

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**TESIS**

**CARACTERIZACIÓN DEL CONTENIDO NUTRICIONAL, COMPUESTOS  
POLIFENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE MAÍCES  
PIGMENTADOS (*Zea mays* L.) NATIVOS DEL SUR DE NUEVO LEÓN**

**PRESENTA**

**PABLO ALAN RODRÍGUEZ SALINAS**

**PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**NOVIEMBRE, 2019**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**TESIS**

**CARACTERIZACIÓN DEL CONTENIDO NUTRICIONAL, COMPUESTOS  
POLIFENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE MAÍCES  
PIGMENTADOS (*Zea mays* L.) NATIVOS DEL SUR DE NUEVO LEÓN**

**PRESENTA**

**PABLO ALAN RODRÍGUEZ SALINAS**

**PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**GENERAL ESCOBEDO, NUEVO LEÓN, MÉXICO**

**NOVIEMBRE, 2019**

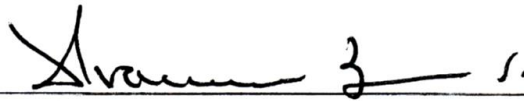
ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL  
COMITÉ PARTICULAR COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

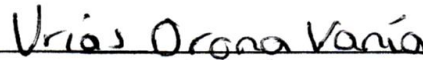
COMITÉ PARTICULAR



**Dr. Guillermo Niño Medina**  
Director



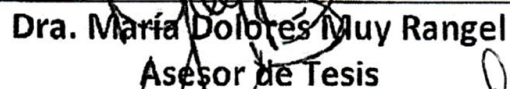
**PhD. Francisco Zavala García**  
Codirector



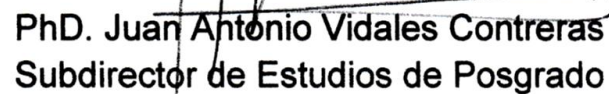
**Dra. Vania Urías Orona**  
Asesor de Tesis



**Dr. José Basilio Heredia**  
Asesor de Tesis



**Dra. María Dolores Muy Rangel**  
Asesor de Tesis



**PhD. Juan Antonio Vidales Contreras**  
Subdirector de Estudios de Posgrado

## **DEDICATORIA**

A mi esposa, Angélica A. Benavides Rodríguez e hijos Pablo Rafael Rodríguez Benavides e Izabela Zoe Rodríguez Benavides por su apoyo durante esta etapa de mi vida.

A mis padres, Pablo Rodríguez Velázquez y Rosamaría Salinas Benavides por formarme como persona y por su ejemplo de honestidad y trabajo.

A mis hermanos y sus familias, Rosa María Rodríguez Salinas, Juan Pablo Rodríguez Salinas y Diana Navarro.

A mis compañeros de generación y maestros por todos los momentos vividos en el aula de clase.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Guillermo Niño Medina y al Dr. Francisco Zavala García por su ayuda, valiosos consejos y valiosa aportación para la realización de este trabajo.

A la Dra. Vania Urías Orona, Dra. Dolores Muy Rangel y Dr. José Basilio Heredia por formar parte del Comité de Tesis y por sus valiosas sugerencias en la revisión del presente trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y a la Facultad de Agronomía por permitirme realizar mis estudios de posgrado.

A los compañeros de Maestría y Doctorado por darme su apoyo, amistad y los gratos momentos que vivimos durante mi estancia en la facultad.

A mi esposa e hijos por el apoyo y motivación para culminar con esta etapa de mi vida.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS .....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xiii
RESUMEN .....	xv
SUMMARY .....	xix
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Hipótesis .....	5
1.1.1. Hipótesis específicas .....	5
1.2. Objetivo general .....	6
1.2.1. Objetivos específicos .....	6
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
2.1. Compuestos polifenólicos .....	10
2.1.1. Ruta del ácido shikímico .....	11
2.1.2. Ruta del corismato .....	12
2.1.3. Ruta de la fenilalanina y tirosina .....	13
2.2. Fenilpropanoides .....	14
2.2.1. Ácidos fenólicos .....	14
2.2.1.1. Ruta de ácidos fenólicos .....	16
2.2.1.2. Ruta de <i>p</i> -cumaril-CoA.....	16
2.2.1.3. Ruta de ácido clorogénico .....	17

2.2.2. Flavonoides.....	18
2.2.2.1. Ruta de los flavonoides .....	18
2.2.3. Antocianinas .....	21
2.2.3.1. Color de las antocianinas .....	22
2.2.4. Taninos condensados.....	23
2.2.4.1. Ruta metabólica de taninos condensados.....	24
2.3. Extracción y cuantificación de compuestos polifenólicos.....	25
2.3.1. Ácidos fenólicos, flavonoides y taninos condensados .....	25
2.3.2. Antocianinas .....	27
2.4. Identificación y cuantificación de compuestos polifenólicos por HPLC .	27
2.4.1. Ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas (HPLC) .....	28
2.5. Capacidad antioxidante .....	28
2.5.1. DPPH.....	29
2.5.2. ABTS.....	30
2.5.3. FRAP .....	31
2.5.4. ORAC.....	32
2.6. Elaboración de bebidas.....	33
2.6.1. Elaboración de bebidas a base de maíz .....	34
2.6.2. Pasteurización y su efecto en la calidad nutracéutica.....	35
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
3.1. Material de trabajo .....	37
3.1.1. Incremento de la Semilla.....	37
3.1.2. Cosecha.....	39
3.1.3. Toma de muestras de grano .....	39

3.1.3.1.	Evaluación de parámetros de color .....	40
3.1.3.2.	Evaluación de calidad nutricional .....	40
3.1.3.3.	Evaluación de calidad nutracéutica .....	46
3.1.3.4.	Capacidad antioxidante .....	53
3.2.	Bebidas de maíz blanco y morado .....	56
3.2.1.	Evaluación de parámetros de color.....	57
3.2.2.	Evaluación de calidad de bebidas de maíz .....	57
3.2.2.1.	Parámetros fisicoquímicos .....	58
3.2.2.2.	Análisis microbiológicos .....	59
3.2.2.3.	Evaluación de calidad nutricional .....	59
3.2.2.4.	Evaluación de calidad nutracéutica .....	60
3.2.2.5.	Evaluación de capacidad antioxidante .....	61
3.2.2.6.	Análisis sensorial.....	61
3.3.	Análisis estadístico .....	61
4.	RESULTADOS.....	63
4.1.	Genotipos de maíz de color .....	63
4.1.1.	Coordenadas cromáticas del grano .....	63
4.1.2.	Coordenadas cromáticas de la harina .....	64
4.1.3.	Calidad nutricional .....	66
4.1.3.1.	Análisis proximal .....	66
4.1.3.2.	Minerales.....	68
4.1.4.	Calidad nutraceútica .....	75
4.1.4.1.	Compuestos polifenólicos totales .....	75
4.1.4.2.	Flavonoides totales .....	75

4.1.4.3. Antocianinas totales .....	77
4.1.4.4. Taninos condensados totales.....	78
4.1.5. Análisis cromatográfico (HPLC-DAD) .....	78
4.1.5.1. Compuestos polifenólicos.....	78
4.1.6. Capacidad antioxidante .....	85
4.1.6.1. DPPH .....	85
4.1.6.2. ABTS.....	85
4.1.6.3. FRAP.....	87
4.1.6.4. ORAC.....	89
4.2. Bebidas de maíz blanco y morado.....	90
4.2.1. Coordenadas cromáticas de grano y harina .....	90
4.2.1.1. Coordenadas cromáticas de bebidas .....	92
4.2.2. Calidad de las bebidas de maíz .....	93
4.2.2.1. Parámetros fisicoquímicos .....	93
4.2.2.2. Análisis microbiológicos .....	94
4.2.2.3. Análisis de minerales.....	94
4.2.3. Contenido nutracéutico .....	99
4.2.3.1. Contenido de compuestos polifenólicos totales.....	99
4.2.3.2. Flavonoides y taninos condensados totales .....	101
4.2.3.3. Cianidina3-glucósido .....	101
4.2.4. Análisis cromatográfico (HPLC-DAD) .....	101
4.2.4.1. Compuestos polifenólicos.....	101
4.2.5. Capacidad antioxidante .....	103
4.2.5.1. DPPH .....	103

4.2.5.2. ABTS.....	105
4.2.5.3. FRAP.....	105
4.2.6. Análisis sensorial.....	107
5. DISCUSIÓN.....	108
5.1. Color del grano.....	108
5.1.1. Color de la harina.....	109
5.1.2. Calidad nutricional.....	109
5.1.3. Calidad nutracéutica.....	113
5.1.4. Capacidad antioxidante.....	118
5.2. Bebidas de maíz.....	119
5.2.1. Color del grano y harina.....	119
5.2.2. Color en bebidas.....	120
5.2.3. Calidad de las bebidas.....	120
5.2.3.1. Parámetros fisicoquímicos.....	120
5.2.3.2. Análisis microbiológicos.....	121
5.2.4. Calidad nutricional.....	121
5.2.5. Calidad nutracéutica.....	122
5.2.6. Capacidad antioxidante.....	124
6. CONCLUSIONES.....	126
7. BIBLIOGRAFÍA.....	127
Anexo 1.....	143
Anexo 2.....	171

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Antocianinas identificadas en el grano de maíz morado y azul..	22
2	Colectas de variedades de maíz de color con su código.....	38
3	Estándares utilizados, valor de R <sup>2</sup> tiempo de retención (TR) y ecuaciones de predicción generado por el equipo HPLC-DAD para el análisis de compuestos polifenólicos.....	52
4	Formulación de bebida de maíz.....	56
5	Procesos de pasteurización de bebidas de maíz blanco y morado.....	57
6	Color visual y coordenadas cromáticas de los granos de genotipos de maíz de color.....	64
7	Color visual y coordenadas cromáticas de la harina de genotipos de maíz de color.....	65
8	Análisis proximal en genotipos de maíz de color.....	69
9	Análisis de macroelementos en genotipos de maíz de color.....	71
10	Análisis de microelementos en genotipos de maíz de color.....	74
11	Compuestos polifenólicos totales (CP) de genotipos de maíz de color.....	76
12	Concentración de flavonoides totales (FL) de genotipos de maíz de color.....	77
13	Antocianinas totales de genotipos de maíz de color.....	79
14	Concentración de taninos condensados totales (TC) en genotipos de maíz de color.....	80
15	Cuantificación de ácido <i>p</i> -cumárico y ferúlico en maíces de color por HPLC-DAD.....	82

16	Cuantificación de cianidina-3-glucósido en genotipos de maíz de color por HPLC-DAD.....	84
17	Capacidad antioxidante DPPH en genotipos de maíz de color....	86
18	Capacidad antioxidante ABTS en genotipos de maíz de color.....	87
19	Capacidad antioxidante FRAP en genotipos de maíz de color....	88
20	Capacidad antioxidante ORAC en genotipos de maíz de color....	89
21	Color visual y coordenadas cromáticas del grano y harina de genotipos de maíz utilizada en preparación de bebida antes y después del tostado.....	91
22	Color visual y coordenadas cromáticas de bebida de genotipos de maíz en proceso de pasteurización.....	93
23	Análisis fisicoquímicos de °Brix, pH y acidez titulable en bebidas de maíz blanco y morado.....	95
24	Análisis microbiológicos en bebidas de maíz blanco y morado.....	95
25	Análisis de macroelementos y microelementos en bebidas de maíz blanco y morado.....	100
26	Contenido de compuestos polifenólicos en bebidas de maíz con procesos de pasteurización.....	104
27	Cuantificación de ácidos fenólicos en bebida de maíz.....	106
28	Capacidad antioxidante en bebida de maíz con procesos de pasteurización.....	106
29	Ingesta diaria recomendada de consumo de minerales para una persona adulta de promedio 70 kg de peso.....	110
30	Correlación lineal entre el contenido de antocianinas (AT), parámetros de color, compuestos polifenólicos totales (CP) flavonoides (FL) taninos condensados (TC) y capacidad antioxidante.....	116

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Ruta del ácido shikímico. Formación del ácido shikímico a partir de glucosa.....	12
2	Ruta del corismato. Formación de corismato a partir del ácido shikímico.....	12
3	Formación de fenilalanina y tirosina a partir de corismato.....	13
4	Formación de ácidos hidroxicinámicos o fenólicos a partir de fenilalanina.....	16
5	Ruta de fenilpropanoides, formación <i>p</i> -cumaril-CoA a partir de la fenilalanina.....	17
6	Formación de ácido clorogénico a partir de <i>p</i> -cumaril-CoA.....	18
7	Ruta metabólica de los flavonoides.....	21
8	Formación de taninos condensados a partir de antocianidinas.....	25
9	Estructura del radical DPPH en color morado oscuro y pérdida de color por reacción con otros radicales, electrones y/o átomos de hidrógeno.....	29
10	Estructura del radical ABTS generado oxidación por adición de persulfato de potasio y pérdida de color por la presencia de un antioxidante.....	30

11	Estructura del radical FRAP FeIII-TPTZ y reducción a FeII-TPTZ en presencia de un antioxidante.....	31
12	Reacción del radical AAPH durante el método ORAC.....	33
13	Cromatograma HPLC-DAD de mezcla de 8 estándares con la identificación de los picos a una longitud de onda de 280 nm.....	81
14	Cromatograma HPLC-DAD de estándar cianidina-3-glucósido a en longitud de onda 520 nm.....	83
15	Cromatograma HPLC-DAD de genotipos de maíz con identificación de 9 antocianinas glucosiladas presentes a una longitud de onda 520 nm.....	83
16	Cromatograma HPLC-DAD de mezcla de 9 estándares con la identificación de los picos y tiempo de retención a longitud de onda de 280 nm.....	102
17	Niveles de preferencia de bebida de maíz morado.....	107

## RESUMEN

En México, existe una amplia diversidad de variedades nativas de maíz que poseen genes que podían generar nuevas variedades mejoradas, desarrollar y mejorar la calidad nutricional de los alimentos, por lo que se requiere la conservación y caracterización de estas variedades.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar y evaluar la calidad nutricional, contenido nutraceutico y capacidad antioxidante de genotipos nativos pigmentados colectados en el sur del Estado de Nuevo León y su aplicación en alimentos formulados a partir de estos maíces.

Las semillas de maíz colectadas en los municipios de Galeana, Aramberri, General Zaragoza, Dr. Arroyo, Mier y Noriega del estado de Nuevo León, México, se sembraron en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León en la Unidad Académica la Ascensión. Esto para incrementar la semilla, evaluar y caracterizar las diferencias en el contenido nutricional y calidad nutraceutica de los 15 genotipos bajo las mismas condiciones agronomicas. Cada genotipo fue nombrado en base a la localidad de procedencia o al nombre proporcionado por el agricultor. Los parámetros evaluados en estos maíces fueron las características cromáticas ( $L^*$ ,  $C^*$  y  $h$ ) del grano y harina, análisis proximal (humedad, ceniza, proteína, grasa, fibra cruda

y carbohidratos), contenido de minerales (macronutrientes y micronutrientes), cuantificación de compuestos polifenólicos (flavonoides totales, antocianinas totales y taninos condensados totales) por espectrofotometría y HPLC-DAD (ácidos fenólicos, catequina, quercetina y cianidina-3-glucósido) y capacidad antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP y ORAC) en extractos libres y ligados. Por otro lado, para evaluar las características fisicoquímicas y contenido nutracéutico del grano después de procesos térmicos, los parámetros considerados fueron: características cromáticas ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  y  $h$ ) en grano crudo y tostado, harina de grano crudo y tostado, y en bebidas; características fisicoquímicas ( $^{\circ}$ Brix, pH, acidez titulable), microbiológicas (mesófilos aerobios, lactobacilos, enterobacterias, hongos y levaduras, y esporas), minerales (macronutrientes y micronutrientes), así como la cuantificación de compuestos polifenólicos (compuestos polifenólicos totales, flavonoides totales, antocianinas totales y taninos condensados totales) por espectrofotometría y HPLC-DAD compuestos polifenólicos (ácidos fenólicos, catequina, quercetina), capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) entre tratamientos y tipo de bebida, y análisis sensorial de preferencia en la bebida de maíz morado tostado.

Los análisis de varianza mostraron que existen diferencias estadísticas significativas entre todos los parámetros evaluados de los 15 genotipos de maíz. Los resultados mostraron que el menor contenido de proteína y mayor de grasa se detectó en los granos del maíz blanco. La mayor acumulación de sodio se detectó en los morados y pintos, y la menor acumulación de fósforo en algunos de los genotipos morados. El contenido de flavonoides totales fue superior en el maíz de color rojo, mientras que las antocianinas totales y taninos condensados totales mostraron los

valores más altos en los genotipos de color morado. Entre ellos, el mayor contenido se encontró en el genotipo Morado La Soledad. En todos de los genotipos de maíz la capacidad antioxidante fue mayor en los extractos ligados y sólo en ORAC en los extractos libres.

El análisis de correlación mostró significancia en el contenido de antocianinas totales con valores de  $h$ , luminosidad en la harina de maíz y contenido de flavonoides totales libres y taninos condensados totales con valores de  $r = -0.78, -0.75, 0.91$  y  $0.82$ , respectivamente. Los resultados mostraron que el color del grano varió de las tonalidades rosa, rojo y naranja, en harina sólo rojo a naranja y características nutricionales similares a las de los maíces blanco y amarillo. En cuanto a las variables químicas, los maíces morados mostraron los mayores valores de antocianinas totales y diferentes concentraciones de cianidina-3-glucósido, además de otras ocho antocianinas glucosiladas. En los extractos ligados se encontró la mayor concentración de compuestos polifenólicos totales y mediante cromatografía en estos extractos se identificaron los ácidos *p*-cumárico y ferúlico. Los extractos polifenólicos ligados mostraron una mayor actividad antioxidante, con excepción de ORAC que mostró mayor capacidad antioxidante en extractos libres.

En las bebidas de maíz blanco y morado, los análisis de varianza mostraron diferencia en el color del grano, harina y del tipo de bebida después del tostado del grano y de los tratamientos térmicos de pasteurización. La bebida de maíz blanco mostró el mayor contenido de flavonoides totales y ácido ferúlico con diferencia entre las bebidas después de cada uno de los tratamientos de pasteurización. La bebida de

maíz morado mostró el mayor contenido de mesófilos aerobios y enterobacterias, minerales (P y Ca), compuestos polifenólicos (compuestos polifenólicos totales y antocianinas totales), ácido clorogénico, cafeico y capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) con diferencia entre las bebidas después de cada uno de los tratamientos de pasteurización. No se detectaron diferencias estadísticas en los parámetros fisicoquímicos de cada tipo de bebida, tampoco en el contenido de microorganismos después de los tratamientos térmicos de pasteurización, ni en el análisis sensorial.

