N°4 y N°6 las que presentaron los valores más altos de actividad antioxidante. La muestra N°1 presentó los valores más bajos de capacidad antioxidante, con un IC₅₀ de 0,84 mg/ml para el choclo y 1.63 mg/ml para el marlo (Gráfico N°8).

Si se realiza un análisis que contemple conjuntamente las concentraciones de fenoles totales y actividad antioxidante, puede observarse una gran correlación entre ellas, donde altos

valores de fenoles totales se traducen en una alta actividad antioxidante (bajos valores de IC_{50}). Si bien es de esperar que esta correlación se mantenga al momento de analizar el contenido de antocianos y la actividad antioxidante, esta relación no siempre es observable.

En el caso de los **extractos etanólicos** las muestras N° 1 y N° 2 presentaron los valores más bajos de actividad antioxidante (IC_{50} entre 1,00 mg/ml y 2,49 mg/ml), resultados que pueden ser explicados teniendo en cuenta las concentraciones de fenoles totales, donde se observaron para dichas muestras los niveles más bajos. Para el resto de las muestras se determinaron altos valores de actividad antioxidante, con (IC_{50} entre 0,21 mg/ml y 0,51 mg/ml), (Gráfico N°9), valores que en líneas generales se correlacionan con altos niveles de fenoles totales (Gráfico N°2).

Los **extractos metanólicos** presentan valores inferiores de capacidad antioxidante comparados con los de los extractos acuoso y etanólico, siendo las muestras N°1 y N°2 las que presentan los menores valores (IC_{50} entre 2,26 mg/ml y 8,94 mg/ml) Gráfico N°10). Estas muestras presentaron los más bajos niveles de fenoles totales (Gráfico N°3).

Si se tienen en cuenta además los niveles de antocianos, en el extracto metanólico se observa una correlación entre niveles de antocianos y actividad antioxidante, donde altos niveles de antocianos se correlacionan con una alta actividad antioxidante. Esto puede observarse en las muestras N° 3, N° 4, N° 5, N° 6 y N° 7 (Gráfico N°7).

Muestras Industrializadas

En el caso de las muestras industrializadas, las únicas que presentaron cierta actividad antioxidante fueron las muestras N° 8 y N° 11.

Como se ha demostrado en el estudio de los antocianos, la muestra N°8 presenta cianidina-3-glucósido y además declara la presencia de ácido cítrico, clavo de olor y canela, los cuales poseen cierta capacidad antioxidante, y que posiblemente actúen en forma sinérgica.

En el caso de la muestra N°11, que presentó una capacidad antioxidante considerablemente alta, esta podría ser atribuida al agregado de ácido cítrico, aunque se desconocen las proporciones exactas de este ingrediente en la composición de la muestra. Es de destacar que esta muestra no presentó antocianos en su estudio.

Las muestras N°9, N°10 y N°12 no presentaron valores significativos de IC₅₀ (Gráfico N°11). Si bien la muestra N° 12 presentó altos valores de fenoles totales (Gráfico N°4) y declara en su rótulo la presencia de ácido ascórbico, su actividad antioxidante resultó casi nula. Muy probablemente los altos valores de fenoles totales respondan a la presencia de colorantes con grupos fenólicos en su molécula, pero de escasa o nula actividad antioxidante.

6. CONCLUSIONES

- El presente estudio se basó en el uso de técnicas de fácil y rápida realización, así como de bajo costo, las cuales son posibles de emplear en un laboratorio de baja complejidad. Estas técnicas permiten obtener información relevante, constituyendo un punto de partida para la validación de distintos parámetros empleados en el análisis del control de calidad de muestras vegetales, extractos, micropulverizados y harina de “maíz morado”.
- El material vegetal analizado, aunque se encuentra seco debido al proceso de secado “artesanal” bajo el sol, no fue sometido a ningún proceso adicional de secado o remoción de agua, resultando en muestras con diferente contenido de humedad, que se traduce en un efecto de dilución al momento de la cuantificación de antocianos y fenoles totales.
- Las técnicas de disociado son de gran utilidad para el control de calidad de muestras de “maíz morado” y cobra especial importancia en el análisis de muestras industrializadas que lo adicionen en su composición.
- La presencia de los caracteres botánicos distintivos de *Zea mays*, como almidón, y de los diversos tricomas hallados (glandulares y eglandulares), pueden constituir una valiosa herramienta para el control de calidad de muestras comerciales.
- El presente estudio indica que tanto los extractos acuosos como etanólicos de “maíz morado” tienen importantes contenidos de polifenoles y actividad antioxidante.
- Los antocianos son los principales metabolitos de “maíz morado”, constituyéndose en compuestos útiles en el control de calidad de esta especie.