Se concluyó que hubo diferencias estadísticas significativas entre los genotipos de maíz, sin embargo, en las comparaciones de medias se demostró que los maíces de color fueron diferentes entre sí, pero con características nutricionales y nutraceuticas similares a las del maíz amarillo y blanco. Las diferencias en los parámetros analizados, se atribuyó a la variación genética entre genotipos del mismo color. Estos resultados, demuestran la diversidad presente en los genotipos del sur de Nuevo León, y que estos pueden ser utilizados para generar nuevas variedades o producir productos alimenticios con valor nutraceutico.

La bebida de maíz morado posee excelentes propiedades fisicoquímicas y nutraceuticas, y los estudios mostraron que estas propiedades no se afectaron por los tratamientos tradicionales de pasteurización a 63, 73 y 85 °C, por lo que cualquiera de estos resulta eficiente para la conservación de la bebida de maíz formulada.

## SUMMARY

In Mexico, there is a wide diversity of native corn that has genes that could generate new improved varieties, develop and improve the nutritional quality of food, which requires the conservation and characterization of these varieties.

The objective of this work was to characterize and evaluate the nutritional quality, nutraceutical content and antioxidant capacity of natives colorful genotypes collected in the south of the State of Nuevo León and their application in foods formulated from these corn grains.

The corn seeds collected from rural communities of Galeana, Aramberri, General Zaragoza, Dr. Arroyo, Mier y Noriega of Nuevo León, México, were planted in the Facultad de Agronomía of the Universidad Autónoma de Nuevo León in the Unidad Académica la Ascensión. This to increase seed, evaluate and characterize differences in the nutritional content and nutraceutical quality of the 15 genotypes under the same agronomic conditions. Every genotype was named using the name of community in which it was collected, or the name provided by the farmer. The parameters evaluated in these corn were the chromatic characteristics ( $L^*$ ,  $C^*$  and  $h$ ) of the grain and flour, proximate analysis (humidity, ash, protein, fat, crude fiber and carbohydrates), minerals (macronutrients and micronutrients), polyphenolic compounds (total polyphenolic

compounds, total flavonoids, total anthocyanins and total condensed tannins) by spectrophotometry and HPLC-DAD polyphenolic compounds (phenolic acids, catechin, quercetin and cyanidin-3-glucoside), and antioxidant capacity (DPPH, ABTS, FRAP and ORAC) in free and bound extracts. So, to evaluate the physicochemical characteristics and nutraceutical content of the grain after thermal processes, the parameters considered were: chromatic characteristics ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  and  $h$ ) in raw and roasted grain, raw and roasted grain flour, and in beverages; physicochemical characteristics ( $^{\circ}$ Brix, pH, titratable acidity), microbiological (aerobic mesophilic, lactobacilli, enterobacteria, fungi, yeasts, and spores), minerals (macronutrients and micronutrients), as well as the quantification of total polyphenolic compounds (total polyphenolic compounds, total flavonoids, total anthocyanins and total condensed tannins) by spectrophotometry and HPLC-DAD polyphenolic compounds (phenolic acids, catechin, quercetin), antioxidant capacity (DPPH, ABTS and FRAP) between treatments and type of beverage, and sensory analysis in the roasted purple corn beverage.

The analysis of variance showed that there are significant statistical differences between all the parameters evaluated of the 15 corn genotypes. The results showed that the lowest protein and fat content was detected in the white corn grains. The greatest accumulation of sodium was detected in the purple and pinto, and the lower accumulation of phosphorus in some of the purple genotypes. Total flavonoid content was higher in red corn, while total anthocyanins and total condensed tannins showed the highest values in purple genotypes. Among these, the highest content was found

in the La Soledad purple genotype. In all of the corn genotypes the antioxidant capacity was higher in the bound extracts and only in ORAC in the free extracts.

The correlation analysis showed significance in the total anthocyanin content with *h* values, luminosity in cornmeal and content of free total flavonoids, and total condensed tannins with values of  $r = -0.78, -0.75, 0.91, \text{ and } 0.82$ , respectively. The results showed that the color of the grain varies from pink, red, and orange tones in only red to orange flour and nutritional characteristics similar to those of white and yellow corn. Regarding the chemical variables, purple corn showed the highest values of total anthocyanins and different concentrations of cyanidin-3-glycoside, in addition to eight other glycosylated anthocyanins. In the bound extracts the highest concentration of total polyphenolic compounds was found, where *p*-coumaric and ferulic acids were identified by chromatography. The bound extracts also showed a greater antioxidant activity, with the exception of ORAC which showed greater antioxidant capacity in free extracts.

In the white and purple maize beverages, the analysis of variance showed differences in the color of the grain, flour, and the type of beverage after roasted of the grain and thermal treatments of pasteurization. The white maize beverage showed the highest content of total flavonoids and ferulic acid with the difference between the beverages after each of the pasteurization treatments. The purple maize beverage showed the highest content of aerobic mesophiles and enterobacteria, minerals (P and Ca), polyphenolic compounds (total phenolic compounds and total anthocyanins), chlorogenic acid, caffeic and antioxidant capacity (DPPH, ABTS, and FRAP) with the difference between drinks after each of the pasteurization treatments. No statistical

differences were detected in the physicochemical parameters of each type of beverage, neither the content of microorganisms after thermal treatments of pasteurization, not in the sensory analysis.

It was concluded that the characterized maize color genotypes were shown to be different from each other, in terms the nutritional and nutraceutical characteristics, similar to those of yellow and white maize. The differences in the parameters analyzed were attributed to the genetic variation between genotypes of the same color. These results demonstrate the diversity present in the genotypes of southern Nuevo Leon, and that these can be used to generate new varieties or produce food products with nutraceutical value.

The purple corn beverage has excellent physicochemical and nutraceutical properties, and the studies showed that these properties were not affected by the traditional pasteurization treatments at 63, 73, and 85 °C, so that any of these is efficient for the conservation of the formulated corn beverage.

## 1. INTRODUCCIÓN

El cultivo del maíz (*Zea mays* L.) es uno de los más importantes del mundo, su producción se utiliza principalmente en la alimentación humana en México y a partir de la nixtamalización del grano se elaboran productos para consumo humano como tortillas y tamales, aunque a nivel mundial se utiliza en la alimentación de ganado. Además, es utilizado a nivel industrial para producción de aceites e insumos para la fabricación de barnices, pinturas, cauchos artificiales, jabones y almidón. En México, la superficie que se siembra con maíz supera los 8 millones de ha con un rendimiento de 22.7 millones de t al año (CONANP, 2016).

México es considerado el centro de origen de este cultivo, actualmente se declara la existencia de 59 razas nativas o criollas (Turrent *et al.*, 2012). Estas razas están adaptadas a regiones específicas o clima y son conocidas como nativas, y actualmente se cultivan gracias al proceso de selección realizado por los antiguos pueblos indígenas de México, prácticas realizadas desde hace más de 6000 años cuando el maíz fue domesticado (Fernández *et al.*, 2013; Salinas-Moreno *et al.*, 2013; PEPMA, 2014).

Las diferentes razas de maíz “nativo”, han sido resguardadas por los pobladores de las comunidades rurales de México, generalmente cultivadas para autoconsumo, sustento económico o por tradición. Estos agricultores las distinguen por color, textura, forma del grano, o mazorca, ciclo de cultivo y uso (Gaytán-Martínez *et al.*, 2013; PEPMA, 2014). Este tipo de maíces producidos en pequeñas localidades se utilizan para la elaboración de platillos típicos, regionales y tradicionales por los pobladores de diferentes lugares de la República Mexicana (Hellin *et al.*, 2013; Bello-Pérez *et al.*, 2016). Desde hace tiempo se conoce el aporte de proteína, vitaminas A y C y minerales del maíz, por lo que se convirtió en la base de la alimentación del pueblo mexicano y gracias a ese aporte hoy en día se obtienen productos como botanas con calidad de exportación para países como Australia y China (Salinas-Moreno *et al.*, 2013; Bello-Pérez *et al.*, 2016).

El maíz tiene alta importancia como fuente de alimentación en el mundo y el pueblo mexicano y para cubrir la demanda de este cultivo en la actualidad existe la necesidad de contar con variedades más productivas. Sin embargo, esta necesidad del mundo moderno lleva al descuido del material nativo o especies emparentadas, debido a que las variedades que actualmente se comercializan a nivel mundial descienden de tan sólo una pequeña fracción de las razas existentes. Las organizaciones gubernamentales de México consideran fundamental el resguardo, protección y conservación de los maíces nativos (Staller, 2010; Fernández *et al.*, 2013). Por lo anterior, trabajan por mantener la diversidad genética del maíz, brindando apoyos para que los pequeños productores continúen sembrando los maíces nativos y generando semillas de los mismos. Asimismo, apoyan en la protección de las

especies silvestres emparentadas para evitar su erosión genética y mantener sus características de distinción (Gaytán-Martínez *et al.*, 2013). Esto, debido a que en ellos pueden existir los genes que den solución a problemas futuros como resistencia a sequía, enfermedades, plagas, etc., ocasionados por el cambio climático, (Polanco y Puente, 2013).

Las características de distinción en los maíces nativos son muchas, sin embargo, debido a las necesidades del mundo actual y a la búsqueda de producir alimentos con propiedades benéficas a la salud, en el maíz sobresale su alto contenido de antioxidantes, entre los cuales se encuentran los ácidos hidroxicinámicos, los cuales son los más abundantes en la naturaleza, porque cualquier planta, posee al menos tres de los seis existentes (ácido cinámico, *p*-cumárico, cafeico, ferúlico, hidroxiferúlico y sinápico) (Vermerris y Nicholson, 2006; Goleniowski *et al.*, 2013). En algunos casos estos pueden encontrarse de forma libre o ligada y un ejemplo de esto es el ácido ferúlico que en maíz existe principalmente de forma ligada, y se encuentra formando parte de la estructura de la pared celular del pericarpio el cual brinda una barrera física y química de protección contra la oxidación, patógenos, ataque de insectos, animales y microorganismos (Salinas-Moreno *et al.*, 2012a Serna-Saldívar *et al.*, 2013).

Además del alto contenido de ácido ferúlico en el pericarpio del grano de maíz, estudios recientes en maíces nativos pigmentados, con colores rojo, azul, morado y negro, han reportado que esta pigmentación se debe a la existencia compuestos polifenólicos antioxidantes como las antocianinas, flavonoides y taninos condensados. Estos compuestos polifenólicos presentan fuerte actividad antioxidante y potencial

para producir alimentos funcionales y nutraceúticos que ayuden a la población más vulnerable a enfrentar los problemas de salud (Salinas-Moreno *et al.*, 2012a; Mex-Alvarez *et al.*, 2013; Serna-Saldívar *et al.*, 2013; Urias-Lugo *et al.*, 2015).

Algunos productos elaborados a partir de maíz son considerados como antioxidantes, por elaborarse a partir del grano de maíz pigmentado (Mex-Alvarez *et al.*, 2013; Serna-Saldívar *et al.*, 2013; Urias-Lugo *et al.*, 2015). En algunas regiones se elaboran bebidas tradicionales o ceremoniales a partir del grano de maíz crudo o totado, y gracias a su aporte nutrimental, las bebidas de maíz son muy aceptadas como alimento (Akonor *et al.*, 2014; Chaves-López *et al.*, 2014).

Esta investigación pretende generar información relevante mediante la caracterización de los maíces pigmentados nativos colectados en diferentes localidades del sur del Estado de Nuevo León, con el fin de generar información para que los genotipos colectados puedan utilizarse en programas de mejoramiento genético y ampliar sus aplicaciones en la industria para generar alimentos nutraceúticos.

Existen muchos productos alimenticios derivados del maíz, sin embargo, muchos de estos son elaborados con desconocimiento de la calidad nutricional y nutraceútica, porque son elaborados en comunidades de forma tradicional y artesanal, por lo que utilizan el maíz disponible en la región (Gadaga *et al.* 1999; Ade-Omowaye *et al.*, 2006). Además, existe poca información respecto a la formulación de estos productos, el efecto de los tratamientos térmicos de conservación sobre la calidad nutraceútica.

Debido a lo anterior, en este trabajo se pretende formular productos alimenticios de harina de maíz blanco y maíz morado, con el fin de evaluar y comparar los aspectos fisicoquímicos, calidad nutracéutica después de tratamientos térmicos de conservación.

## **1.1. Hipótesis**

Existe una amplia variación en el color del grano de los maíces nativos pigmentados; por lo tanto, su contenido nutricional, compuestos polifenólicos y actividad antioxidante varía entre genotipos, y la harina obtenida de estos genotipos hará posible la elaboración de alimentos nutraceúticos que mantengan sus características nutracéuticas después de procesos térmicos de conservación.

### **1.1.1. Hipótesis específicas**

Las características cromáticas, calidad nutricional y nutracéutica varían entre genotipos de maíz pigmentado.

Los parámetros fisicoquímicos, contenido de microorganismos, calidad nutricional y nutracéutica de productos alimenticios elaborados de harina de grano de maíz tostado varían después de ser sometidos a procesos de conservación.

El contenido de compuestos polifenólicos: ácido gálico, catequina, clorogénico, ferúlico, *p*-cumárico, ferúlico, sinápico, quercetina, y cianidina-3-glucósido varían entre genotipos de maíz pigmentado y en productos alimenticios sometidos a procesos de conservación.

## **1.2. Objetivo general**

Caracterizar el color, contenido nutricional y nutracéutico de 15 genotipos y productos alimenticios elaborados de maíz pigmentado nativos de la zona sur del Estado de Nuevo León

### **1.2.1. Objetivos específicos**

Realizar análisis proximal (humedad, ceniza, proteína, grasa, fibra cruda y carbohidratos), minerales macroelementos (magnesio, calcio, potasio, sodio, fósforo y azufre) y microelementos (cobre, hierro, zinc y manganeso) de los maíces pigmentados nativos colectados en la zona sur de Nuevo León.

Evaluar las características cromáticas, contenido de compuestos polifenólicos (compuestos polifenólicos totales, flavonoides totales, antocianinas totales, taninos condensados totales) en extractos solubles y ligados, y capacidad antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP y ORAC) de maíces pigmentados nativos de la zona sur de Nuevo León.

Evaluar el efecto de los tratamientos de pasteurización en las características cromáticas, parámetros fisicoquímicos, microbiológicos, compuestos polifenólicos (compuestos polifenólicos totales, flavonoides totales, antocianinas totales y taninos condensados totales) y actividad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) en cada tipo de bebida de maíz blanco y morado elaborada de maíces nativos de la zona sur de Nuevo León.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

El cultivo del maíz fue domesticado a partir de su antepasado silvestre el Teocintle (*Zea mays spp. parviglumis*) hace más de 6000 años por los pobladores de Mesoamérica; es considerado el promotor cultural y socioeconómico de la antigua civilización americana. Sin embargo, este cultivo era desconocido por el resto del mundo y fue hasta el descubrimiento de América en el siglo XVI que los españoles se encargaron de distribuirlo al continente europeo; gracias a ello, hoy en día es conocido como uno de los principales legados de América al mundo moderno (Staller, 2010).

Actualmente, el maíz es el segundo cultivo de mayor importancia en el mundo y es la especie agrícola más diversa (CONANP, 2016), esto debido a que posee una alta adaptabilidad, reproductibilidad y se desarrolla en una amplia variedad de situaciones ambientales y se cultiva en regiones con temperaturas superiores a 20 °C con alta exposición a la luz solar. Debido a estas características, desde finales del siglo XIX hasta nuestros días, los científicos han buscado la forma de crear variedades de maíces más productivas. Sin embargo, las prácticas de mejoramiento genético han favorecido la formación de híbridos utilizados sólo en un sector dedicados a la producción de alimentos o diferentes productos industriales como: almidones, aceites, barnices, pinturas, cauchos artificiales, jabones, y en la alimentación de ganado (Tykot y Staller, 2002; Staller, 2010; Lim, 2013). Estas prácticas de mejoramiento genético

han dejado de lado a otro sector productivo en México y que, gracias a esto, se ha conservado la variabilidad genética del maíz (Raven 2005; Staller, 2010).

México posee la mayor diversidad genética del maíz y es considerado como el centro de origen de este cultivo. Anualmente se siembran más de 8 millones de ha con una producción promedio anual de 22.7 millones de t (Turrent *et al.*, 2012). En México, se han encontrado 59 razas nativas de maíz y esto significa que existen variedades adaptadas a cada región o clima y condiciones edáficas, esto se debió al proceso de selección realizado por los antiguos pueblos indígenas mexicanos hace más de 6000 años (Fernández *et al.*, 2013; Salinas-Moreno *et al.*, 2013). El maíz desde su domesticación se ha convertido en el grano imprescindible en alimentación de la población mexicana, ya que mediante la nixtamalización del grano se preparan diversos platillos tradicionales como tortillas y tamales (PEPMA, 2014).

Generalmente, los maíces nativos se cultivan para autoconsumo y brindan sustento a miles de familias en zonas rurales (PEPMA, 2014), además estos maíces, son parte del patrimonio biocultural que México ha regalado al mundo, por lo que su protección y conservación resulta fundamental (Fernández *et al.*, 2013). Para preservar la variabilidad genética, organizaciones gubernamentales en la actualidad realizan programas de apoyo a los productores para que sigan sembrando los maíces nativos y generando colectas de las semillas. Por lo que, la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) por conducto de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP), ha desarrollado el Programa de Conservación de Maíz Criollo (PROMAC) (CONANP, 2016). Estos programas son de

vital importancia, ya que, con el tiempo, los maíces nativos podrían perder el carácter de maíces especializados y no tendrían características propias que los distinguan de los demás maíces, lo que causaría una importante pérdida de diversidad genética (Gaytan-Martínez *et al.*, 2013).

La conservación de la diversidad genética del maíz mexicano es importante, porque existen maíces nativos pigmentados que van de los colores: rojo, azul, morado y negro, con pigmentos vegetales en donde se encuentran diferentes compuestos polifenólicos, como son: ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas y taninos condensados con alto poder antioxidante (Abdel-Al *et al.*, 2006; Serna-Saldívar *et al.*, 2013; Urias-Lugo *et al.*, 2015).

Los compuestos antioxidantes tienen diversas funciones y una de ellas es la de atrapar los radicales libres, los cuales son responsables de la oxidación de la membrana causando daño al ADN, y además producen enfermedades como cáncer, fibrosis, problemas cardiovasculares y envejecimiento prematuro (Serna-Saldívar *et al.*, 2013; Mex-Alvarez *et al.*, 2013). El consumo de alimentos con alto contenido de antioxidantes, ofrecen efectos benéficos a la salud, además de mejorar la estabilidad frente a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), proceso que ha sido asociado de forma significativa con la génesis de aterosclerosis y enfermedades del corazón (García *et al.*, 2011). Por lo que a la industria de alimentos se refiere, actualmente se ha generado interés en el uso de los compuestos polifenólicos, esto por su capacidad antioxidante, uso como conservador de alimentos, para mejorar la

calidad nutricional y su uso como pigmento natural (Serna-Saldívar *et al.*, 2013; Goleniowski *et al.*, 2013; Maqsood *et al.*, 2014).