- El perfil de antocianos, determinado por TLC, se presentó sin modificaciones entre las diversas muestras vegetales analizadas. Los compuestos principales correspondieron a glucósidos de cianidina, peonidina y pelargonidina. Los compuestos mayoritarios están representados por los antocianos basados en cianidina.
- En el análisis cuali-cuantitativo de antocianos en las muestras industrializadas, pudo observarse que sólo aquella proveniente de la cocción de la materia prima (“chicha morada”), presentó cianidina-3-glucósido. Las otras muestras no presentaron antocianos debido a que están compuestos básicamente por colorantes, o bien como resultado del proceso industrial se eliminaron estos componentes.
- Si bien el “maíz morado” es empleado tradicionalmente como alimento bajo la forma de “chicha morada” y “mazamorra morada”, la realización de extractos etanólicos-acuosos presentaría una alternativa interesante como fuente de compuestos fenólicos bioactivos (antioxidantes), o como fuente de colorantes naturales (antocianos).
- La determinación de la actividad antioxidante, empleando la técnica de DPPH, evidencia una relación compleja que incluye tanto al contenido de fenoles totales como al de antocianos, actuando ambos metabolitos en forma sinérgica.
- La mayoría de las muestras industrializadas analizadas no proporcionan ningún tipo de antociano o compuesto antioxidante de origen vegetal. La presencia de colorantes sintéticos en sus formulaciones pueden afectar la salud, ya que pueden ser potenciadores de patologías como asma, hiperactividad y alergias.

7. REFERENCIAS

- Adlercreutz, H. 2002. Phytoestrogens and cancer. *The Lancet Oncology* 3: 32-40.
- Andersen, Ø.; Markham, K. 2006. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*.
- Aoki, H.; Kuze, N. & Kato, Y. 2001. Anthocyanins isolated from purple corn (*Zea mays* L.).
- Aragón, CF.; Taba, S.; Hernández, JM.; de D. Figueroa, J.; V. Serrano y; F. H. Castro. 2006. Catálogo de maíces criollos de Oaxaca. INIFAP-SAGARPA. Libro Técnico Num. 6. Oaxaca, Oaxaca. México pp: 334.
- Arroyo, J.; Raez E.; Rodríguez, M.; Chumpitaz, V.; Burga, J.; De la Cruz, W.; Valencia, J. 2008. Actividad antihipertensiva y antioxidante del extracto hidroalcohólico atomizado de “maíz morado” (*Zea mays* L) en ratas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 2008; 25(2): 195-99.
- Arroyo, J.; Raez, E.; Rodríguez, M.; Chumpitaz, V.; Burga, J.; De la Cruz, W.; Valencia, J. 2007. Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de “maíz morado” (*Zea mays* L.) en ratas hipercolesterolémicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* v.24 n.2
- Atmani, D.; Ruiz-Larrea, M.B.; Ruiz-Sanz, JI.; Lizcano, L.J.; Bakkali, F.; Atmani, D. 2011. Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *Clematis flammula* leaf extracts. *J. Med. Plants Res.* 5: 589-598.
- Atoui, AK.; Mansouri, A.; Boskou, G.; & Kefalas, P. 2005. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89, 27-36.

- Betrán, FJ.; Bockholt, AJ.; Rooney, LW. 2001. Blue corn. *In: Specialty Corns*. A R Hallauer (ed). Iowa State University, Ames Iowa, USA. pp: 293-337.
- Bohm, BA. 1998. *Introduction to Flavonoids*. Harwood Academic Publishers, Amsterdam.
- Cisneros-Zevallos, L.; Cevallos-Casals, BA. 2003. Stoichiometric and Kinetic Studies of Phenolic Antioxidants from Andean Purple Corn and Red-Fleshed Sweetpotato. *J. Agric. Food Chem.* 51: 3313-3310.
- Bomser, J.; Madhavi, D. L.; Singletary, K., & Smith, M. A. 1996. Invitro anticancer activity of fruit extracts from *Vaccinium* species. *Planta Medica* 62: 212-216.
- Bhornchai, H.; Bhalang, S.; Ratchada, T.; Marvin P. S., Kamol, L. 2014. Anthocyanin, phenolics and antioxidant activity changes in purple waxy corn as affected by traditional cooking. *Food Chemistry* 164: 510-517.
- Brack-Egg, A. 1999. *Zea mays* L. *In: Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú*. Cuzco, Perú: Imprenta del Centro Bartolomé de las Casas pp:537-538
- Bressani, R. 1990. Chemistry, technology and nutritive value of maize tortillas. *Food Rev. Int.* 6: 225-264.
- Broun, P. 2005. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis: a complex network of conserved regulators involved in multiple aspects of differentiation in *Arabidopsis*. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 272-279.
- Caltagirone, S.; Rossi, C.; Poggi, A.; Ranelletti, F.O.; Natali, P.G.; Brunetti, M.; Aiello, F.B.; Piantelli, M. 2000. Flavonoids apigenin and quercetin inhibit melanoma growth and metastatic potential. *International Journal of Cancer* 87: 595-600.