Debido a los compuestos polifenólicos presentes en los maíces pigmentados, estos pueden utilizarse para mejorar la calidad nutricional de los alimentos; por lo que en los últimos años existen estudios de la caracterización de los maíces mexicanos, la medición de su capacidad antioxidante y la cuantificación de estos compuestos polifenólicos (Yang *et al.*, 2007; Salinas-Moreno *et al.*, 2012b).

### **2.1. Compuestos polifenólicos**

Los compuestos polifenólicos, son compuestos que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos a uno o más anillos aromáticos (fenol), cada anillo aromático se encuentra formado por una molécula de 6 átomos de carbono llamada benceno. Los compuestos polifenólicos se conforman por largos y diversos compuestos químicos y son clasificados por el número de carbonos o el número de anillos de benceno presentes en su molécula, como simples (ácidos fenólicos) o complejos (estilbenos, cumarinas, flavonoides, antocianinas, taninos condensados, etc.) (Vermerris y Nicholson, 2006). Los compuestos polifenólicos, así como todos los demás compuestos de las células basados en el carbono, provienen de los carbohidratos generados durante la fotosíntesis y se producen en las plantas como metabolitos secundarios en respuesta a la interacción con el medio que los rodea. Uno de los precursores de estos compuestos, como el ácido shikímico, se derivan de dos procesos catabólicos dentro de la célula de la planta: la glucólisis y la vía de la pentosa fosfato (Vermerris y Nicholson, 2006; Ghosh *et al.*, 2012).

### 2.1.1. Ruta del ácido shikímico

La ruta del ácido shikímico o shikimato es exclusiva en plantas y microorganismos, esto es porque los mamíferos no pueden sintetizar la L-fenilalanina y L-tirosina, y dependen de fuentes vegetales o bacterianas para proveerse estos compuestos esenciales (Seigler, 1998; Maeda y Dudareva, 2012). La fenilalanina y tirosina son componentes esenciales de las dietas de los mamíferos, aunque los mamíferos pueden sintetizar tirosina a partir del consumo de fenilalanina (Herrmann, 1995; Maeda y Dudareva, 2012). En cambio, en las plantas la ruta del shikimato es capaz de producir aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y tirosina derivados del corismato, producto final de la ruta metabólica del shikimato (Weaver y Herrmann, 1997).

En las plantas, la ruta del shikimato se lleva cabo a partir de los sustratos fosfoenolpiruvato y eritrosa-4-fosfato, estos dos precursores se derivan de la glicólisis y la vía de la pentosa fosfato, respectivamente, y están condensadas a 3-desoxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato por la enzima DAHP sintasa. Los pasos siguientes dan como resultado la formación de 3-dehidroquinato por la enzima 3-DHQ sintasa, la 3-deshidroschikimato por la enzima DHQ deshidratasa, y finalmente en el ácido shikímico por la enzima shikimato deshidrogenasa (Figura 1) (Vermerris y Nicholson, 2006; Ghosh *et al.*, 2012; Maeda y Dudareva, 2012).

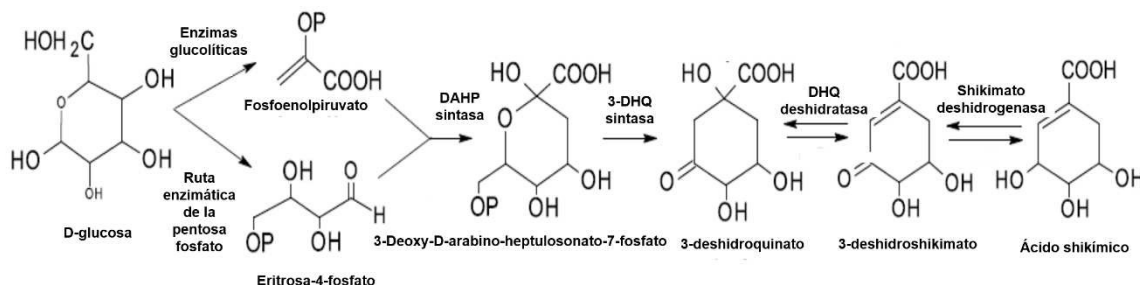


Figura 1. Ruta del ácido shikímico. Formación del ácido shikímico a partir de glucosa. Fuente Ghosh *et al.* (2012).

### 2.1.2. Ruta del corismato

El corismato es la fase final de la ruta metabólica del ácido shikímico. El ácido shikímico se convierte a shikimato-3-fosfato por la shikimato quinasa y posteriormente a 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato (EPSP) por la enzima EPSP sintasa. La EPSP es entonces convertido en corismato por corismato sintasa (Figura 2) (Weaver y Herrmann, 1997; Vermerris y Nicholson 2006; Ghosh *et al.*, 2012).



Figura 2. Ruta del corismato. Formación de corismato a partir del ácido shikímico. Fuente: Weaver and Herrmann 1997; Fuente Ghosh *et al.* (2012).

### 2.1.3. Ruta de la fenilalanina y tirosina

La fenilalanina y tirosina se derivan del corismato, el producto final de la ruta del ácido shikímico. Por lo tanto, para llevar a cabo la biosíntesis, se requiere la conversión de corismato a prefenato, catalizado por corismato mutasa y arogenato, catalizado por prefenato aminotransferasa. La enzima arogenato deshidratasa convierte el arogenato en fenilalanina, mientras que la enzima arogenato deshidrogenasa genera tirosina (Vermerris y Nicholson, 2006; Maeda y Dudareva, 2012). Sin embargo, el conocimiento de las rutas metabólicas de fenilalanina y tirosina de las plantas todavía no han sido descritas completamente y los genes que codifican la rutas de las enzimas han sido identificadas en las últimas dos décadas, por lo que, para la producción de fenilalanina y tirosina existen dos posibles rutas alternativas (Figura 3) (Siehl, 1998).

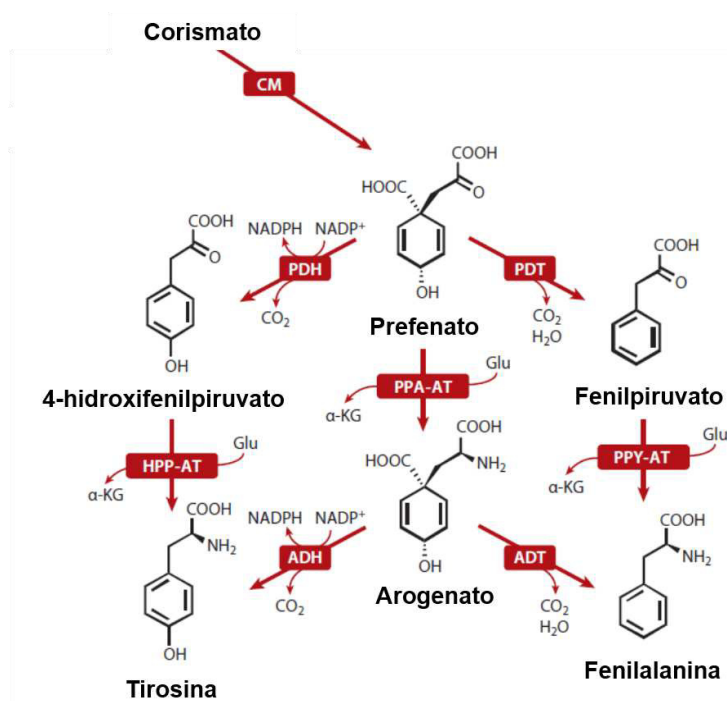


Figura 3. Formación de fenilalanina y tirosina a partir de corismato. Fuente: Maeda y Dudareva, 2012.

En la otra ruta (fenilpiruvato o vía 4-hidroxifenilpiruvato), las reacciones ocurren en orden inverso: primero el prefenato es sometido a deshidratación/descarboxilación por prefenato deshidratasa o para deshidrogenación/descarboxilación por prefenato deshidrogenasa, seguido de transaminación de los productos correspondientes, fenilpiruvato y 4-hidroxifenilpiruvato, a fenilalanina o tirosina, respectivamente (Figura 3). Los estudios recientes señalan que los microorganismos realizan la ruta de fenilpiruvato para la biosíntesis de fenilalanina y tirosina y en las plantas la ruta predominante para la biosíntesis de fenilalanina es la del arogenato y la ruta de la tirosina aún no ha sido definida con precisión. Aunque las dos vías difieren sólo en la secuencia de aromatización y transaminación, la determinación de la ruta biosintética real, permitirá comprender la partición del flujo de carbono y su regulación dentro de las rutas de fenilalanina y tirosina en plantas (Maeda y Dudareva, 2012).

## **2.2. Fenilpropanoides**

Los fenilpropanoides, compuestos originados por la fenilalanina genera compuestos como los ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, lignanos y cumarinas. En general esta ruta inicia con la fenilalanina derivada del ácido p-cumárico, un derivado del ácido shikímico (Vermerris y Nicholson, 2006).

### **2.2.1. Ácidos fenólicos**

Los ácidos fenólicos son originados de un anillo de benceno generados por la fenilalanina, a la cual se le sumó un grupo carboxilo para formar un ácido fenilcarboxílico o fenólico, y dependiendo de su lugar en el anillo aromático, se dividen en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> ácidos hidroxibenzoicos, C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub> fenonas (compuestos muy raros en la

naturaleza) y C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> ácidos hidroxicinámicos (Goleniowski *et al.*, 2013). Los ácidos hidroxicinámicos son los más abundantes en el reino vegetal y cualquier planta contiene al menos tres de los seis que existen: ácido cinámico, *p*-cumárico, cafeico, ferúlico, hidroxiferúlico y sinápico (Vermerris y Nicholson, 2006; Goleniowski *et al.*, 2013).

Los ácidos fenólicos tienen diversas funciones, además de brindar protección sirven para: absorción de nutrientes, síntesis de proteínas, actividad enzimática, componentes estructurales, alelopatía y protección a la radiación UV (Goleniowski *et al.*, 2013). Debido a las cualidades antioxidantes de los ácidos fenólicos, existe el interés por diferentes tipos de industrias como la de alimentos, para aplicarlos como conservadores en las grasas de origen animal, por su eficiencia para retardar el enranciamiento de las grasas o peroxidación lipídica. En la industria farmacéutica, son deseables por los efectos benéficos a la salud, como atrapar radicales libres que ocasionan daños en células, por disminuir la absorción de glucosa de la sangre, tratamiento contra enfermedades degenerativas como las vasculares y cardiovasculares, tratamiento contra el cáncer y por sus efectos contra microorganismos causales de enfermedades en humanos como *Salmonella*, *E. Coli*, *Listeria* y *Clotridium* (Irakli *et al.*, 2012; Gawlik-Dziki *et al.*, 2012; Goleniowski *et al.*, 2013; Maqsood *et al.*, 2014; Boz, 2015).

### 2.2.1.1. Ruta de ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos derivados de la fenilalanina en plantas, hongos y bacterias son producidos a través de la eliminación del grupo amino (deaminación) de la fenilalanina por la acción de la enzima fenilalanina amoníaco-liasa, que forma el esqueleto del fenilpropanoide, para producir el ácido cinámico. Las reacciones siguientes en esta ruta catalizan la adición de más grupos hidroxilo y metilo para la producción de los ácidos hidroxicinámicos (*p*-cumárico, cafeico, ferúlico, 5-hidroxiferúlico y sinápico) (Figura 4), los cuales son precursores de compuestos más complejos como cumarinas, lignina, taninos, flavonoides e isoflavonoides (Humphreys y Chapple, 2002).

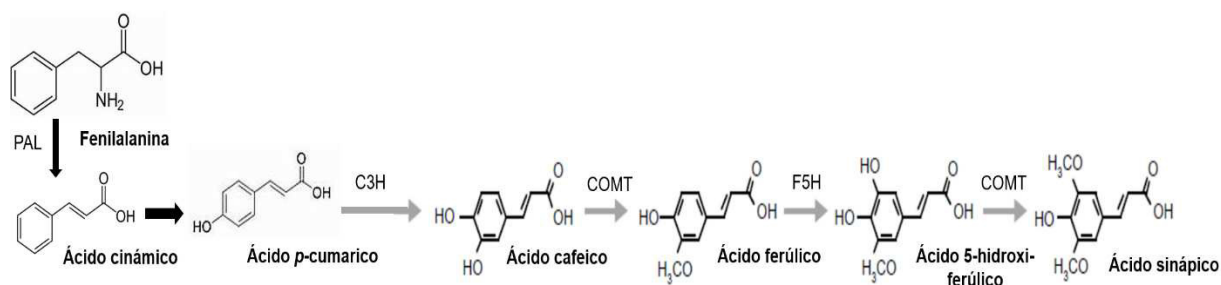


Figura 4. Formación de ácidos hidroxicinámicos a partir de fenilalanina. Fuente: Humphreys and Chapple (2002).

### 2.2.1.2. Ruta de *p*-cumaril-CoA

Los pasos iniciales en las plantas que poseen la ruta fenilpropanoide, ocurren por tres transformaciones enzimáticas que redireccionan el flujo del carbono del metabolismo primario, para transformarlo de fenilalanina en la *p*-cumaril-CoA, esta transformación de la fenilalanina se lleva a cabo por la hidroxicinamoil-CoA ligasa, capaz de hidrogenar el *p*-cumárico (fenilpropanoide), y después formar un enlace tioéster con el *p*-cumárico, que será capaz de catalizar la biosíntesis de flavonoides.

En otros casos como puede ocurrir en monocotiledoneas y algunas especies de hongos y bacterias, que poseen la tirosina amoniaco liasa, estos pasos pueden reducirse de tres a sólo dos (Figura 5) (Hwang *et al.*, 2003; Ferrer *et al.*, 2008).

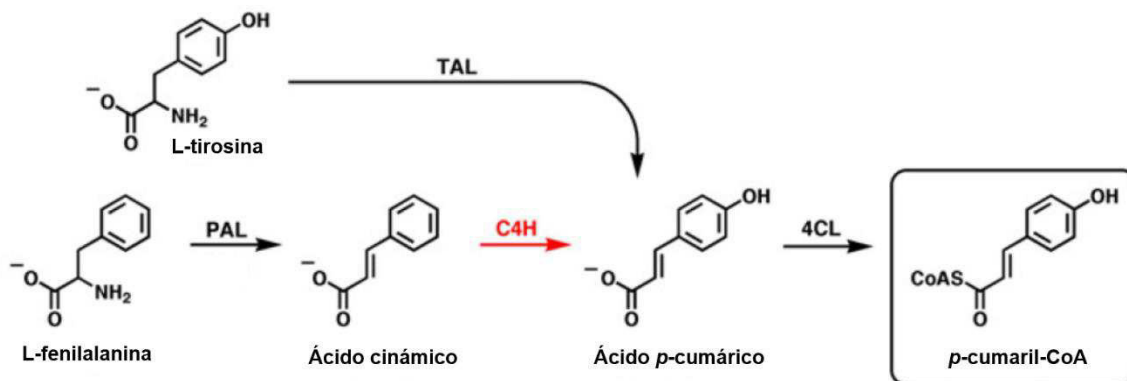


Figura 5. Ruta de fenilpropanoides, formación *p*-cumaril-CoA a partir de la fenilalanina. Fuente: Ferrer *et al.*, 2008.

### 2.2.1.3. Ruta de ácido clorogénico

En las plantas la mejor clase de compuestos polifenólicos son los ácidos fenólicos, porque son encontradas en casi todas ellas. El mejor ejemplo de esto es el ácido cafeico, el cual puede encontrarse unido a otros ácidos como el ácido quínico, shikímico y tartárico mediante un enlace éster. Un ejemplo común encontrado en la naturaleza es el ácido clorogénico, que consiste en un ácido cafeico esterificado con un ácido quínico (Figura 6), que se forma mediante reacciones enzimáticas con la hidroxicinamoil-CoA quinato hidroxicinamoil transferasa y la éster *p*-cumaril 3-hidroxilasa (Olthof *et al.*, 2001; Lafay *et al.*, 2006; Vermerris y Nicholson, 2006; Gramazio *et al.*, 2014).

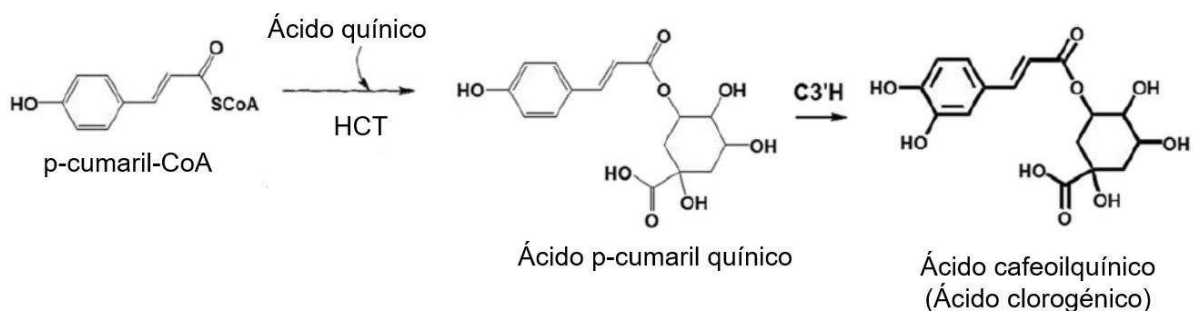


Figura 6. Formación de ácido clorogénico a partir de *p*-cumaril-CoA. Fuente: Gramazio *et al.* (2014).

## 2.2.2. Flavonoides

Los flavonoides o también llamados fitonutrientes son pigmentos naturales que se encuentran en la mayoría de los vegetales. Son compuestos de 15 átomos de carbono, con bajo peso molecular y un esqueleto difenilpirano ( $C_6-C_3-C_6$ ). Están formados por una estructura de dos anillos de benceno unidos a una cadena de tres carbonos. Los principales grupos en que se dividen los flavonoides son: chalconas, auronas (ambos encontrados en las hojas amarillas de las flores y en las hojas del árbol de manzana), flavonas, isoflavonoides, flavononas y antocianinas (Vermerris y Nicholson, 2006).

### 2.2.2.1. Ruta de los flavonoides

Los flavonoides se sintetizan en el citosol, a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA. Se ha propuesto que las enzimas biosintéticas forman un complejo supermolecular (metabolón) a través de la interacción proteína-proteína y se anclan en la membrana del retículo endoplásmico. Las enzimas biosintéticas pertenecen a varias familias de enzimas, como las dioxigenasas dependientes de 2-oxoglutarato, los citocromos P450 y las glucosiltransferasas, lo que sugiere que las plantas

reclutaron estas enzimas de vías metabólicas preexistentes. El análisis filogenético indica que los genes que codifican las enzimas con la misma o similar actividad divergieron antes que la especiación de las semillas (Tanaka *et al.*, 2008).

La chalcona sintasa, que en maíz se codifica por el gen *c2*, es un policétido sintasa (Figura 7), es la primera enzima que cataliza la síntesis de tetahydroxychalcona a partir de una molécula de 4-cumaroil CoA y tres moléculas de malonil CoA, para producir la chalcona 2,4',4'6-tetahydroxychalcona (THC). A partir de la 2,4',4'6-tetahydroxychalcona, mediante la enzima tetahydroxychalcona-2-glucosiltransferasas, para producir la chalcona isosalipurposido, y la enzima 2,4',4'6-tetahydroxychalcona-4-glucosiltransferasas e inmediatamente después la aurosidina sintasa, dan origen a la aurosidina-6-glucósido que producen la coloración amarilla en los pétalos de las flores o en la aleurona de grano de maíz amarillo (Vermerris y Nicholson, 2006; Tanaka *et al.*, 2008; Sharma *et al.*, 2012).

Otra ruta que puede seguir la THC, codificado en maíz por el gen *chi1*, consiste en la isomerización por la enzima chalcona isomerasa, para producir la flavonona naringenina incolora. La naringenina, mediante la enzima flavona sintasa introduce una ligadura insaturada entre el carbono 2 y 3 del anillo cíclico de que flavonona para producir la flavona apigenina (Fliegmann *et al.*, 2010), o también puede ser hidroxilado en la posición 3 por la flavonona-3-hidroxilasa, que es codificada en maíz por el gen *f3h* para producir el flavonol dihidrokaempferol (Vermerris y Nicholson, 2006; Tanaka *et al.*, 2008; Sharma *et al.*, 2012).

El dihidrokaempferol puede transformarse en la flavona kaempferol, mediante la enzima flavona sintasa o puede ser hidroxilado mediante las enzimas 3'-hidroxilasa (F3'H), codificada en maíz por el gen *pr1*, y 3',5'-hidroxilasa (F3'5'H), en dihidroquercetina y dihidromiricetina, respectivamente. Las enzimas F3'H y F3'5'H determinan el patrón de hidroxilación del anillo B de flavonoides y antocianinas, y son necesarios para la producción de cianidina y delphinidina, respectivamente. estas enzimas con clave que determinan las estructuras de las antocianinas y, por lo tanto, su color. F3'H y F3'5'H catalizan la hidroxilación de flavononas, flavonoles y flavonas (Vermerris y Nicholson, 2006; Tanaka *et al.*, 2008; Sharma *et al.*, 2012).

Los flavonoles también pueden dar lugar a las antocianinas. El primer paso consiste en transformar los flavonoles mediante la enzima dihidroflavonol-4-reductasa a leucoantocianidinas, codificado en maíz por el gen *a1*, para el color de la aleurona. El segundo paso consiste en la deshidratación de las leucoantocianidinas mediante la enzima antocianidina sintasa, codificado en maíz por el gen *a2*, para producir las antocianidinas (Vermerris y Nicholson, 2006; Sharma *et al.*, 2012). El tercer paso consiste inicialmente en la glucosilación de las antocianidinas mediante la acción de la enzima UDP-glucosa flavonoide-3-O-glucosiltransferasa, codificada en maíz por el gen *bz1*, para producir las antocianinas. Otras enzimas que dan origen a las antocianinas son las 3' 5' 7' glucosil transferasas que forman grupos separados, la enzima antocianina 3', 5' aciltransferasa, que generan unas antocianinas glucoaciladas o aciladas y la enzima antocianina 3', 5'manoloniltransferasa para generar antocianinas unidas a un ácido malónico (Vermerris y Nicholson, 2006; Tanaka *et al.*, 2008).

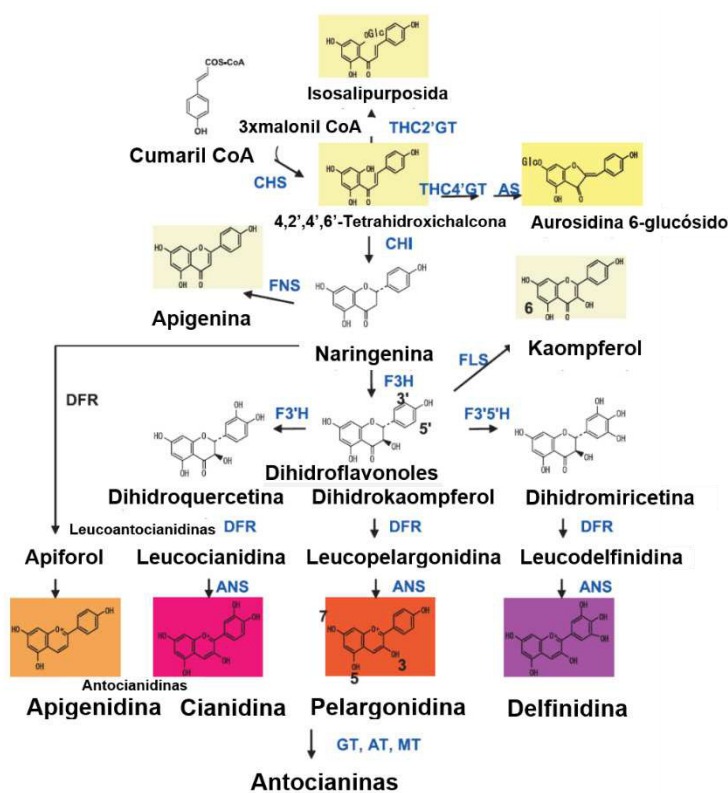


Figura 7. Ruta metabólica de los flavonoides. Fuente: Tanaka *et al.* (2008).

### 2.2.3. Antocianinas

Las antocianinas son una clase de flavonoides de 15 átomos de carbono con una estructura C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> y son compuestos polifenólicos solubles en agua (glucósidos de antocianidinas) que proveen de color, naranja, rojo, azul o morado a las frutas y vegetales (Lao y Guisti, 2016). Las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides, y su estructura básica es un núcleo de flavon, el cual consta de dos anillos aromáticos unidos por una unidad de tres carbonos. El nivel de hidroxilación y metilación en el anillo "B" de la molécula determina el tipo de antocianidina, que es la aglicona de la antocianina. El glucósido común es el 3-glucósido. Si hay un segundo azúcar presente, es casi siempre en la posición 5-hidroxilo, y casi siempre una glucosa residuo. Tales compuestos se llaman 3,5-dimonosidos. Además, hay unas pocas

sustituciones raras en los carbonos 3 y 7. Si bien la glucosa es el azúcar más común, a veces se observan sustituciones de otros azúcares, como la arabinosa (Vermerris y Nicholson, 2006; Salinas-Moreno *et al.*, 2010).

Algunas de las antocianinas más comunes encontradas en los frutos son pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina (Salinas-Moreno *et al.*, 2010). Por otro lado, en reportes de caracterización de antocianinas en maíz morado, Lao y Guisti (2016) reportaron antocianinas entre las que se encuentran algunas de forma acilada mostradas en el cuadro 1.

Cuadro 1. Antocianinas identificadas en el grano de maíz morado y azul (Salinas-Moreno *et al.*, 2010)

Color del grano	Ubicación del pigmento	Antocianina identificada
Morado	Aleurona	Cianidina-3-glucósido
Azul	Aleurona	Cianidina-3-rutinósido
Morado	Aleurona	Pelargonidina-3-glucósido
Morado	Aleurona	Peonidina-3-glucósido
		Peonina-3-(6"-malonilglucósido)
		Cianidina-3-succinilglucósido
Morado	Aleurona	Pelargonidia-3-(6"-malonilglucósido)
		Peonidina-3-(6"-malonilglucósido)

### 2.2.3.1. Color de las antocianinas

El color de las antocianinas cambia según el pH, los compuestos incoloros coexistentes (co-pigmentos, normalmente flavonoides y flavonoides) e iones metálicos. En condiciones *in vitro*, las antocianinas son más rojas y más estables ya que los cationes del flavilio se forman a pH más bajo (pH <3), incoloros en condiciones

ligeramente ácidas (pH 3-6) y más azules e inestables que la base quinonoidal a pH 6 o superior. El apilamiento intermolecular por autoasociación con flavonas o flavonoles (a menudo denominados co-pigmentos) estabiliza las antocianinas y causa un cambio batocrómico (azulado e intensificación del color). Los iones metálicos, como  $\text{Al}^{3+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , desempeñan un papel crítico en la generación de flores azules en hortensias (*Hydrangea macrophylla*) y tulipanes (*Tulipa gesneriana*), respectivamente. Un equilibrio estequiométrico sutil de una antocianina basada en cianidina, un flavonol,  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  es crítico para la generación de los pétalos celestes de *Meconopsis grandis*. En aciano (*Centaurea cyanus*), un complejo supermolecular de seis moléculas de cianidina-3-(6-succinilglucósido)-5-glucósido y apigenina-7-glucurónido-4-(6-malonilglucósido), un ion férrico, un ion de magnesio y dos iones de calcio son responsables del color de la flor azul. Sin embargo, todavía está por determinarse cómo las plantas logran tales sutiles equilibrios de cada componente para generar colores apropiados (Tanaka *et al.*, 2008).

#### **2.2.4. Taninos condensados**

Los taninos condensados (TC) también se conocen como proantocianidinas. Los taninos condensados son una mezcla compleja de flavonoides poliméricos de alto peso molecular de unidades de flavan-3-oles (catequina) con un alto grado de variabilidad de la estructura, dependiendo de sus monómeros constituyentes (propelargonidinas, procianidinas, prodelfinidinas, profisetinidinas y prorobinetinidinas), no hidrolizables y unidos entre sí por enlace interflavónico C-C (covalente) (tipo A y tipo B proantocianidinas) (Chai *et al.*, 2012; Navarro-Hoyos *et al.*, 2017). Son compuestos polifenólicos realizados a partir del metabolismo secundario

de las plantas, que sirven de protección contra insectos, enfermedades, depredadores. Además de propiedades biológicas como antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas (Khanbabaee y van Ree, 2001; Vermerris y Nicholson, 2006; Dixon *et al.*, 2013; Navarro-Hoyos *et al.*, 2017).

Los taninos se utilizaron por las tribus prehistóricas para llevar a cabo el curtido de la piel de los animales. También, son utilizados en la medicina tradicional de Asia, y recientemente en la industria de alimentos para precipitar proteínas y aclarar bebidas. Los taninos pueden encontrarse en diferentes partes de las plantas como en las hojas, frutos y corteza (Khanbabaee y van Ree, 2001; Vermerris y Nicholson, 2006).

#### **2.2.4.1. Ruta metabólica de taninos condensados**

El mecanismo de polimerización para la formación de los TC no ha sido definido con exactitud (Dixon *et al.*, 2013). La biosíntesis de las antocianidinas se ha descrito con anterioridad en la ruta metabólica de los flavonoides (Figura 7). En la ruta de los TC (Figura 8) se describe la enzima antocianidina reductasa, la cual participa en la formación de los flavan-3-oles (catequina), los cuales mediante ácidos o enzimas no definidas promueven el transporte, polimerización y oxidación de la catequina para la síntesis de los taninos condensados (Vermerris y Nicholson, 2006; Dixon *et al.*, 2013).

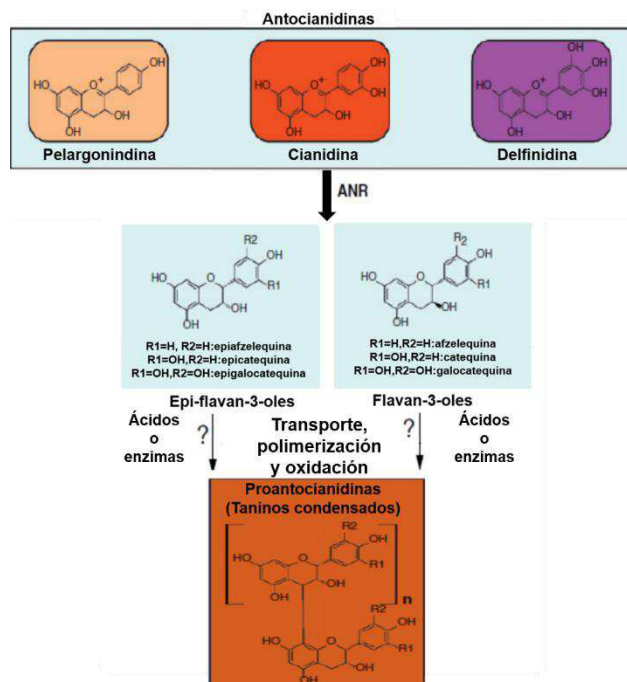


Figura 8. Formación de taninos condensados a partir de antocianidinas. Fuente: Dixon *et al.* (2013).

## 2.3. Extracción y cuantificación de compuestos polifenólicos

### 2.3.1. Ácidos fenólicos, flavonoides y taninos condensados

La extracción de los compuestos polifenólicos totales libres se realiza con solventes orgánicos como metanol o etanol. Para la liberación de compuestos polifenólicos ligados, los sólidos resultantes son hidrolizados con una solución de NaOH, y la reacción es detenida con HCl, después los compuestos liberados son extraídos mediante éter etílico o acetato de etilo (Chiremba *et al.*, 2012; Goleniowski *et al.*, 2013; Pedersen *et al.*, 2015). Finalmente, los solventes se evaporan con rotavapor o gas nitrógeno, y la muestra se diluye en metanol (Gawlik-Dziki *et al.*, 2012; Nicoletti *et al.*, 2013).

La cuantificación de compuestos polifenólicos totales se realiza por método de Folin-Ciocalteu. La reacción consiste en que los compuestos polifenólicos reaccionen con el reactivo en condiciones básicas, lo que provoca la disociación de un protón fenólico para producir un anion fenolato, el hidrogeno liberado del grupo fenol reduce el reactivo Folin-Ciocalteu y genera una coloración azul (Huang *et al.*, 2005; Hsu *et al.*, 2017). Para la curva de calibración se utiliza ácido gálico o clorogénico en concentraciones de 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, and 400 mg mL<sup>-1</sup> (Vermerris y Nicholson, 2006; Liu *et al.*, 2011; Lopez-Martinez *et al.*, 2011; Butkhup *et al.*, 2012; Salinas-Moreno *et al.*, 2012a; Hsu *et al.*, 2017).

Para determinar flavonoides totales se utiliza la técnica de cloruro de aluminio (AlCl<sub>3</sub>) leyendo la absorbancia a una longitud de onda de 510 nm (Butkhup *et al.*, 2012; Žilić *et al.*, 2016; Hsu *et al.*, 2017), y en la curva de calibración se utiliza catequina en concentraciones que oscilan de 0, 5, 10, 25, 50, 100, 150 y 200 μg mL<sup>-1</sup> (Butkhup *et al.*, 2012; Hsu *et al.*, 2017).

La cuantificación de taninos condensados se basa en un método colorimétrico que consiste en la reacción de vainillina-HSO<sub>4</sub>. La absorbancia se lee a 500 nm (Khattab *et al.*, 2010; Türkyilmaz y Özkan, 2014). En esta técnica pueden existir interferencia por otros flavonoles monoméricos como la catequina y la epicatequina (Vermerris y Nicholson, 2006). La curva de calibración se realiza con catequina en concentraciones de van de 0 a 200 mg (Khattab *et al.*, 2010; Türkyilmaz y Özkan, 2014; López-Contreras *et al.*, 2015).

### 2.3.2. Antocianinas

Las antocianinas son extraídas con metanol o etanol acidificado con HCl, CH<sub>3</sub>COOH, CF<sub>3</sub>COOH y ácido cítrico, con bajas temperaturas y oscuridad (Vermerris y Nicholson, 2006; Yang *et al.*, 2008; Salinas-Moreno *et al.*, 2012a). El método más utilizado para la extracción de antocianinas consiste en el método reportado por Abdel-Al y Hucl (1999) con etanol acidificado con HCL ajustado a pH1 (Rodríguez-Saona y Wroslad, 2001; Yang *et al.*, 2009; Lao y Giusti, 2016). El contenido de antocianinas se obtiene leyendo absorbancia medida a 535 nm y se calcula mediante la fórmula de Abdel-Al y Hucl (1999):

Cálculo:

$$C = (A/\epsilon) \times (V/1000) \times PM \times (1/\text{peso de muestra}) \times 10^6$$

Donde:

C = es concentración de antocianinas (mg kg<sup>-1</sup>)

A = es la absorbancia registrada

ε = coeficiente de extinción molar cianidina-3-glucósido (25 965 cm<sup>-1</sup> M<sup>-1</sup>)

V = es el volumen total del extracto

PM = es el peso molecular de cianidina-3-glucósido (449 g M)

Los resultados se expresan en miligramos equivalente de cianidina-3-glucósido por kg de muestra (mg ECG kg<sup>-1</sup>), como blanco se usa etanol acidificado a pH 1.

### 2.4. Identificación y cuantificación de compuestos polifenólicos por HPLC

La identificación y cuantificación de los compuestos polifenólicos se realiza principalmente por High Performance Liquid Chromatography (HPLC) con una columna C-18 de fase de reversa (Hsu *et al.*, 2017). Generalmente se combina con luz ultravioleta (UV), arreglo de diodos (DAD) o detección de fluorescencia-UV (Butkhuip

*et al.*, 2012; Irakli *et al.*, 2012). En HPLC los solventes más utilizados son: metanol o acetonitrilo con bajas concentraciones de ácido acético, fórmico o fosfórico (Goleniowski *et al.*, 2013).

#### **2.4.1. Ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas (HPLC)**

Para la identificación y cuantificación de compuestos polifenólicos se utilizan estándares externos de ácidos fenólicos (gálico, 4-hidroxibenzoico, *p*-cumárico, clorogénico, cafeico, ferúlico y sinápico), flavonoides (catequina y quercetina) y antocianinas (cianidina-3-glucósido), en concentraciones de 0-200 mg L<sup>-1</sup>, y un monitoreo a las longitudes de onda de 280 y 520 nm, que representa la máxima longitud de onda de absorción de la mayoría de los compuestos polifenólicos y antocianinas, respectivamente (Abdel-Aal *et al.*, 2006; Sait *et al.*, 2015; Lao y Giusti 2016; Hsu *et al.*, 2017).

### **2.5. Capacidad antioxidante**

Los métodos antioxidantes se llevan a cabo para medir la capacidad antioxidante que tiene un compuesto, mezcla o alimento. Los compuestos polifenólicos de las plantas brindan una barrera química de protección contra las condiciones ambientales como la radiación UV que provoca la oxidación celular (Salinas-Moreno *et al.*, 2012a Serna-Saldívar *et al.*, 2013; Taylor *et al.*, 2013; Acosta-Estrada *et al.*, 2014). Los métodos más utilizados para evaluar la capacidad antioxidante son los métodos 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), Ácido 2-2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS), poder de reducción del ion férrico (FRAP, por sus siglas en inglés), y

capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés) (Benzie y Strain, 1996; González-Muñoz, *et al.*, 2013; Chaiittianan *et al.*, 2016).