- Cámara Hernández, J.; Miente Alzogaray, AM.; Bellón, R.; Galmarini, AJ. 2011. Razas de maíz nativas de la Argentina. Ed. Facultad de Agronomía, pp: 20.
- Cámara Hernández, J.; Arancibia, D. 2007. Maíces Andinos y sus usos en la quebrada de Humahuaca y regiones vecinas. 1ª Ed. Buenos Aires. Facultad de Agronomía- Universidad de Bs. As.
- Castañeda, B.; Ibañez, L.; Manrique, R. 2004. Estudio fitoquímico y farmacológico del *Zea mays* L. amilaceae st (“maíz morado”). Acta Médica Sanmartiniana 1(1): 1995-2005.
- Coloma, C. “El dulce morado”. Diario “El Comercio”, Lima, 18 de octubre de 2004, pág. b-4.
- Cornwell, T.; Cohick, W.; Raskin, I. 2004. Dietary phytoestrogens and health. Phytochemistry 65: 995-1016.
- Cui, L.; Gao, R.; Dong, S.; Zhang, J.; Liu, P.; Zhang, H.; Meng, J.; Shi, D. 2012. Effects of ear shading on the anthocyanin contents and quality of kernels in various genotypes of maize. Australian Journal of Crop Science 6(4): 704-710.
- D' Ambrogio, A. 1986. Manual de técnicas en histología vegetal. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, pp 84.
- Deschner, EE.; Ruperto, J.; Wong, G.; Newmark, H.L. 1991. Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol induced colonic neoplasia. Carcinogenesis 12: 1193-1196.
- Dixon, RA. 2004. Phytoestrogens. Annual Review of Plant Biology 55: 225-261.
- Dixon, RA.; Steele, CL. 1999. Flavonoids and isoflavonoids a gold mine for metabolic engineering. Trends in Plant Science 4: 394-400.

- Dixon, RA.; Xie, DY.; Sharma, S.B. 2005. Proanthocyanidins a final frontier in flavonoid research. *New Phytologist* 165: 9-28.
- Doebley, J. & Stec, A. 1991. Genetic analysis of the morphological differences between maize and teosinte. *Genetics*, 129: 285-295.
- Doebley, J. & Stec, A. 1993. Inheritance of the morphological differences between maize and teosinte: comparison of results for two F2 populations. *Genetics*, 134: 559-570.
- Doebley, J. 1990. Molecular evidence and the evolution of maize. *Econ. Bot.*, 44: 6-27.
- Doebley, J. 1994. Genetics and the morphological evolution of maize. In M. Freeling & V. Walbot, eds. *The maize handbook*, New York, NY, USA, Springer-Verlag p. 66-77.
- Doebley, J.; Stec, A.; Wendel, J. & Edwards, M. 1990. Genetic and morphological analysis of a maize-teosinte F2 population: implications for the origin of maize. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87: 9888-9892.
- Dorweiler, J.; Stec, A.; Kermicle, J. & Doebley, J. 1993. Teosinte glume architecture 1: a genetic locus controlling a key step in maize evolution. *Science*, 262: 233-235.
- Durst, R.; Wroslstad, R. 2001. Separation and characterization of anthocyanins by HPLC. In: R.E. Wroslstad, T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D.M. Smith, and P. Sporns (eds.). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* F1.3.1. 115
- Fennema, O.; Demadarán, S. 2009. *Química de los Alimentos*. 3ª edic. Editorial ACRIBIA S.A. Zaragoza, España.

- Ferguson, L.R.; Shuo-tun, Z.; Harris, P.J. 2005. "Antioxidant and antigenotoxic effects of plant cell wall hydroxycinnamic acids in cultured HT-29". *Molecular Nutrition & Food Research* 49(6): 585–693.
- Fruebis, J.; Tsao, TS, Javorschi, S.; Ebbets-Reed, D.; Erickson, MR.; Yen, FT.; Bihain, BE; Lodish, HF. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98: 2005-2010.
- Fukamachi, K.; Imada, T.; Ohshima, Y.; Xu J.; Tsuda, H. 2008. Purple corn color suppresses Rasprotein level and inhibits 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary carcinogenesis in the rat. *Cancer Sci*. 99: 1841–1846.
- Galinat, W.C. 1988. The origin of corn. In G.F. Sprague & J.W. Dudley, eds. *Corn and corn improvement*, p. 1-31. Madison, WI, USA, American Society of Agronomy.
- Galinat, W.C. 1995. El origen del maíz: el grano de la humanidad - The origin of maize: grain of humanity. *Econ. Bot.*, 49: 3-12.
- García Alonso, J.; Ros, G.; Vidal Guevara, L.; Periago, J. 2006. Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects. *Nutrition Research* 26: 330-339.
- Giusti, M.; Rodríguez Saona, L.; Wrolstad, R. 1999. Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 4631-4637.
- Giusti, M.; Wrolstad, R. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In: R.E. Wrolstad, T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwart, C.F. Shoemaker, D.M. Smith, and P. Sporns (eds.). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* F1.2.1.

- Gómez, MH.; McDonough, C M.; Rooney, LW.; Wanishka, R D. 1989. Changes in corn and sorghum during nixtamalization and tortilla baking. *J. Food Sci.* 53: 330-336.
- Goodman, MM. 1988. The history and evolution of maize. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.*, 7: 197-220.
- Goto, T.; Kondo, T. 1991. Structure and molecular stacking of anthocyanins Flower color variation. *Angewandte Chemie Internattional Edition in English* 30: 17-33.
- Gould, K.; Davies, K.; Winefield, C. 2009. Anthocyanins: Biosynthesis, Functions, and Applications
- Gould, KS. 2003. Free radicals, oxidative stress and antioxidants. In: Thomas, B., Murphy, D.J. and Murray, B.G. (Eds), *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* 9-16.
- Greenwald, P. 2004. Clinical trials in cancer prevention: current results and perspectives for the future. *Journal of Nutrition* 134 (12 Suppl.): 3507S-3512S.
- Guzmán-Gerónimo, R.; Alarcón-Zavala, T.; Silva Hernández, E.; Meza Alvarado, J.; Herrera Meza, S.; Oliart Ros, R.; Chávez-Servia, J. 2012. Polifenoles totales, antocianinas, actividad antioxidante de maíz azul y su efecto en ratas Wistar con síndrome metabólico inducido.
- Hagiwara, A.; Miyashita, K.; Nakanishi, T.; Sano, M.; Tamano, S.; Kadota, T.; Koda, T.; Nakamura, M.; Imaida, K.; Ito, N.; Shirai, T. 2001. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Lett.* 171(1): 17-25.
- Halliwell, B.; Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.

- Harborne, JB.; Self, R. 1997. Malonated cyanidin 3-glucosides in *Zea mays* and other grasses. *Phytochemistry* 26: 2417-2418.
- Harborne, JB.; Williams, C.A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55(6): 481-504.
- Harborne, J.B. 1984. *Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*, 2nd Ed. Chapman & Hall, London.
- Haslam, E. 1998. *Practical Polyphenols From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action*. Cambridge University, Cambridge, UK 18-22.
- He, J.; Giusti, MM. 2010. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2010; 1: 163-87.
- Herald, PJ. and Davidson, PM. 1983. Antibacterial Activity of Selected Hydroxycinnamic Acids. *Journal of Food Science*, 48: 1378–1379.
- Ho, P.T. 1956. The introduction of American food plants into China. *Am. Anthropol.* 57: 191-201.
- Holzbeierlein, JM.; McIntosh Thrasher, J.B. 2005. The role of soy phytoestrogens in prostate cancer. *Current Opinion in Urology* 15: 17-22.
- Hou, DX. 2003. Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins, *Current Molecular Medicine* 3: 149.
- Howard, L.; Clark, J.; Brownmiller, C. 2003. Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83: 1238-1247.

- Huang, D.; Ou, B.; Prior, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(6), 1841-1856.
- Ibañez, L.; Manrique, R.; Castañeda, B. 2004. Estudio fitoquímico y farmacológico del *Zea mays* L. amilaceae st (“maíz morado”) *Cultura* 19, Año XXII, Núm. 19: 105-130 Lima – Perú. Edición, Editorial Médica Panamericana, pp. 991.
- Iltis, H.H. 1983. From teosinte to maize: the catastrophic sexual transmutation. *Science* 222: 886-894
- IRAM. *Instituto Argentino de Racionalización de Materiales*. 1993. Norma 37500: Drogas vegetales. Método para su control por la técnica de disociación débil. Norma 37501: Drogas vegetales. Método para su control por la técnica de disociación fuerte.
- Kahkonen, M.P.; Heinonen, M. 2003. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(3): 628-633. 121
- Kalyanaraman, B. 2013. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biol.* 2013 Feb 8; 1: 244-257.
- Kamei, H.; Kojima, T.; Hasegawa, M.; Koide, T.; Umeda, T.; Yukawa, T.; Terabe, K. 1995. Suppression of tumor-cell growth by anthocyanins in vitro. *Cancer Investigation* 13(6): 590-594.
- Kandaswami, C.; Perkins, E.; Soloniuk, D.S.; Drzewiecki, G.; Middleton, E. 1991. Antiproliferative effects of citrus flavonoids on a human squamous cell carcinoma in vitro. *Cancer Letters* 56: 147-152.
- Kang, MK.; Li, J.; Kim, JL.; Gong, JH.; Kwak, SN.; Park, JH.; Lee, JY.; Lim, SS.; Kang, YH. 2012. Purple corn anthocyanins inhibit diabetes-associated glomerular

monocyte activation and macrophage infiltration. *Am J Physiol Renal Physiol.* Oct; 303(7): F1060-9.