### 2.5.1. DPPH

El ensayo se fundamenta en la estabilidad del radical libre dada por el un electrón desapareado de un átomo de nitrógeno (Figura 9) que genera una coloración morada intensa (medida a 515nm) y que se pierde al ser estabilizada por una sustancia capaz de donar un hidrógeno (H) o un radical (R) para formar una forma reducida de DPPH-H o DPPH-R (Mishra *et al.*, 2012; Alam *et al.*, 2013). Las concentraciones pueden calcularse mediante una curva de calibración de calibración con Vitamina C o Trolox en concentraciones de 0 a 500  $\mu\text{mol kg}^{-1}$  (Kuskoski *et al.*, 2005; Chaiittianan *et al.*, 2016).

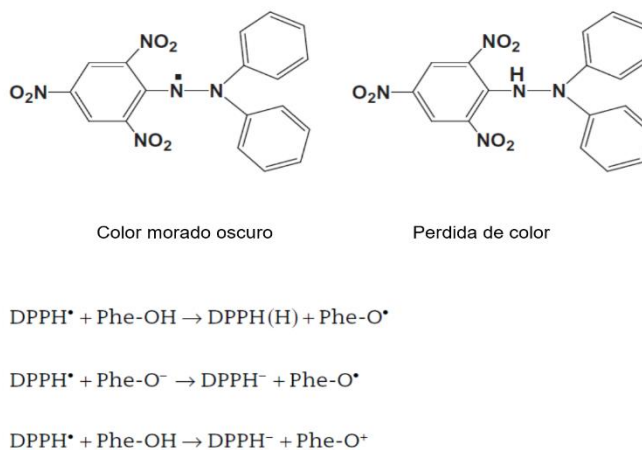


Figura 9. Estructura del radical DPPH en color morado oscuro y pérdida de color por reacción con otros radicales, electrones y/o átomos de hidrógeno. Fuente: Schaich *et al.* (2015).

## 2.5.2. ABTS

El ensayo consiste en reducir el  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  a ABTS (Figura 10) y lo decolora de igual manera que en el DPPH; la reacción consiste en la transferencia de átomos de hidrógeno o electrones al reactivo para estabilizarlo. La técnica mejorada para la generación del radical catión  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ , implica la producción directa del cromóforo  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  verde-azul a través de la reacción entre ABTS y el persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ). La adición de los antioxidantes al radical preformado lo reduce a ABTS. De esta manera, el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  está determinado en función de la concentración y el tiempo. La absorbancia se mide a 734 nm y la curva de calibración de calibración puede realizarse por Trolox (Zulueta *et al.*, 2009; Yang y Zhai, 2010; González-Muñoz *et al.*, 2013; Alam *et al.*, 2013).

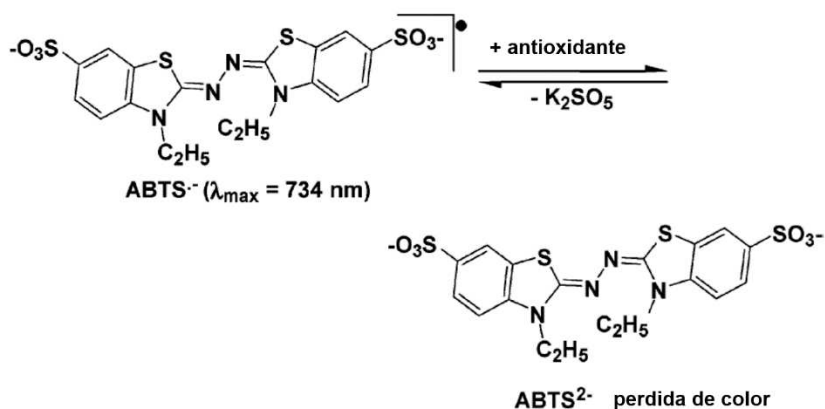


Figura 10. Estructura del radical ABTS generado oxidación por adición de persulfato de potasio y pérdida de color por la presencia de un antioxidante. Fuente: Huang *et al.* (2005).

### 2.5.3. FRAP

El ensayo consiste en el poder que presenta la sustancia antioxidante para reducir el ion hierro ( $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ ), simulando la capacidad de reducción del plasma, pero lleva a cabo en condiciones ácidas (pH 3.6). A diferencia de otras reacciones (TEAC, ABTS), cuando un complejo férrico-tripiridiltriazina ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ) se reduce a la forma ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ), produce un color azul intenso que se mide a una longitud de onda de 593 nm (Figura 11). FRAP es un examen razonable de la capacidad antioxidante para mantener el estado redox en células o tejidos. Además, el poder reductor de FRAP se relaciona con el grado de hidroxilación y el grado de conjugación en los compuestos polifenólicos (Huang *et al.*, 2005; Prior *et al.*, 2005). La curva de calibración puede realizarse por Vitamina C, TROLOX,  $\text{FeSO}_4$ , (Benzie y Strain, 1996; Chai *et al.*, 2012; Butkhuip *et al.*, 2012; Alam *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2013; Chaiittianan *et al.*, 2016).

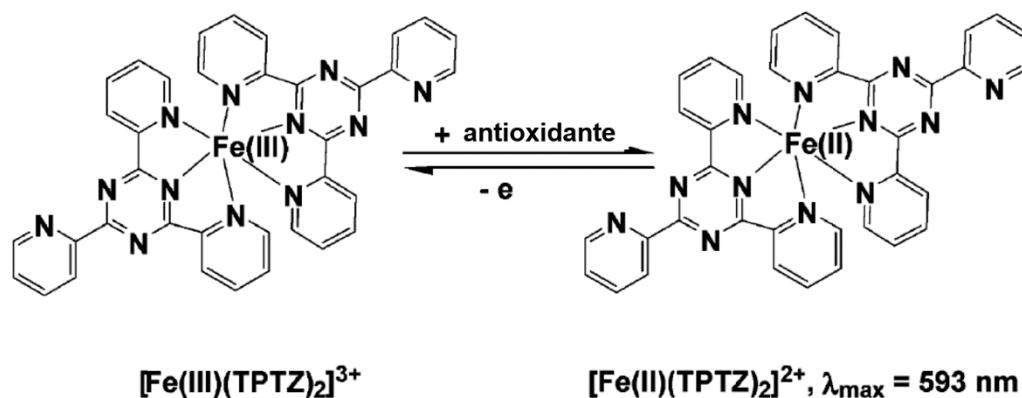


Figura 11. Estructura del radical FRAP FeIII-TPTZ y reducción a FeII-TPTZ en presencia de un antioxidante. Fuente: Huang *et al.* (2005).

#### 2.5.4. ORAC

El ensayo fue desarrollado originalmente por Glazer (1990) y refinado por Ghiselli *et al.* (1995) (Wu *et al.*, 2004). El ensayo consiste en generar los radicales calentando un compuesto de azida, la cual se descompone, eliminando el gas nitrógeno y dejando atrás dos átomos de radical carbono, R. En presencia de oxígeno, R se convierte casi instantáneamente, a radicales reactivos de peróxido, ROO que puede atacar a las moléculas objetivo y que tienen color o fluorescencia o reaccionan con antioxidantes (Schaich *et al.*, 2015). La fluoresceína es el objetivo más comúnmente utilizado y cuando es atacado por radicales peroxilo, la fluorescencia se pierde (Figura 12). Un antioxidante reduce la pérdida de fluorescencia al apagar los radicales peroxilo a través de la transferencia del átomo de hidrógeno al radical (Prior *et al.*, 2005; Schaich *et al.*, 2015). Además, el valor ORAC no sólo se relaciona con el contenido de los compuestos polifenólicos presentes en una muestra, sino también de la interacción con todos ellos (SAT y HAT), conocido como efecto aditivo (Zulueta *et al.*, 2009). La lectura de la fluorescencia se debe medir a 37 °C, se mide en un detector de fluorescencia a una longitud de onda de 490 nm de excitación y 515 nm de emisión. La curva de calibración se realiza con Trolox (Nkhili y Brat *et al.*, 2011; Bentayeb *et al.*, 2014; Grajeda-Iglesias *et al.*, 2016).

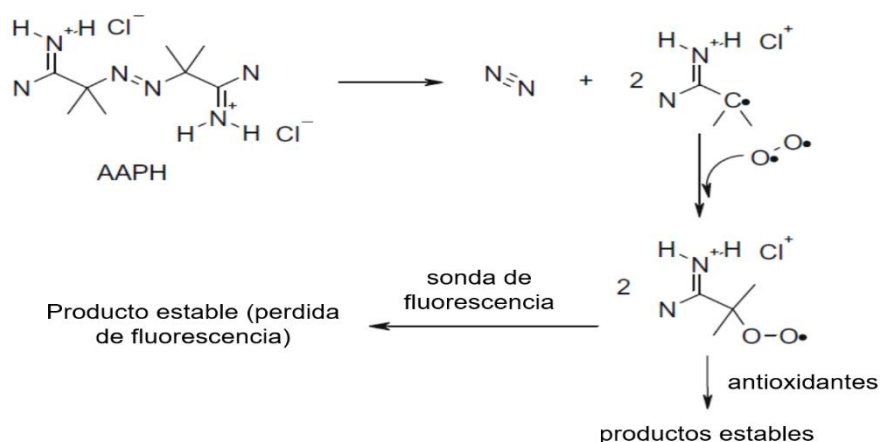


Figura 12. Reacción del radical AAPH durante el método ORAC. Fuente: Zulueta *et al.* (2009).

## 2.6. Elaboración de bebidas

Las bebidas son aceptadas por sus propiedades refrescantes, quitar la sed, proporcionar la energía necesaria para el cuerpo y tienen la ventaja de ser rápidas de consumir y de ser un producto de rápida disposición (Kreis *et al.*, 2008). Las bebidas pueden producirse a partir de una amplia variedad de materias primas de origen animal y vegetal. En estas últimas se incluyen las frutas, verduras y los granos de cereales, los cuales proporcionan un alto contenido de proteínas, vitaminas y minerales (Salinas-Moreno *et al.*, 2007). Las bebidas producidas a partir de granos de cereales tostados, tanto las variantes alcohólicas como no alcohólicas y fermentadas, son ampliamente consumidas a nivel mundial (Chaves-López *et al.*, 2014; Serna-Saldívar *et al.*, 2013).

### **2.6.1. Elaboración de bebidas a base de maíz**

En México se elaboran una amplia variedad de productos alimenticios con calidad de exportación a partir del grano maíz (Salinas-Moreno *et al.*, 2013; Bello-Pérez *et al.*, 2016). Pero el maíz también se utiliza en la elaboración de productos menos conocidos, como bebidas tradicionales. Más allá del típico atole, existen otras bebidas alcohólicas, fermentadas y no fermentadas elaboradas de forma tradicional, cultural o regional. Estas bebidas generalmente son elaboradas de forma artesanal con el tipo de maíz y las materias primas disponibles en el lugar donde se elabore. Por tanto, existe poca información respecto formulaciones, procesos de elaboración, procesos de conservación y contenido de compuestos nutraceuticos presentes en los diferentes tipos, formas y colores de granos de maíz utilizados en su elaboración (Gadaga *et al* 1999; Ade-Omowaye *et al.*, 2006).

Los productos elaborados a partir del grano de maíz, ya sea blanco o pigmentado son considerados como antioxidantes (Serna-Saldívar *et al.*, 2013; Akonor *et al.*, 2014; Chaves-López *et al.*, 2014; Urias-Lugo *et al.*, 2015). Debido a que los cereales son componentes vitales de la nutrición humana (Kreisz *et al.*, 2008) y a que en años recientes la preocupación de los consumidores en las relaciones entre nutrición y el consumo de productos con efecto benéfico en la salud (Grunert, 2005), las bebidas a base de cereales tienen un enorme potencial como alimento funcional, ya que pueden servir como portadores de una gama de compuestos funcionales, por ejemplo minerales, fibra dietética, probióticos, vitaminas y antioxidantes. Sin embargo, se necesita ampliar la investigación para comprender el comportamiento de algunos de

los componentes antioxidantes presentes en las bebidas a base de cereales, después de los procesos de transformación o conservación (Kreisz *et al.*, 2008).

La conservación de los alimentos, en especial en bebidas, es importante para evitar problemas de salud pública. Para el caso de bebidas elaboradas a partir de cereales, ya que estos poseen alto contenido de azúcares, son susceptibles al deterioro por microorganismos que pueden reducir su vida útil, a través de la producción de sabores desagradables, turbidez y producción de gas. Por lo tanto, es necesario utilizar algún tipo de tratamiento de conservación para incrementar la vida útil (Suárez-Jacobo *et al.*, 2010).

### **2.6.2. Pasteurización y su efecto en la calidad nutracéutica**

Uno de los métodos tradicionales más utilizados para la conservación de bebidas, es la pasteurización (Charles-Rodríguez *et al.*, 2007). El proceso térmico tradicional de pasteurización consiste en elevar la temperatura por un periodo de tiempo. Este proceso es considerado muy seguro, ya que tiene un efecto letal sobre microorganismos y enzimas causales del deterioro de alimentos, es muy efectivo y se ha reportado que no tienen efecto en las variables fisicoquímicas de las bebidas (Charles-Rodríguez *et al.*, 2007; Jiménez-Sánchez *et al.*, 2017). Por otro lado, estudios han mencionado que debido a las altas temperaturas se producen cambios bioquímicos y nutricionales indeseables que pueden afectar la calidad general del producto final (Choi y Nielsen, 2005; Suárez-Jacobo *et al.*, 2010).

Algunos cambios reportados debido a las temperaturas de pasteurización son: pérdida de vitaminas, cambio de color y disminución de compuestos con capacidad antioxidante como los fenólicos (flavonoides, carotenoides y antocianinas). Esta disminución en los compuestos polifenólicos puede superar el 40% con temperaturas superiores a los 80 °C (Jiménez-Sánchez *et al.*, 2017; Petruzzi *et al.*, 2017). Además, las altas temperaturas provocan la aceleración de la reacción de Maillard, el cual produce cambio en la coloración al generar sustancias de coloración oscura, conocidas como melanoidinas, que requieren un azúcar reductor y un grupo amino disponible. La sacarosa utilizada generalmente en las formulaciones con endulzante puede actuar como reductor mediante un proceso de hidrólisis, liberación de glucosa y fructosa, esto ocasionado por temperaturas de pasteurización (Oboh *et al* 2010; Pérez-Hernández *et al.*, 2012).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Material de trabajo**

Las semillas de las variedades de maíz nativo pigmentado se colectaron mediante un programa de apoyo de la “Fundación PRODUCE Nuevo León A.C. La colecta se realizó en diferentes localidades del Distrito de Desarrollo Rural (DDR) Galeana, conformado por los municipios de Galeana, Aramberri, General Zaragoza, Dr. Arroyo y Mier y Noriega en el estado de Nuevo León. En el cuadro 2 se muestran las colectas de maíz de color con su respectivo código para la identificación en este estudio.

##### **3.1.1. Incremento de la Semilla**

El material vegetal fue sembrado e incrementado en el campo experimental de la Unidad Académica la Ascensión de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, localizada en el municipio de Aramberri, Nuevo León, ubicada geográficamente en las coordenadas 24° 19' 16.71" L. N. y 99° 54' 58.06" L. O., a una altitud de 1960 msnm y con una precipitación pluvial anual promedio de 493.4 mm.

Cuadro 2. Colectas de variedades de maíz de color con su código.

Genotipo	Código
Morado Peña Nevada	MPN
Morado María Berrones	MMB
Morado La Siberia	MLSI
Morado La Sabanilla	MLSA
Morado La Soledad	MLSO
Morado La Ascensión	MLAS
Morado Puerto Piñones	MPP
Morado Refugio	MRE
Morado Tepozanes	MTE
Pinto Carpintería	PCA
Pinto La Siberia	PLSI
Pinto Tepozanes	PTE
Rojo Refugio de Cedillo	RRC
Amarillo	AM
Tremes Blanco	TRB

La siembra se realizó el 16 de junio del 2016, a una distancia entre surcos de 0.8 m y con separación entre plantas de 0.2 m, con una densidad de 62 500 plantas ha<sup>-1</sup>. Para incrementar las poblaciones, las inflorescencias femeninas se cubrieron con una bolsa de papel glassine antes de emerger los estigmas y se mantuvieron cubiertas hasta su emergencia.

Después de la aparición de los estigmas, se identificaron cinco plantas al azar, de la misma variedad, que sirvieran como donadoras de polen, se retiró la bolsa de los estigmas para recortarlos, asegurándose que no quedaran al descubierto y colocar el polen de la bolsa para realizar cruzamientos fraternales. La inflorescencia femenina ya polinizada, se cubrió con una bolsa de papel hasta la maduración del grano.

### **3.1.2. Cosecha**

La cosecha de las variedades de maíz de color, se realizó el 26 de diciembre del 2016, cuando la humedad del grano disminuyó entre el 12 y 16 %. El grano de maíz obtenido de cada variedad se agrupó y mezcló en una bolsa de papel (*Pool*); cada bolsa representó la semilla de una población de maíz nativo pigmentado.

### **3.1.3. Toma de muestras de grano**

La producción de semilla proveniente de cada uno de los maíces nativos, se obtuvo de al menos 30 plantas de cada genotipo, obteniéndose en promedio una bolsa con 500 g de semilla. Posteriormente se tomaron tres muestras de 100 g para los análisis de laboratorio. Las muestras se llevaron al Laboratorio de Química de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, ubicado en el Campus Ciencias Agropecuarias en el municipio de General Escobedo, Nuevo León, donde las variables evaluadas fueron: color del grano y harina, análisis proximales de harina, compuestos polifenólicos (compuestos polifenólicos totales, flavonoides totales, antocianinas totales, taninos condensados totales) cuantificación de compuestos polifenólicos y antocianinas por HPLC-DAD, y capacidad antioxidante en extractos libres y ligados.

### **3.1.3.1. Evaluación de parámetros de color**

#### **Color del grano**

El color del grano se determinó colocando 100 g de grano de cada genotipo en una caja Petri (4.73 cm x 1.5 cm) y se midió el color con un colorímetro (CR-20, Konica Minolta, Japón) con iluminante D/65 y un ángulo de 10°. Se obtuvieron las coordenadas cromáticas basado en escala CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) y CIELCH ( $L^*$ ,  $C^*$  y  $h$ ), realizando cinco mediciones por muestra. La expresión del color visual fue obtenida con el software en línea ColorHexa (<http://www.colorhexa.com/>).

#### **Color de harina**

Para hacer las determinaciones del color de la harina las muestras, se tomaron y molieron en un molino eléctrico 100 g del grano de cada genotipo y tamizaron hasta obtener un tamaño de partícula menor a 0.59 mm (malla 30). La medición de color se realizó llenando una caja Petri con la harina de cada genotipo y se determinó el color como en la metodología descrita para la medición de color de grano.