- Katsube, N.; Iwashita, K.; Tsushida, T.; Yamaki, K.; Kobori, M. 2003. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(1): 68-75.
- Kelm, MA.; Hammerstone, JF.; Schmitz, HH. 2005. Identification and quantitation of flavanols and proanthocyanidins in foods: how good are the datas. *Clinical and Developmental Immunology* 12: 35-41.
- Koes, R.; Verweij, W.; Quattrocchio, F. 2005. Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends in Plant Science* 10: 236-242.
- Koes, RE.; Quattrocchio, R.; Mol, J.N.M. 1994. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *BioEssays* 16: 123-132.
- Koestra, A. 1994. Protection from UV-B induced DNA damage by flavonoids. *Plant Molecular Biology* 26: 771-774
- Langley, E.; Simon, C. 2005. Consumption of black tea elicits an increase in plasma antioxidant potential in humans. *Int J Food Sci Nut* 51(5): 309-15.
- Lee, J.; Durst, R. W. & Wrolstad R.E. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of the AOAC International* 88: 1269-1278.
- Lehninger, A. 1978. *Bioquímica*. Ed. Omega. España.

- Lietti, A.; Cristoni, A.; Picci, M. 1976. Studies on *Vaccinium myrtillus* anthocyanosides .I. vasoprotective and antiinflammatory activity. *Drug Research* 26(5): 829–832.
- Long, N.; Suzuki, S.; Sato, S.; Naiki-Ito, A.; Sakatani, K.; Shirai, T.; Takahashi, S. Purple corn color inhibition of prostate carcinogenesis by targeting cell growth pathways. 2013 Mar; 104(3): 298-303.
- Longley, A.E. 1941. Chromosome morphology in maize and its relatives. *Bot. Rev.*, 7: 263-289.
- López-Martínez, LX.; Oliart-Ros, RM.; Valerio-Alfaro, G.; Lee, CH. & Parkin, K. L. 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT – Food Science and Technology* 42: 1187-1192.
- Luna, J.; Sánchez, J. 2014. El grano que construyó un hemisferio. *National Geographic* Nov-2014, pags 2-21.
- Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B. 1970 “The Systematic identification of the Flavonoids”. Springer-Verlag Ed., Berlin-New York: 1-175.
- Magee, P.J.; Rowland, I.R. 2004. Phyto-oestrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. *British Journal of Nutrition* 91: 513-531.
- Makita, H.; Tanaka, T.; Fujitsuka, H.; Tatematsu, N.; Satoh, K.; Hara, A.; Mori, H. 1996. Chemoprevention of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat oral carcinogenesis by the dietary flavonoids chalcone, 2-hydroxychalcone, and quercetin. *Cancer Research* 56: 4904-4909.

- Makkar, H.; Bluemmel, M.; Borowy, NK.; Becker, K. 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of Science of Food and Agriculture* 61: 161-165.
- Mangelsdorf, P.C. & Reeves, R.G. 1959. The origin of corn. III. Modern races, the product of teosinte introgression. *Bot. Mus. Leaflet. Harv. Univ.* 18: 389-411.
- Mangelsdorf, P.C. 1947. The origin and evolution of maize. In M. Demerec, ed. *Advances in genetics*. I. New York, NY, USA, Academic Press p. 161-207.
- Mangelsdorf, P.C. 1986. The origin of corn. *Sci. Am.* 255(2): 72-78.
- Marjorie, C. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12: 564-582.
- Markakis, P. 1982. Anthocyanins as Food Colors. Academic Press, London.
- Markham, K.R. 1982. Techniques of Flavonoids Identification. Academic Press Ed., New York: 1-113.
- Marles, M.; Ray, H.; Gruber, M.Y. 2003. New perspectives on proanthocyanidin biochemistry and molecular regulation. *Phytochemistry* 64: 367–383.
- Mazza, G.; Miniati, E. 1993. Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains. BocaRaton, FL, CRC Press. 125
- Kang, MK²; Li J.; Kim, JL.; Gong, JH.; Kwak, SN.; Park, JH.; Lee JY.; Lim, SS.; Kang, YH. 2012. Purple corn anthocyanins inhibit diabetes-associated glomerular monocyte activation and macrophage infiltration. *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 303(7): F1060-F1069.

- Mitchell, JH.; Gardner, PT.; Mcphail, DB. 1998. Antioxidant efficacy of phytoestrogens in chemical and biological model systems. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 360: 142-148.
- Miyagi, Y.; Om, A.S.; Chee, K.M.; Bennink, M.R. 2000. Inhibition of azoxymethane-induced colon cancer by orange juice. *Nutrition and Cancer* 36: 224-229.
- Montilla, E. C.; Hillebrand, S.; Antezana, A.; Winterhalter, P. 2011. Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 7068-7074.
- Moore, R.P. 1962. Tetrazolium as a universally acceptable quality test of viable seed. *Proceedings of the International Seed Testing Association, Copenhagen* 27(3): 795-805.
- Morazzoni, P.; Magistretti, M. 1986. Effects of *Vaccinium myrtillus* anthocyanosides on prostacyclin-like activity in rat arterial tissue. *Fitoterapia* 57: 11-14.
- Moreno-Loaiza, O.; Paz-Aliaga A. 2010. Efecto vasodilatador mediado por óxido nítrico del extracto hidroalcohólico de *Zea mays* L. (“maíz morado”) en anillos aórticos de rata. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 27(4): 527-31.
- Nakata, N.; Fukuda, H.; Fuwa, H. 1979 Major anthocyanins of Bolivian purple corn (*Zea mays* L.). *Agric. Biol. Chem.* 43: 389-391.
- Nicholson, R.L.; Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annual Review of Phytopathology* 30: 369-389.
- Noda, Y.; Kneyuki, T.; Igarashi, K.; Mori, A.; Packer, L. 2000. Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant peels. *Toxicology* 148(2-3): 119-123. 127
- Olivo, M.; Alarcón-Cháires, P.; Solis, L. 2001. Los pueblos del maíz, Nomenclatura indígena de una planta sagrada. *Etnoecológica* 6(8): 103-106

- Ortega-Paczka, R. 2003. La diversidad del maíz en México. *In* Esteva, G., y C. Marielle (Coordinadores). Sin Maíz no hay País. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México, D. F. pp. 123-154.
- Padmavati, M.; Sakthivel, N.; Thara, K.V.; Reddy, A.R. 1997. Differential sensitivity of rice pathogens to growth inhibition by flavonoids. *Phytochemistry* 46: 499-502.
- Paliwal, M.C.; Granados, G.; Lafitte, H.; Violic, A. 2001. El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción.
- Parodi, L. 1964. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Editorial ACME Buenos Aires Vol. II: 553-589.
- Pascual-Teresa, S.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. C. 2002. LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82: 1003-1006.
- Pedreschi, R.; Cisneros-Zevallos, L. 2007. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chem.* 100: 956-963.
- Pliego Osorio, N. 2011. Catálogo de plantas medicinales del Jardín Botánico del Instituto de Biología Tlahui Edu A. C. Ciudad de México, México, pp 15
- Prior, R.L.; Wu, X.; Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 4290-4302.
- Proestos, C.; N. Chorianopoulos; G. J. E. Nychas and M. Komaitis. 2005. RP- HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1190-1195.

- Quiñones, M.; Miguel, M. y Aleixandre, A. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutr. Hosp. vol.27 no.1 Madrid ene.-feb. 2012
- Randolph, L.F. 1959. The origin of maize. Indian J. Genet. Plant Breed, 19: 1-12.
- Remeuf, F.; Dorange, J.L.; Dupuy, P. 1983. Diminution du pouvoir mutagène du vin au cours du vieillissement. Sciences des Aliments 3: 137-146.
- Reyes, C.P. 1990. El maíz y su cultivo. AGTEDITOR S.A. México, D.F. pag 460.
- Richelle, M.; Tavazzi, I.; Offord E. 2001. Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages prepared per cup serving. J Agric Food Chem 49(7): 3438-42.
- Roberts, L. M.; U. C Grant, R.; Ramírez, E.; W. H. Hatheway, and D. L. Smith, in collaboration with P. C. Mangelsdorf. 1957. National Academy of Sciences- National Research Council, Publication 510, Washington, D. C. pp. 1-153. Races of maize in Colombia. National Academy of Sciences- National Research Council Publication 510.
- Robbins, R. 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. J. Agric. Food Chem. 51: 2866-2887.
- Ronceros, G.; Ramos W., Arroyo, J.; Galarza, C.; Gutiérrez, E.; Ortega-Loayza, A.; La Rosa, C.; Cucho, C., Palma, L. 2012. Comparative study of Peruvian purple corn (*Zea mays* L.) and simvastatin in serum lipids reduction in normotense dyslipidemic diabetics. An. Fac. med. 73(2): 113-117.
- Ross, J.A.; Kasum, C.M. 2002. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. Annual Review of Nutrition 22: 19-34.