### **3.1.3.2. Evaluación de calidad nutricional**

El análisis de calidad nutricional de las harinas de los maíces nativos se realizó con los análisis proximales: humedad, ceniza, proteína, grasa, fibra cruda, carbohidratos y contenido de minerales.

## Humedad

El análisis de humedad se realizó mediante los métodos de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) por el método 925.09. Primeramente, una cápsula de aluminio se colocó en una estufa de secado a 100-110 °C por 24 h. Posteriormente, se transfirió a un desecador dejándose enfriar a temperatura ambiente por 15 min e inmediatamente en una balanza analítica se registró el peso; después, 1 g de muestra se agregó a la cápsula dejándola en la estufa a 100-110 °C por toda la noche. Finalmente, la cápsula se retiró de la estufa, se dejó enfriar en un desecador por 15 min y se registró el peso.

Cálculo:

$$\% \text{ de humedad} = \frac{\text{peso de capsula + peso de muestra} - \text{peso de cápsula con muestras seca}}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ de materia seca} = 100 - \% \text{ de humedad}$$

## Ceniza

El análisis de cenizas se realizó según la metodología descrita por la AOAC por el método 923.03. En un crisol, previamente pesado, se agregó 1 g de muestra, la cual se carbonizó colocando el crisol sobre una plancha eléctrica hasta que no hubo desprendimiento de humo. La muestra se calcinó en una mufla durante toda la noche a 550 °C. Finalmente, se sacó el crisol de la mufla y se dejó enfriar en un desecador por 15 min y se registró el peso. Los resultados se expresaron en concentración de ceniza por cada 100 g en base húmeda.

Cálculo:

$$\% \text{ de ceniza en base seca} = \frac{\text{peso del crisol con ceniza} - \text{peso del crisol}}{\text{gramos de muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ de ceniza en base húmeda} = \frac{\% \text{ de ceniza en base seca} \times \% \text{ de materia seca}}{100}$$

### **Proteína**

La determinación de proteína se realizó por el método Kjendalh descrito en la AOAC por el método 960.52. El procedimiento de preparación de la muestra consistió en pesar 1 g de muestra, 3 g de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) y 8 g de sulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) que actúan como catalizadores de la digestión, los cuales se colocaron en un matraz Kjendalh con seis perlas de vidrio e inmediatamente se agregaron 25 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. El matraz con la muestra preparada se calentó en una hornilla por 1 h y se rotó cada 15 min; después se agregaron 250 mL de agua destilada, 100 mL de NaOH al 40 % y 5 lentejas de zinc (actúan como catalizador), y se colocó en una hornilla para destilarlo. En otro matraz Erlenmeyer de 500 mL se colocaron 100 mL de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  al 4 % y 6 gotas e indicador mixto, y se colocó en la parte inferior del destilador. Finalmente, se destilaron y recolectaron 150 mL del matraz Kjendalh al matraz Erlenmeyer titulándose con el HCl 0.1 N hasta que se obtuvo una coloración violeta. Los resultados se expresaron en concentración de proteína por cada 100 g en base húmeda.

Cálculo:

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{\text{mL HCl gastados} \times \text{factor del HCl}}{\text{peso de la muestra}}$$

$$\% \text{ de proteína en base húmeda} = \% \text{ de nitrógeno} \times 6.25$$

$$\% \text{ de proteína en base húmeda} = \frac{\% \text{ de proteína en base seca} \times \% \text{ de materia seca}}{100}$$

### Grasa

La determinación de grasa se realizó según la metodología de la AOAC por el método 920.39. El procedimiento consistió en dejar los vasos de Goldfish en estufa de secado a 100-110 °C por toda la noche, hasta obtener peso constante registrándose el peso. Posteriormente por separado en un dedal se agregaron 3 g de muestra envuelto en papel higiénico y el dedal en un porta dedal, el cual se insertó en el aparato Goldfish. A cada uno de los vasos de Goldfish se agregaron 60 mL de éter etílico, se conectaron al aparato y dejaron en reflujo por 4 h. Después, se evaporó el éter de los vasos dejando sólo la grasa; inmediatamente después los vasos se introdujeron a la estufa de secado a 100-110 °C por 24 h. Finalmente, el peso se registró en una balanza analítica. Los resultados se expresaron en concentración de grasa por cada 100 g en base húmeda.

Cálculo:

$$\% \text{ de grasa en base seca} = \frac{\text{peso del vaso con extracto (grasa)} - \text{peso del vaso}}{\text{gramos de muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ de grasa en base húmeda} = \frac{\% \text{ de grasa en base seca} \times \% \text{ de materia seca}}{100}$$

## Fibra cruda

La metodología utilizada para la determinación de fibra cruda fue la descrita por la AOAC por el método 920.86 con ligeras variantes, la cual consistió en la utilización de una muestra desgrasada que fue sometida a una hidrólisis ácido-base. El procedimiento consistió en colocar la muestra desgrasada y seca en un vaso de Berzelius a la que se le agregaron 200 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 0.255 N y después se colocó en digestor LABCONCO, donde se dejó en reflujo por 30 min. La muestra digerida en ácido se filtró con ayuda de una malla agregando 600 mL de agua caliente para eliminar el pH ácido. El residuo de la muestra filtrada se vació totalmente al vaso Berzelius original y se agregaron 200 mL de NaOH al 0.313 N. Posteriormente, se colocó de nuevo en el digestor por 30 min, después se volvió a filtrar con la malla y 600 mL de agua para eliminar el pH alcalino. El residuo filtrado se vació en un crisol y se llevó a la estufa de secado a 100-110 °C por toda la noche. Finalmente, el crisol se enfrió en un desecador y el peso se registró en una balanza analítica. Los resultados se expresaron en concentración de fibra cruda por cada 100 g en base húmeda.

Cálculo:

$$\% \text{ de fibra cruda en base seca} = \frac{\text{peso seco del crisol con fibra} - \text{peso seco del crisol}}{\text{gramos de muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ de fibra cruda en base húmeda} = \frac{\% \text{ de fibra cruda en base seca} \times \% \text{ de materia seca}}{100}$$

## Carbohidratos

El extracto libre de nitrógeno que corresponde a los carbohidratos solubles o disponibles se calculó por diferencia utilizando la siguiente fórmula:

Cálculo:

$$\% \text{ carbohidratos} = 100 - \% \text{ humedad} - \% \text{ ceniza} - \% \text{ proteína} - \% \text{ grasa} - \% \text{ fibra cruda}$$

## Minerales

El contenido de minerales se determinó según la metodología descrita por Niño-Medina *et al.* (2014) con ligeras variantes. El método de obtención de la muestra consistió en colocar 1 g de harina en un crisol de porcelana e incinerarlo a 550 °C por 8 h. La muestra de ceniza obtenida se trató con 5 mL de HCl concentrado, se pasó a través de un filtro Whatman 1 y se diluyó con 100 mL. Los análisis de minerales se realizaron en un espectrofotómetro de absorción atómica Agilent technologies, modelo 240FS AA/SPS20 (Santa Clara, EUA). Los minerales de potasio (K), sodio (Na) fueron detectados por emisión a 589.6, y 769.6 nm, respectivamente, mientras que calcio (Ca), magnesio (Mg), fierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu) y manganeso (Mn) fueron detectados por absorción en las longitudes de onda de 422.7, 285.2, 248.3, 213.9, 324.7 y 279.5 nm, respectivamente. Las curvas de calibración se prepararon con soluciones estándar para cada mineral, para Na y K fueron de 0 a 100 mg L<sup>-1</sup>, Ca, Mg, Fe, y Mn de 0 a 10 mg L<sup>-1</sup>, Zn y Cu de 0 a 5 mg L<sup>-1</sup>. Los resultados se expresaron en miligramos por cada 100 g de materia seca (mg 100 g<sup>-1</sup>)

La determinación de fósforo (P) y azufre (S), se realizaron en un espectrofotómetro Jenway, 6705 UV/VIS (Staffordshire, RU). Para el P, a 1 mL de muestra se le agregó 1 mL de una solución de  $(\text{NH}_4)\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  al 5 % en  $\text{H}_2\text{SO}_4$  5 N, a los 5 min se adicionó 1 mL de hidroquinona al 0.5 % e inmediatamente 1 mL de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , por último, se agregaron 6 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  y después de 30 min se determinó absorbancia a 650 nm. Para determinar S, a 2.5 mL de muestra se agregaron 0.5 mL de HCl 3 N, seguido de 5 mL de  $\text{BaCl}_2$  al 10 % y se leyó a una longitud de onda de 405 nm. Las curvas de calibración de P y S se realizaron con estándar de P y de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  en concentraciones de 0 a 10 mg y 0 a 100 mg, respectivamente. Los resultados se expresaron en miligramos por cada 100 g de materia seca ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ).

### **3.1.3.3. Evaluación de calidad nutracéutica**

Para realizar la evaluación de la calidad nutracéutica de los genotipos nativos de maíz, se realizó la extracción de compuestos polifenólicos libres, ligados y antocianinas totales. En los extractos libres y ligados se determinó el contenido de compuestos polifenólicos totales, flavonoides totales, taninos condensados totales y en la extracción dirigida a antocianinas, se determinó el contenido de antocianinas totales. Para realizar la identificación y cuantificación de los compuestos polifenólicos en las muestras, los extractos de compuestos polifenólicos libres, ligados y antocianinas, se analizaron mediante cromatografía HPLC-DAD. El valor de capacidad antioxidante de las muestras se midió de los extractos de compuestos polifenólicos libres y ligados.

### **Extracción de compuestos polifenólicos libres**

La extracción de los compuestos polifenólicos libres consistió en el pesado de 200 mg de harina de maíz en un tubo de ensayo. Después, se agregaron 3 mL de metanol al 80 % (80:20 metanol:agua v/v) y se purgaron con flujo de nitrógeno por 30 s, se agitaron por 1 h protegidos de la luz en una plancha de calentamiento a 200 rpm. Finalmente se centrifugaron (centrífuga, Z400K, HERMLE, Labortechnik GmbH, Alemania) a 5750xg por 5 min, se recuperó el sobrenadante y almacenó a -20 °C protegido de la luz hasta su posterior análisis.

### **Extracción de compuestos polifenólicos ligados**

Los compuestos polifenólicos ligados se extrajeron agregando 9 mL de NaOH 2 M al tubo que contenían el residuo de los extractos libres, el tubo se purgó con flujo de nitrógeno por 30 s y agitó en una plancha de calentamiento a 200 rpm por 2 h protegidos de la luz. La reacción alcalina se detuvo agregando 2 mL HCl concentrado hasta que se disminuyó a un pH = 2. Después de detener la reacción, el extracto se pasó a un tubo corning de 50 mL, donde se agregaron 6 mL de dietil éter, se agitó de forma manual por 1 min y centrifugó a 5750xg por 5 min y se recolectó el sobrenadante en un tubo de ensayo con rosca, realizando el procedimiento dos veces, el sobrenadante recolectado se evaporó con flujo de nitrógeno. Finalmente, el residuo fue diluido en 3 mL de metanol (80%), el extracto se almacenó a -20 °C protegido de la luz hasta su posterior análisis.

### **Extracción de Antocianinas totales**

La extracción de antocianinas totales se realizó por la metodología descrita por Abdel Al y Hucl (1999) con ligeras variantes. Se pesaron 200 mg de harina de maíz en un tubo de ensayo, y se agregaron 10 mL de una solución de etanol acidificado (etanol y HCl 1 N, 85:15 v/v) ajustado a pH = 1 a 4 °C y se purgo con flujo de nitrógeno por 30 s. Después, se colocó en una plancha de agitación a 200 rpm por 30 min protegidas de la luz. Finalmente, se centrifugó a 7759xg por 15 min a 4 °C y se recuperó el sobrenadante.

### **Compuestos polifenólicos totales**

Los compuestos polifenólicos totales (CP) se cuantificaron por método de Folin-Ciocalteu, reportado por López-Contreras *et al.* (2015) con ligeras variantes; 200  $\mu\text{L}$  del extracto se agregaron a un tubo de ensayo y se diluyeron en 2600  $\mu\text{L}$  de agua destilada, después se agregaron 200  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin-Ciocalteu, seguido de 2000  $\mu\text{L}$  de una solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 7 %. Posteriormente se dejó reposar por 1.5 h en obscuridad. Finalmente, la absorbancia se midió a una longitud de onda de 750 nm. El contenido de CP se calculó en base a una curva de calibración de ácido gálico de 0 a 200  $\text{mg L}^{-1}$  y los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico por cada 100 g de materia seca ( $\text{mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$ ), como blanco fue usado metanol al 80 %.

### Flavonoides totales

Los flavonoides totales (FL) se cuantificaron de acuerdo con López-Contreras *et al.* (2015) con ligeras variantes; 200  $\mu\text{L}$  del extracto se diluyeron en 3500  $\mu\text{L}$  de agua destilada y se agregaron 150  $\mu\text{L}$  de una solución de  $\text{NaNO}_3$  al 5 %, dejándose reaccionar por 5 min. Después, se agregaron 150  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  al 10 % y al pasar 5 min más, se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  1 M. Por último, se dejó reaccionar por 15 min en oscuridad y la absorbancia se leyó a una longitud de onda de 510 nm. Los resultados se calcularon en base a una curva de calibración de catequina de 0 a 200  $\text{mg L}^{-1}$ . Los resultados se expresaron mg equivalentes de catequina por cada 100 g de materia seca ( $\text{mg EC } 100 \text{ g}^{-1}$ ).

### Antocianinas totales

Las antocianinas totales se cuantificaron midiendo la absorbancia del extracto de antocianinas a una longitud de onda de 535 nm y se calcularon mediante la fórmula:

Cálculo:

$$C = (A/\epsilon) \times (V/1000) \times PM \times (1/\text{peso muestra}) \times 10^6$$

Donde:

C = concentración de antocianinas ( $\text{mg kg}^{-1}$ )

A = absorbancia registrada

$\epsilon$  = coeficiente de extinción molar cianidina-3-glucósido ( $25,965 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ )

V = volumen total del extracto

PM = peso molecular de cianidina-3-glucósido (449 g M)

Los resultados se expresaron en mg equivalente de cianidina-3-glucósido por cada 100 g de materia seca ( $\text{mg EC3G } 100 \text{ g}^{-1}$ ), como blanco se usó etanol acidificado a  $\text{pH} = 1$ .

## Taninos condensados

Los taninos condensados totales (TC) se cuantificaron de acuerdo con la metodología mencionada por López-Contreras *et al.* (2015) con ligeras variantes. Una alícuota de 250  $\mu\text{L}$  del extracto se mezcló con 650  $\mu\text{L}$  de solución de vainillina al 1 % y 650  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 25 % ambos disueltos en metanol. Después, se dejó reaccionar por 25 min a 30 °C y se leyó absorbancia a una longitud de 500 nm. Los resultados se calcularon con base a una curva de calibración de catequina de 0 a 250 mg  $\text{L}^{-1}$  y se expresaron como mg equivalentes de catequina por cada 100 g de materia seca (mg EC 100  $\text{g}^{-1}$ ), como blanco se usó metanol al 80 %.

## Análisis cromatográfico (HPLC-DAD)

**Compuestos polifenólicos.** La cuantificación de compuestos polifenólicos se realizó siguiendo la metodología descrita por Santos *et al.* (2014) con ligeras variantes. Se utilizó un equipo HPLC Agilent Technologies 1260 Infinity (Santa Clara, CA, EUA) con un detector con arreglo de diodos (DAD) Agilent 1260 (G4212B) y bomba cuaternaria Agilent 1260 (G1311B), con una columna analítica Supelco Nucleosil® C-18 de fase de reversa (100 mm x 3 mm de i.d., 5  $\mu\text{m}$ ). La fase móvil consistió de agua acidificada al 1 % de HCl (solvente A) y metanol al 1 % de HCl (solvente B), con flujo de 0.7  $\text{mL min}^{-1}$  a 25 °C, con un tiempo de corrida de 60 min. El gradiente utilizado fue: 0 min, 95 % A; 4 min, 95 % A; 20 min, 73 % A; 50 min, 5 % A; 57 min, 99 % A; 58 min 99 % A; 60 min 95 % A. Se utilizó una inyección de 10  $\mu\text{L}$  con un tiempo de post-corrída de 5 min. Se obtuvo el espectro de compuestos polifenólicos en la región UV (200 a 400 nm). Las muestras de compuestos polifenólicos libres y ligados se

filtraron con un acrodisco de 0.25 mm y se almacenaron protegidos de la luz hasta su posterior análisis.

La curva de calibración se preparó con estándares externos (Sigma Aldrich) de ácido gálico, catequina, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido sinápico, y quercetina diluidos en metanol al 80 % en concentraciones de 0 a 160 mg L<sup>-1</sup> y los resultados se expresaron como miligramos por cada 100 g<sup>-1</sup> de muestra (mg 100 g<sup>-1</sup>) para cada compuesto (Cuadro 3).

**Antocianinas totales.** Para la extracción de antocianinas totales, se utilizó la metodología de Lao y Guisti (2016) con modificaciones. Se pesaron 200 mg de harina de maíz y se agregaron 2 mL de etanol acidificado con HCL 1 N a pH = 1 en relación 85:15 (v/v) a 4 °C, se purgaron con flujo de nitrógeno por 30 s y agitaron en una plancha a 200 rpm por 30 min a 4 °C. Después, el extracto se centrifugó a 7759xg por 15 min a 4 °C, el sobrenadante se recolectó y pasó a través de un cartucho C-18 Sep-Pack previamente activado. Finalmente, las antocianinas retenidas se extrajeron con agua acidificada 0.01 % HCl 6N y recolectaron en un vial para su análisis inmediato en HPLC-DAD con el fin de evitar la degradación de las antocianinas.

Cuadro 3. Estándares utilizados, valor de  $R^2$ , tiempo de retención (TR) y ecuaciones de predicción generado por el equipo HPLC-DAD para el análisis de compuestos polifenólicos.

Análisis	Estándar	TR (min)	$R^2$	Ecuación de predicción
Compuesto polifenólico	Ácido gálico	5.50 y 5.98	1.0	$y = 257.07x + 48.22$
	Catequina	17.75 y 17.95	1.0	$y = 59.93x - 12.04$
	Ácido clorogénico	20.03	0.99	$y = 137.89x - 381.17$
	Ácido cafeico	20.63	0.99	$y = 258.27x + 213.74$
	Ácido <i>p</i> -cumárico	25.26	0.98	$y = 329.44x + 2182.40$
	Ácido ferúlico	26.78	0.99	$y = 241.45x + 974.20$
	Ácido sinápico	27.37	0.99	$y = 122.72x + 98.40$
	Quercetina	35.11	0.99	$y = 98.34x - 411.69$
Antocianina	Cianidina-3-glucósido	14.35	0.99	$y = 325.38x - 218.47$

La cuantificación de cianidina-3-glucósido (C3G) se realizó con base en la metodología descrita por Lao y Guisti (2016) con ligeras modificaciones, en un equipo HPLC Agilent Technologies 1260 Infinity con un detector con arreglo de diodos (DAD) Agilent 1260 (G4212B) y bomba cuaternaria Agilent 1260 (G1311B), con una columna analítica ZORBAX Eclipse Plus C-18 de fase de reversa (100 mm x 3 mm de i.d., 5  $\mu\text{m}$ ). La fase móvil agua acidificada 4.5 % con ácido fórmico (solvente A) y acetonitrilo (solvente B). El gradiente utilizado fue: 0 a 1 min 97 % de A y 3 % de B; 1-51 min 60 % A y 40 % de B; 51-53 min 50 % A y 50 % B; 53-60 min 97 % A y 3 % B. El tiempo de post-corrída fue de 5 min. El flujo utilizado fue de 0.8 mL  $\text{min}^{-1}$  con una inyección de 50  $\mu\text{L}$ , la longitud de onda se monitoreo a 520 nm. Se obtuvo el espectro de los compuestos en la región UV (200 a 400 nm). El estándar externo de cianidina-3-glucósido (Sigma Aldrich) utilizado para la curva de calibración (Cuadro 3), se diluyó

en una solución de etanol acidificado con HCl 1 N y filtro con un cartucho C18 Sep-Pack previamente activado y se suspendió en agua acidificada 0.01 % HCl 6 N.

#### **3.1.3.4. Capacidad antioxidante**

La medición de capacidad antioxidante se realizó por los métodos DPPH (2,2-difenil-1 picrilhidrazil), ABTS (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) y FRAP (ferric reducing ability of plasma) con un espectrofotómetro (SP-830 Plus, Barnstead, Turner, EUA). La capacidad antioxidante ORAC se midió en un lector de microplacas (Synergy HTX Bio-tek, Inc, EUA).

#### **DPPH**

La metodología utilizada se basó en lo descrito por López-Contreras *et al.* (2015); para preparar la solución DPPH 60  $\mu\text{M}$  se pesaron 0.0024 mg del reactivo DPPH en un matraz de 100 mL, se agregó metanol al 80 % hasta obtener una absorbancia de 1 a una longitud de onda de 517 nm. El método consistió en mezclar una alícuota de 50  $\mu\text{L}$  de extracto con 1.5 mL de la solución DPPH. Después, se dejó en reposar por 30 min en oscuridad. Finalmente se midió la absorbancia de las muestras a 517 nm. Como blanco se utilizó metanol al 80 %.

#### **ABTS**

El radical ABTS se preparó con la mezcla de 1 mL del reactivo ABTS a 7.4 mM y 1 mL de  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  a 2.6 mM, reaccionando por 12 horas en oscuridad; la solución ABTS se preparó diluyendo el radical ABTS en metanol al 80 % hasta obtener una absorbancia de 1 a una longitud de onda de 734 nm. El método consistió en mezclar

una alícuota de 50  $\mu\text{L}$  del extracto con 1.5 mL de la solución ABTS y se dejó por 30 min en oscuridad. Posteriormente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 734 nm. Como blanco se usó metanol al 80 %.

### **FRAP**

La solución FRAP se preparó con 0.155 g de acetato de sodio trihidratado con 0.8 mL de ácido acético aforados en 50 mL de agua destilada, 0.0156 g de TPTZ en 5 mL de HCl 40 mM (0.073 mL de HCl al 34% aforados en 50 mL de agua) y 0.027 g de cloruro de hierro hexahidratado en 5 mL de agua. El procedimiento consistió en realizar la mezcla de los reactivos a 37 °C, agregando primeramente el TPTZ (10 mM) al acetato de sodio (300 mM) agitando ligeramente, posteriormente a esta mezcla se agregó lentamente el cloruro de hierro hexahidratado. El método consistió en mezclar 50  $\mu\text{L}$  del extracto con 1.5 mL del reactivo FRAP. Después, se incubó a 37 °C por 30 min alejado de la luz. Por último, se midió absorbancia a una longitud de onda de 593 nm. Para el ajuste a cero se utilizó el reactivo FRAP.

### **ORAC**

La capacidad antioxidante ORAC se realizó en una microplaca de 96 pozos con paredes oscuras y fondo claro (Costar, EEUU). El procedimiento consistió en depositar 225  $\mu\text{L}$  de agua destilada en los pocillos de alrededor de la placa como barrera térmica y en la primera hilera de la microplaca se agregó a cada pocillo 25  $\mu\text{L}$  de un blanco (buffer fosfatos pH 7.4), en la segunda hilera se colocó la curva de calibración Trolox (6.25, 12.5, 25, 50, 75, 100 y 125  $\mu\text{M}$ ) utilizando un pocillo para cada concentración (Cuadro 3). El análisis de las muestras se llevó a cabo agregando a cada pocillo 50  $\mu\text{L}$

de los extractos libres y 150  $\mu\text{L}$  para los extractos ligados. Se utilizó una temperatura de incubación de 37 °C. El procedimiento de lectura consistió en que el equipo lector dispensó a cada pozo de la placa 150  $\mu\text{L}$  de Fluoresceína 0.96  $\mu\text{M}$  y 50  $\mu\text{L}$  de 2,2-azobis, 2-amidino-propano dihidrocloro (AAPH) 95.8  $\mu\text{M}$ ; la reacción se inició una vez agregado el AAPH y se midió la pérdida de fluorescencia por un tiempo total de 70 min con lecturas cada 70 s. Las longitudes de onda fueron de excitación 485 y emisión 528 nm.

Las curvas de calibración se realizaron con Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) en concentraciones de 0 a 500  $\mu\text{mol L}^{-1}$  y los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de Trolox por 100 g de muestra seca ( $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$ ), esto para los métodos antioxidantes DPPH que presentó una  $R^2$  de 0.9926 con una ecuación de predicción  $y = -0.0005x + 0.9387$ , ABTS una  $R^2$  de 0.9927 con una ecuación de predicción  $y = -0.0001x + 0.9376$  y FRAP una  $R^2$  de 0.9967 con una ecuación de predicción  $y = 0.1733x + 0.0272$ .

Para el método ORAC la curva de calibración también se realizó por Trolox (6.25, 12.5, 25, 50, 75, 100 y 125  $\mu\text{M}$ ) y los cálculos se realizaron usando la ecuación de regresión lineal obtenida de la curva y el área bajo la curva de la pérdida de fluorescencia. El análisis presentó una  $R^2$  de 0.993 con una ecuación de predicción  $y = 0.244x + 3.56$ , y los resultados se expresaron en micro moles equivalente de Trolox por cada 100 g de materia seca ( $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$ ).

### 3.2. Bebidas de maíz blanco y morado

Se formularon y prepararon dos bebidas con harina de maíz Tremes Blanco y la segunda con maíz Morado La Soledad (Cuadro 4). La harina de maíz se obtuvo después de tostar 500 g de grano de cada genotipo en un comal de acero a  $145\pm 5$  °C por 30 min, la temperatura se monitoreo cada 5 min con un termómetro infrarrojo. Después, el grano tostado se molió y tamizó hasta obtener un tamaño de partícula de 0.59 mm (malla 30) y la harina de maíz obtenida se mezcló con el resto de los ingredientes en polvo. En otro recipiente con agua se agregó la vainilla líquida y finalmente se mezclaron todos los ingredientes. Las bebidas de genotipos de maíz blanco y morado se envasaron en frascos de vidrio y se sometieron a diferentes procesos de pasteurización 63 °C por 30 min, 73 °C por 15 min y 85 °C por 5 min (Cuadro 5).

Cuadro 4. Formulación de bebida de maíz.

Bebida	%
Harina de maíz	2.37
Stevia	0.14
Goma xantana	0.09
Carboximetil celulosa (CMC)	0.05
Azúcar estándar	1.90
Canela en polvo	0.14
Extracto de vainilla	0.47
Agua	94.83
Total	100.00

Cuadro 5. Procesos de pasteurización de bebidas de maíz blanco y morado.

Genotipo	Código	Proceso de pasteurización
Blanco	BSP	Bebida de maíz blanco sin pasteurizar (control)
	B63	Bebida de maíz blanco pasteurizada 63 °C por 30 min
	B73	Bebida de maíz blanco pasteurizada 73 °C por 15 min
	B85	Bebida de maíz blanco pasteurizada 85 °C por 5 min
Morado	MSP	Bebida de maíz morado sin pasteurizar (control)
	M63	Bebida de maíz morado pasteurizada 63 °C por 30 min
	M73	Bebida de maíz morado pasteurizada 73 °C por 15 min
	M85	Bebida de maíz morado pasteurizada 85 °C por 5 min

### 3.2.1. Evaluación de parámetros de color

Para la medición del color del grano crudo (GC), grano tostado (GT), harina de grano crudo (HC) y harina de grano tostado (HG) y bebidas de maíz se obtuvieron los valores de las coordenadas cromáticas CIELAB Y CILECH  $L$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  y  $h$ , con el colorímetro (CR-20, Konica Minolta, Japón), descrito anteriormente en los genotipos nativos de maíz.

### 3.2.2. Evaluación de calidad de bebidas de maíz

La evaluación del análisis de calidad de las bebidas de maíz se realizó mediante el análisis de los parámetros fisicoquímicos y análisis microbiológicos de las bebidas de maíz sometidas a diferentes procesos de pasteurización.

### **3.2.2.1. Parámetros fisicoquímicos**

Los parámetros fisicoquímicos de las bebidas de maíz se evaluaron con los valores de pH, contenido de sólidos totales (°Brix) y la determinación de la acidez titulable.

#### **pH**

El pH de las bebidas de maíz blanco y morado se midió con un potenciómetro (Corning, 440) el procedimiento consistió en colocar el electrodo dentro de 20 mL de la bebida de maíz y después de un minuto cuando se estabilizó la lectura se tomó el dato proporcionado en la pantalla.

#### **Contenido de sólidos solubles totales (°Brix)**

Los sólidos solubles totales (reportados como grados Brix) se midieron de forma manual agregando una gota de la bebida en un refractómetro portátil (Master-M 2313, ATAGO, Japón).

#### **Acidez titulable**

La acidez titulable de la bebida de maíz se determinó agregando 2 mL de la bebida en una probeta y se aforó a 10 mL con 8 mL de agua destilada. Después, se agregaron 5 gotas de fenolftaleína como indicador. Finalmente, se tituló con NaOH (0.1 N) hasta obtener una coloración rosa. La acidez se expresó en porcentaje de ácido málico (Akonor *et al.*, 2014).

Cálculo:

$$\% At = \frac{\text{mL gastados de NaOH} * N * \text{meq}}{\text{mL de bebida analizados}} * 100$$

Donde:

N = normalidad del NaOH

Meq = miliequivalentes del ácido málico (0.067)

### 3.2.2.2. Análisis microbiológicos

Los análisis microbiológicos de la bebida se realizaron con base a lo descrito por Suárez-Jacobo *et al.* (2010) con diluciones en agua peptona, para la obtención de conteos decimales. Los mesófilos aerobios fueron enumerados en agar PCA (Plate Count Agar), incubadas a 37 °C por 48 h. Los lactobacilos en agar MRS (Man-Rogosa-Sharpe), incubadas a 37 °C por 48 h con inyección del 5 % de CO<sub>2</sub>. Las enterobacterias en agar VBRG (“Violet Red Bile Glucose”), a 37 °C por 24 h. Los hongos y levaduras en agar PDA con ácido tartárico al 10% (Potato Dextrose Agar) a 25 °C por 5 d. Se realizó la prueba de esporulación llevando la bebida a calentamiento extremo de 95 °C y después se realizó un choque térmico en agua con hielo a 0 °C, la muestra se incubo en agar PCA (Plate Count Agar), a 37 °C por 48 h. Los resultados se expresaron en unidades logarítmicas de unidades formadoras de colonia por mililitro de bebida (log UFC mL<sup>-1</sup>).

### 3.2.2.3. Evaluación de calidad nutricional

La evaluación nutricional de las bebidas de maíz se realizó analizando el contenido de minerales, descrito anteriormente en los genotipos de maíz. Los resultados se expresaron en miligramos por litro de bebida (mg L<sup>-1</sup>).

#### **3.2.2.4. Evaluación de calidad nutracéutica**

La evaluación nutracéutica de las bebidas de maíz se determinó con el contenido de compuestos polifenólicos, midiendo el contenido de compuestos polifenólicos totales, flavonoides totales, antocianinas totales y taninos condensados totales; se identificó y cuantificó por HPLC-DAD el contenido de compuestos polifenólicos (ácidos fenólicos, catequina, quercetina y antocianinas).

#### **Extracción dirigida a compuestos polifenólicos**

Debido a la viscosidad de la muestra se realizó una extracción dirigida a compuestos polifenólicos siguiendo la metodología descrita en extracción de compuestos polifenólicos ligados, con ligeras modificaciones. Las modificaciones consistieron en agregar 10 mL de hidróxido de sodio 2 M a 5 mL de la bebida y después de suspendió en 1 mL de metanol al 80 %. Los extractos obtenidos se filtraron con un acrodisco de 0.25 mm de diámetro con un tamaño de poro de 45  $\mu\text{m}$  y se almacenaron protegidos de la luz hasta su posterior análisis.

#### **Cuantificación de compuestos polifenólicos**

Las condiciones de análisis de compuestos polifenólicos de las bebidas de maíz se describieron en el apartado de los genotipos de maíz, sólo se realizaron ligeras modificaciones en la concentración y tipo de ácido; el ácido clorhídrico se sustituyó por ácido acético en concentración del 0.1 % en ambas fases móviles. Los resultados se expresaron en mg por litro de bebida ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

### **3.2.2.5. Evaluación de capacidad antioxidante**

La capacidad antioxidante se midió por DPPH, ABTS y FRAP en la bebida de maíz. Las pruebas se describieron anteriormente en el análisis de los genotipos de maíz. Los resultados se expresaron en la forma correspondiente en mg por litro de bebida ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

### **3.2.2.6. Análisis sensorial**

El análisis sensorial de la bebida formulada se llevó a cabo con panel de 50 jueces no entrenados mediante una evaluación sensorial afectiva de comparación pareada por preferencia, para la selección de la fórmula de mayor preferencia (García y Pacheco-Delahaye, 2010). Los datos obtenidos se analizaron con una prueba de Chi-cuadrada ( $X^2$ ) para análisis no paramétricos con el Software FIZZ (Biosyntemess, Coutenon, Francia) (Olivas-Gastélum *et al.*, 2009; Tao *et al.*, 2012).

## **3.3. Análisis estadístico**

Las muestras analizadas de los 15 genotipos de maíz en el análisis de color consistieron de cinco repeticiones y tres repeticiones para el análisis de compuestos polifenólicos, proximal, minerales y cuantificación de compuestos polifenólicos por HPLC-DAD. En el caso de las muestras de bebidas de maíz blanco y morado se realizaron cinco repeticiones. Todos los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y las medias se sometieron a la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) analizadas mediante el paquete estadístico Minitab (Versión 17). En las bebidas de maíz los resultados del análisis de varianza indicaron que las bebidas fueron muy diferentes entre sí, por lo que se realizó un análisis de varianza (ANOVA)

de un factor de forma independiente para cada tipo de bebida y las medias sometidas a una prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) para encontrar diferencia estadística entre tratamiento.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Genotipos de maíz de color
















#### 4.1.1. Coordenadas cromáticas del grano

Los valores de luminosidad ( $L^*$ ) en los granos variaron de 25.13 a 63.64 (Cuadro 6). En los maíces de color morado osciló de 25.13 a 42.75. En los pintos de 34.71 a 51.26. El valor de luminosidad en el maíz de color rojo fue 38.22, mientras que en el maíz amarillo fue 54.80, en el maíz de color blanco fue 63.64. El análisis de varianza mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre variedades.

Los valores de cromaticidad ( $C^*$ ) de las variedades de maíz también mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) con valores de 2.41 a 33.58. Los maíces de color morado oscilaron de 2.41 a 22.17, en los maíces pintos variaron de 5.29 a 10.62, el maíz de color rojo 16.54, el de maíz amarillo fue 33.58 y en el maíz blanco 24.23.

Para los valores de tono ( $h$ ) en los maíces se observaron variaciones de 14.36 a 359.19. En los maíces de color morado predominaron las mayores variaciones de  $h$ , siendo el más bajo de 14.36 y alto de 359.19. En los maíces pintos fue de 45.24 a 72.05, en el maíz de color rojo 23.78, en el maíz amarillo 77.71 y en el maíz de color blanco 85.71. El análisis de varianza realizado a los valores de  $h$  mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre los maíces.

Cuadro 6. Color visual y coordenadas cromáticas de los granos de genotipos de maíz de color.
















Genotipo	Color visual	Coordenadas cromáticas		
		$L^*$	$C^*$	$h$
MPN		34.52±0.35 <sup>ef</sup>	22.17±0.21 <sup>b</sup>	15.20±0.24 <sup>hi</sup>
MMB		31.67±0.80 <sup>fg</sup>	11.14±2.40 <sup>de</sup>	26.49±2.52 <sup>g</sup>
MLSI		40.66±0.81 <sup>cd</sup>	4.68±0.77 <sup>gh</sup>	25.22±9.14 <sup>g</sup>
MLSO		42.51±1.71 <sup>c</sup>	6.12±1.39 <sup>fg</sup>	359.19±0.81 <sup>a</sup>
MLSA		25.13±1.16 <sup>i</sup>	3.63±0.32 <sup>gh</sup>	67.76±4.80 <sup>d</sup>
MLAS		29.60±0.97 <sup>gh</sup>	14.00±0.25 <sup>cd</sup>	38.35±1.28 <sup>ef</sup>
MPP		42.75±0.17 <sup>c</sup>	8.80±0.42 <sup>ef</sup>	29.81±7.77 <sup>fg</sup>
MRE		31.93±2.56 <sup>fg</sup>	4.34±1.61 <sup>gh</sup>	14.36±4.89 <sup>i</sup>
MTE		25.83±0.74 <sup>hi</sup>	2.41±0.16 <sup>h</sup>	352.90±1.75 <sup>a</sup>
PCA		51.26±0.99 <sup>b</sup>	8.40±0.26 <sup>ef</sup>	45.24±1.55 <sup>e</sup>
PLSI		37.47±0.57 <sup>de</sup>	10.62±0.41 <sup>e</sup>	45.58±0.98 <sup>e</sup>
PTE		34.71±4.80 <sup>ef</sup>	5.29±0.98 <sup>gh</sup>	72.05±7.33 <sup>cd</sup>
RRC		38.22±1.82 <sup>de</sup>	16.54±1.92 <sup>c</sup>	23.78±1.11 <sup>gh</sup>
AM		54.80±2.44 <sup>b</sup>	33.58±3.43 <sup>a</sup>	77.71±0.28 <sup>bc</sup>
TRB		63.64±1.77 <sup>a</sup>	24.23±0.51 <sup>b</sup>	85.71±0.48 <sup>b</sup>

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ), Media  $\pm$  desviación estándar.