- Salinas, MY.; Soto, HF.; Martínez B.; González, H. y Ortega, R. 1999. Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. *Rev. Fitotec. Mex.* 22: 161-174.
- Salinas, Y.; García, C.; Coutiño, B.; Vidal, V. 2013. Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Rev. Fitotec. Mex.* 285-294.
- Savidan, Y.; Grimanelli, D.; Leblanc, O. 1995. Transferring apomixis from *Tripsacum* to maize: progress and challenges. In S. Taba, ed. *Maize genetic resources*, Mexico, DF, CIMMYT p. 86-92.
- Scalbert, A.; Monties, B.; Janin, G. 1989. Tannins in wood: comparison of different estimation methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37: 1324-1329.
- Scalbert, A.; Williamson, G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition* 130: 2073-2085.
- Schreier, P. 2005. Chemopreventive compounds in the diet. *Developments in Ophthalmology* 38: 1-58.
- Serna-Saldivar, SO.; Knabe, D.A.; Rooney, L.W.; Tanksley Jr., T.D. 1990. Effect of lime cooking on energy and protein digestibility of maize and sorghum. *Cereal Chem.* 64:252-257.
- Shindo, M.; Kasai, T.; Abe, A.; Kondo, Y. 2007. Effects of Dietary Administration of Plant-Derived Anthocyanins Rich to Spontaneously Hipertensive Rats. *J. Nutr Sci. Vitaminol*, 53, 90-93,
- Shirley, B.W. 1996. Flavonoid biosynthesis: “new” functions for an “old” pathway. *Trends in Plant Science* 1: 377-382.

- Siddhuraju, P.; Klaus, B. 2003. Antioxidant properties of various sol-vent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. J. Agric. Food Chem. Vol. 51, 2144-2156.
- Singh, A.; Selvi, M., Sharma, R. 1999. Sunlight-induced anthocyanin pigmentation in maize vegetative tissues. Journal of Experimental Botany 50: 1619-1625.
- Smith, MA.; Rottkamp, C.A.; Nunomura, A.; Raina, A.K.; Perry, G. 2000. Oxidative stress in Alzheimer`s disease. Biochimica et Biophysica Acta 1502: 139-144.
- Strack, D.; Wray, V. 1989. Anthocyanins. In: P. M. Dey and J. B. Harborne (Eds.) Methods in Plant Biochemistry 1: 325-356. 132
- Strack, D.; Wray, V. 1994. The Anthocyanins. In: HARBONE JB, editor. The Flavonoides. Advances in Research Since 1986. Boca Raton FL: CRC Press.
- Stringheta, P.C. 1991. Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv). Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Brasil.
- Suto, T. & Yoshida, Y. 1956. Characteristics of the oriental maize. In H. Kihara, ed. *Land and crops of Nepal Himalaya*, vol. 2, Kyoto, Japan, Fauna and Flora Res. Soc. Kyoto University p. 375-530.
- Instituto Nacional de Salud (Perú). 2009. Reyes, M.; Gómez-Sánchez, I.; Espinoza, C.; Bravo, F.; Ganoza, L. 2009. Tablas peruanas de composición de alimentos – 8ª ed. - Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, pp.16.
- Takahashi, A.; Takeda, K.; Ohnishi, T. 1991. Light-induced anthocyanin reduces the extent of damage to DNA in UV-irradiated *Centaurea cyanus* cells in culture. Plant and Cell Physiology 32: 541-547.

- Tanaka, T.; Kawabata, K.; Kakumoto, M.; Makita, H.; Ushida, J.; Honjo, S.; Hara, A.; Tsuda, H.; Mori, H. 1999. Modifying effects of a flavonoid morin on azoxymethane-induced large bowel tumorigenesis in rats. *Carcinogenesis* 20: 1477-1484.
- Terra, X; Montagut, G; Bustos, M; Llopiz, N; Ardèvol, A; Bladé, C; Fernández-Larrea, J; Pujadas, G; Salvadó, J; Arola, L; Blay, M. 2009. Grape-seed procyanidins prevent low-grade inflammation by modulating cytokine expression in rats fed a high-fat diet. *J. Nutr. Biochem* 20: 210-218.
- Toufektsian, M.C.; de Lorgeril, M.; Nagy, N.; Salen, P.; Donati, M. B.; Giordano, L. Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury. *J Nutr.* 2008 Apr; 138(4): 747-52.
- Tsai, P.J.; McIntosh, J.; Pearce, P.; Camden, B.; Jordan, B.R. 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Food Research International* 35(4): 351-356.
- Tsuda, T. 2008. Regulation of Adipocyte Function by Anthocyanins; Possibility of Preventing the Metabolic Syndrome. *J. Agric. Food Chem.* 56(3): 642-646.
- Tsuda, T.; Horio, F.; Uchida, K.; Aoki, H.; Osawa, T. 2003. Dietary cyanidin 3-O-b-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *Journal of Nutrition*, 133: 2125-2130.
- Upston, J.M.; Kritharides, L.; Stocker, R. 2003. The role of vitamin E in atherosclerosis. *Progress in Lipid Research* 42: 405- 422.
- van Dijk, AE; Olthof, MR.; Meeuse, JC.; Seebus, E; Heine, RJ; van Dam, RM. 2009. Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on glucose tolerance. *Diabetes Care.* Jun; 32(6):1023-5.

- Velioglu, Y.S.; Mazza, G.; Gao, L.; Oomah, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4113-4117.
- Venereo, G. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana Médica Militar* 31: 126-133.
- Vermerris, R.; Nicholson, R. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer.
- Wagner y Bladt. 1996. *Plant Drug Analysis*. Ed. Sprinder. pp: 281-287.
- Wang, H.; Cao, G.; Prior, R.L. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 304-309.
- Wang, H.X.; Ng, T.B. 1999. Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities. *Life Sciences* 65: 2663-2677.
- Wang, J.; Mazza, G. 2002. Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/IFN-gamma-activated RAW 264.7 macrophages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(15): 4183-4189.
- Watanabel, T.; Arai, Y.; Mitsui, Y.; Kusaura, T.; Okawa, W.; Kajihara, Y. *y col.* 2006. The blood pressure lowering effect and safety of chlorogenic acid from Green coffee bean extract in essential hypertension. *Clinical and experimental hypertension* 28(5): 439-449. 134.
- Weatherwax, P. 1954. *Indian corn in old America*. New York, NY, USA, MacMillian Publishing.

- Weatherwax, P. 1955. History and origin of corn. I. Early history of corn and theories as to its origin. In G.F. Sprague, ed. *Corn and corn improvement*, 1st ed., New York, NY, USA, Academic Press p. 1-16.
- Weisel, T.; Baum, M.; Eisenbrand, G.; Dietrich, H.; Will, F.; Stockis, JP.; Kulling, S.; Rufer, C.; Johannes, C.; Janzowski, C. 2006. An anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative DNA damage and increases glutathione level in healthy probands. *Journal of Biotechnology* 1(4): 388-397.
- Werlein, HD.; Kutemeyer, C.; Schatton, G.; Hubbermann, EM.; Schwarz, K. 2005. Influence of elderberry and blackcurrant concentrates on the growth of microorganisms. *Food Control* 16: 729-733.
- Wilkes, H.G. 1989. Maize: domestication, racial evolution and spread. In D.R. Harris & G.C. Hillman, eds. *Forage and farming*, London, Unwin Hyman p. 440-454.
- Winkel, SB. 1996. Flavonoid biosynthesis: “new” functions for an “old” pathway. *Trends in Plant Science* 1: 377-382.
- Winkel, SB. 2001. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology* 126: 485-493.
- Winton, A. & Winton, K.B. 1932. The structure and composition of foods. Volume I. Cereals, Starch, Oil Seeds, Nuts, Oils, Forage Plants. John Wiley & Sons Inc., New York 62-100.
- Wiseman, BR.; Snook, M.; Widstrom, NW. 1996. Feeding responses of the corn ear worm larvae (Lepidoptera: Noctuidae) on corn silks of varying flavone content. *Journal of Economic Entomology* 89: 1040-1044.
- Wiseman, H.; O'Reilly, J.D.; Adlercreutz, H. 2000. Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F2-isoprostane concentrations and increase resistance of low-

density lipoprotein to oxidation in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 72: 395–400.

- Yang Z.; Zhai W. 2010. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.) 11(1): 169-176.
- Yoshimoto, M.; Okuno, S.; Kumagai, T.; Yoshinaga, M.; Yamakawa, O. 1999. Distribution of antimutagenic components in colored sweetpotatoes. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 33. Available from <http://ss.jircas.affrc.go.jp/engpage/jarq/33-3/yoshimoto/yoshimoto.htm>. Accessed 10 June 2004.
- Yoshimoto, M.; Okuno, S.; Yamaguchi, M. & Yamakawa, O. 2001. Antimutagenicity of deacylated anthocyanins in purple-fleshed sweet potato. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 65: 1652-1655.
- Young, IS; Woodside, JV. 2001. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 54: 176-85.
- Zarlavsky, GE. 2014. *Histología vegetal. Técnicas simples y complejas*. Soc. Argentina de Botánica, Buenos Aires, pp. 198.
- Zhang, YJ.; Vareed, SK.; Nair, MG. 2005. Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables. *Life Science* 76(13): 1465.