#### 4.1.2. Coordenadas cromáticas de la harina

Los análisis de coordenadas cromáticas en la harina de los genotipos de maíz de color se basaron en lo reportado por Yang y Zahi (2010) y Salinas-Moreno *et al.* (2012b), los cuales mostraron valores en  $L^*$  de 72.85 a 88.78 (Cuadro 7). Los valores en maíces morados variaron de 72.85 a 79.64, en maíces pintos 81.03 a 84.50, en el maíz de color rojo 78.34, el valor de  $h$  en el maíz amarillo fue de 85.45 y para la variedad de maíz blanco 87.05. El análisis de varianza realizado a los valores de  $L^*$  de las variedades de maíz de color mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

Cuadro 7. Color visual y coordenadas cromáticas de la harina de genotipos de maíz de color.

Genotipo	Color visual	$L^*$	$C^*$	$h$
		Coordenadas cromáticas		
MPN		77.30±0.65 <sup>fg</sup>	8.23±0.18 <sup>c</sup>	27.31±1.71 <sup>i</sup>
MMB		78.89±0.87 <sup>ef</sup>	6.24±0.24 <sup>e</sup>	37.40±0.87 <sup>g</sup>
MLSI		79.64±0.41 <sup>de</sup>	4.64±0.39 <sup>f</sup>	64.40±2.82 <sup>c</sup>
MLSO		79.00±0.20 <sup>ef</sup>	3.78±0.08 <sup>g</sup>	19.63±3.36 <sup>j</sup>
MLSA		74.31±1.39 <sup>h</sup>	5.26±0.32 <sup>f</sup>	40.73±1.41 <sup>f</sup>
MLAS		76.18±0.50 <sup>g</sup>	7.79±0.05 <sup>cd</sup>	33.92±0.75 <sup>gh</sup>
MPP		73.28±1.57 <sup>h</sup>	4.88±0.29 <sup>f</sup>	32.08±1.72 <sup>h</sup>
MRE		72.85±0.87 <sup>h</sup>	5.28±0.38 <sup>f</sup>	46.80±1.88 <sup>e</sup>
MTE		73.94±1.72 <sup>h</sup>	3.24±0.23 <sup>g</sup>	56.07±2.15 <sup>d</sup>
PCA		82.05±0.26 <sup>c</sup>	7.18±0.18 <sup>d</sup>	65.41±0.71 <sup>c</sup>
PLSI		81.03±0.37 <sup>cd</sup>	8.32±0.17 <sup>c</sup>	79.38±0.29 <sup>b</sup>
PTE		84.50±0.31 <sup>b</sup>	8.33±0.36 <sup>c</sup>	80.22±0.82 <sup>b</sup>
RRC		78.34±0.22 <sup>ef</sup>	8.24±0.14 <sup>c</sup>	36.01±0.79 <sup>g</sup>
AM		85.45±0.37 <sup>b</sup>	32.10±0.44 <sup>a</sup>	85.16±0.07 <sup>a</sup>
TRB		88.78±0.13 <sup>a</sup>	12.41±0.57 <sup>b</sup>	87.05±2.29 <sup>a</sup>

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ), Media  $\pm$  desviación estándar.

En cuanto a la  $C^*$  de la harina, el análisis de varianza también mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre variedades con valores que oscilaron de 3.24 a 32.10. Los valores en los maíces morados fueron de 3.24 a 8.23, en los pintos de 7.18 a 8.33, en la variedad de maíz rojo 8.24 y en el maíz de color blanco fue 12.41.

Para  $h$  en harina, los valores variaron de 19.63 a 87.05. En los maíces morados los valores fueron de 19.63 a 64.40, en los maíces pintos fueron de 65.41 a 80.22, en el maíz de color rojo 36.01, mientras que en el maíz amarillo 85.16 y en el maíz blanco 87.05. El análisis de varianza mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre los maíces.

### **4.1.3. Calidad nutricional**

#### **4.1.3.1. Análisis proximal**

##### **Humedad**

Los resultados de humedad en el grano de las variedades de maíz de color realizados por el método descrito por la AOAC (925.09), mostraron que la humedad varió de 7.98 a 9.67 % (Cuadro 8). En los maíces morados los valores fluctuaron entre 7.98 y 8.47 para MTE y MMB, respectivamente, en los maíces pintos los valores fluctuaron entre 8.01 y 8.64 para PCA y PTE, respectivamente, para el rojo 9.04, amarillo 9.67 y en el blanco 9.11. El análisis de varianza no mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre genotipos.

##### **Ceniza**

Los análisis de ceniza mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre variedades, los cuales se realizaron con base al método descrito por la AOAC (923.03). Los porcentajes de ceniza en las variedades de maíz variaron de 1.00 a 1.46 % (Cuadro 8). En los morados el menor valor fue para MPP con 1.19 y la mayor para MRE con 1.46, en los maíces pintos el menor fue para PTE con 1.16 y la mayor PLSI con 1.21, para el rojo el valor fue de 1.10, en amarillo 1.00 y en el maíz de color blanco 1.02.

## **Proteína**

Los valores de proteína encontrados en las variedades de maíz de color con base al método reportado por la AOAC (960.52) mostraron valores que variaron de 9.72 a 12.57 % (Cuadro 8). En los maíces morados el menor valor fue en el MLSO con 10.16 y el mayor en MLSA con 12.31 %, en los maíces pintos el mayor fue para PLSI con 11.44 y la mayor en PCA con 11.66 %, en el maíz de color rojo 12.57, en amarillo 12.12 y en el blanco fue de 9.72 %. El análisis de varianza mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre variedades.

## **Grasa**

Las variedades de maíz de color mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) para los valores de grasa. Los análisis de grasa se llevaron a cabo con base en el método de la AOAC (920.39) con valores que oscilaron de 3.38 a 6.15 % (Cuadro 8). En los maíces morados la menor fue para MLSA con 3.50 y la mayor en MRE con 5.40, en los maíces pintos la menor en PCA con un valor de 3.38 y la mayor en PLSI con 4.50, para el maíz rojo el valor fue de 4.52, en el amarillo 3.67 y en blanco 6.15 %.

## **Fibra Cruda**

La determinación de fibra cruda para las muestras de maíz se basó en el método de la AOAC (920.86), el cual consistió en una hidrólisis ácido-base. Los resultados obtenidos en las muestras variaron de 1.20 a 1.76 % (Cuadro 8). En los maíces morados el menor valor fue para MMB con 1.20 y la mayor en MLSA con 1.63, en los maíces pintos la menor fue para PTE con 1.29 y la mayor en PCA con 1.73, en el rojo

1.41, en amarillo 1.76 y en blanco 1.69 %. El análisis de varianza mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre las muestras.

## **Carbohidratos**

Se mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) para carbohidratos entre los genotipos, los cuales se realizaron mediante el cálculo descrito por Niño-Medina *et al.* (2017). Los valores fluctuaron entre 71.30 al 74.88 % (Cuadro 7). En los maíces morados el menor valor fue en MRE con 71.30 y el mayor en MLSO con 74.88, para los maíces pintos el menor fue para PTE con 73.19 y el mayor en PCA con 74.05, mientras que el maíz de color rojo obtuvo un valor de 71.36, el amarillo de 71.77 y blanco 72.31 %.

### **4.1.3.2. Minerales**

#### **Macroelementos**

El contenido de los macroelementos magnesio (Mg), calcio (Ca), potasio (K), sodio (Na), fósforo (P) y azufre (S) (Cuadro 8) se realizaron en base a la metodología descrita por Niño-Medina *et al.* (2014) con ligeras variantes.

**Magnesio (Mg).** Los resultados obtenidos del contenido de Mg en las variedades de maíz de color variaron de 116.24 a 146.75 mg 100 g<sup>-1</sup> (Cuadro 9). En los maíces morados el menor valor se presentó en el MPP con 126.86 y el mayor en MLSI con 146.75 y en los maíces pintos el menor fue para PCA con 116.24 y el mayor en PLSI con 146.27. El maíz rojo obtuvo un valor de 138.46, el amarillo de 134.58 y el blanco de 118.07 mg 100 g<sup>-1</sup>. El análisis de varianza mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre las variedades.

Cuadro 8. Análisis proximal en genotipos de maíz de color.

Genotipo	Humedad	Ceniza	Proteína	Grasa	Fibra cruda	Carbohidratos
	%					
MPN	8.46±0.08 <sup>ab</sup>	1.39±0.11 <sup>a</sup>	10.50±0.01 <sup>fgh</sup>	4.43±0.30 <sup>d</sup>	1.26±0.01 <sup>e</sup>	73.96±0.31 <sup>ab</sup>
MMB	8.47±0.67 <sup>ab</sup>	1.17±0.01 <sup>ab</sup>	11.29±0.19 <sup>def</sup>	4.01±0.13 <sup>def</sup>	1.20±0.03 <sup>e</sup>	73.86±0.58 <sup>ab</sup>
MLSI	8.19±0.16 <sup>b</sup>	1.22±0.05 <sup>ab</sup>	11.49±0.10 <sup>bcde</sup>	4.58±0.09 <sup>cd</sup>	1.30±0.01 <sup>de</sup>	73.21±0.02 <sup>bcd</sup>
MLSA	8.23±0.19 <sup>b</sup>	1.26±0.01 <sup>ab</sup>	12.31±0.23 <sup>ab</sup>	3.50±0.21 <sup>fg</sup>	1.63±0.17 <sup>abcd</sup>	73.08±0.41 <sup>bcde</sup>
MLSO	8.23±0.11 <sup>b</sup>	1.24±0.02 <sup>ab</sup>	10.16±0.17 <sup>gh</sup>	4.05±0.03 <sup>def</sup>	1.43±0.04 <sup>abcde</sup>	74.88±0.04 <sup>a</sup>
MLAS	8.20±0.09 <sup>b</sup>	1.27±0.01 <sup>ab</sup>	10.76±0.10 <sup>efg</sup>	4.33±0.27 <sup>d</sup>	1.37±0.20 <sup>bcde</sup>	74.06±0.28 <sup>ab</sup>
MPP	8.41±0.21 <sup>b</sup>	1.19±0.10 <sup>ab</sup>	10.58±0.04 <sup>fg</sup>	4.54±0.18 <sup>cd</sup>	1.53±0.05 <sup>abcde</sup>	73.74±0.37 <sup>abc</sup>
MRE	8.36±0.31 <sup>b</sup>	1.46±0.02 <sup>a</sup>	11.94±0.33 <sup>abcd</sup>	5.40±0.03 <sup>b</sup>	1.54±0.02 <sup>abcde</sup>	71.30±0.09 <sup>f</sup>
MTE	7.98±0.07 <sup>b</sup>	1.39±0.01 <sup>a</sup>	11.79±0.15 <sup>abcd</sup>	5.07±0.06 <sup>bc</sup>	1.30±0.08 <sup>de</sup>	72.47±0.08 <sup>cdef</sup>
PCA	8.01±0.77 <sup>b</sup>	1.17±0.04 <sup>ab</sup>	11.66±0.19 <sup>bcd</sup>	3.38±0.21 <sup>g</sup>	1.73±0.10 <sup>ab</sup>	74.05±0.81 <sup>ab</sup>
PLSI	8.27±0.01 <sup>b</sup>	1.21±0.14 <sup>ab</sup>	11.44±0.22 <sup>cde</sup>	4.50±0.04 <sup>cd</sup>	1.37±0.01 <sup>cde</sup>	73.20±0.39 <sup>bcd</sup>
PTE	8.64±0.01 <sup>ab</sup>	1.16±0.04 <sup>ab</sup>	11.53±0.21 <sup>bcde</sup>	4.20±0.02 <sup>de</sup>	1.29±0.06 <sup>de</sup>	73.19±0.22 <sup>bcd</sup>
RRC	9.04±0.09 <sup>ab</sup>	1.10±0.22 <sup>ab</sup>	12.57±0.25 <sup>a</sup>	4.52±0.12 <sup>cd</sup>	1.41±0.09 <sup>abcde</sup>	71.36±0.16 <sup>f</sup>
AM	9.67±0.05 <sup>a</sup>	1.00±0.15 <sup>b</sup>	12.12±0.32 <sup>abc</sup>	3.67±0.04 <sup>efg</sup>	1.76±0.14 <sup>a</sup>	71.77±0.02 <sup>ef</sup>
TRB	9.11±0.33 <sup>ab</sup>	1.02±0.08 <sup>b</sup>	9.72±0.25 <sup>h</sup>	6.15±0.02 <sup>a</sup>	1.69±0.03 <sup>abc</sup>	72.31±0.01 <sup>def</sup>

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar.

**Calcio (Ca).** Los resultados del análisis de varianza para el contenido de Ca mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre las variedades con valores que fluctuaron entre 24.58 y 32.63 mg 100 g<sup>-1</sup>. En los maíces morados el menor valor se presentó en MMB con 24.58 y el mayor en MPN con 29.17 y en los maíces pintos el menor fue en el PTE con 29.73 y el mayor en PCA con 30.45. El valor del maíz rojo fue de 29.08, en el amarillo de 28.49 y en el blanco de 31.62 mg 100 g<sup>-1</sup>.

**Potasio (K).** Los valores de K en las variedades de maíz oscilaron de 314.20 a 397.18 mg 100 g<sup>-1</sup>. En los maíces morados el menor fue en el MLAS con 325.72 y el mayor en MLSI con 397.18 y en los maíces pintos el menor valor fue para PTE con 325.58 y el mayor 355.09. los maíces en el rojo, amarillo y blanco obtuvieron valores de 314.20, 338.65, 321.85 mg 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente. El análisis de varianza mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre los maíces.

**Sodio (Na).** Los valores del contenido de Na en las variedades de maíz pigmentado mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ), los valores variaron de 24.08 a 70.3 mg 100 g<sup>-1</sup>. En los maíces morados el menor valor fue para MRE 41.19 y el mayor para MLAS 70.30, en los maíces pintos el menor fue en PCA con 25.77 y el mayor en PLSI con 53.37, en el de color rojo fue de 28.62, en el amarillo de 28.01 y en el blanco de 24.08 mg 100 g<sup>-1</sup>.

Cuadro 9. Análisis de macroelementos en genotipos de maíz de color.

Genotipo	Magnesio (Mg)	Calcio (Ca)	Potasio (K)	Sodio (Na)	Fósforo (P)	Azufre (S)
	mg 100 g <sup>-1</sup>					
MPN	145.97±2.13 <sup>a</sup>	29.17±1.12 <sup>bc</sup>	348.40±1.27 <sup>bc</sup>	48.35±3.17 <sup>b</sup>	368.17±12.14 <sup>i</sup>	2.06±0.09 <sup>abc</sup>
MMB	136.52±1.13 <sup>bc</sup>	24.58±0.12 <sup>f</sup>	339.14±1.91 <sup>cd</sup>	45.75±0.18 <sup>bc</sup>	334.40±20.50 <sup>i</sup>	2.29±0.01 <sup>a</sup>
MLSI	146.75±0.29 <sup>a</sup>	32.63±1.69 <sup>a</sup>	397.18±0.21 <sup>a</sup>	50.42±1.52 <sup>b</sup>	499.00±15.60 <sup>fg</sup>	2.08±0.07 <sup>abc</sup>
MLSA	130.05 ±0.53 <sup>de</sup>	28.10±0.21 <sup>cd</sup>	350.34±4.93 <sup>b</sup>	48.30±3.13 <sup>b</sup>	419.84±3.87 <sup>h</sup>	1.98±0.11 <sup>bc</sup>
MLSO	128.95±0.19 <sup>de</sup>	25.04±0.15 <sup>ef</sup>	326.66±4.54 <sup>ef</sup>	42.96±2.32 <sup>bcde</sup>	361.30±24.50 <sup>i</sup>	1.99±0.04 <sup>bc</sup>
MLAS	132.72±0.60 <sup>cd</sup>	25.25±0.30 <sup>def</sup>	325.72±3.60 <sup>ef</sup>	70.30±14.50 <sup>a</sup>	373.00±14.70 <sup>i</sup>	2.13±0.09 <sup>abc</sup>
MPP	126.86±0.74 <sup>e</sup>	27.76±0.37 <sup>cde</sup>	326.18±0.16 <sup>ef</sup>	42.75±4.90 <sup>bcde</sup>	463.75±1.02 <sup>g</sup>	1.91±0.02 <sup>c</sup>
MRE	145.39±0.40 <sup>a</sup>	27.91±0.91 <sup>cde</sup>	358.56±1.35 <sup>b</sup>	41.19±2.36 <sup>bcdef</sup>	568.41±0.69 <sup>cd</sup>	2.00±0.09 <sup>bc</sup>
MTE	138.31±0.32 <sup>b</sup>	28.50±0.37 <sup>c</sup>	355.09±5.45 <sup>b</sup>	42.32±0.87 <sup>bcde</sup>	524.59±3.30 <sup>ef</sup>	2.15±0.06 <sup>abc</sup>
PCA	116.24±0.68 <sup>g</sup>	30.45±0.14 <sup>abc</sup>	333.07±2.94 <sup>de</sup>	25.77±0.15 <sup>ef</sup>	549.82±3.83 <sup>de</sup>	2.11±0.02 <sup>abc</sup>
PLSI	146.27±0.714 <sup>a</sup>	30.31±0.06 <sup>abc</sup>	355.45±0.88 <sup>b</sup>	53.37±0.83 <sup>ab</sup>	719.99±4.81 <sup>a</sup>	2.01±0.02 <sup>bc</sup>
PTE	122.39±0.106 <sup>f</sup>	29.73±1.45 <sup>abc</sup>	325.58±2.10 <sup>ef</sup>	43.62±1.22 <sup>bcd</sup>	613.72±4.72 <sup>b</sup>	2.11±0.02 <sup>abc</sup>
RRC	138.46±0.446 <sup>b</sup>	29.08±1.0 <sup>bc</sup>	314.20±0.40 <sup>g</sup>	28.62±2.63 <sup>cdef</sup>	619.71±2.34 <sup>b</sup>	2.21±0.02 <sup>ab</sup>
AM	134.58±2.20 <sup>bc</sup>	28.49±0.20 <sup>c</sup>	338.65±2.95 <sup>cd</sup>	28.01±3.13 <sup>def</sup>	596.15±4.74 <sup>bc</sup>	2.18±0.02 <sup>ab</sup>
TRB	118.07±0.94 <sup>g</sup>	31.62±0.23 <sup>ab</sup>	321.85±0.12 <sup>fg</sup>	24.08±0.04 <sup>f</sup>	416.35±0.95 <sup>h</sup>	2.18±0.02 <sup>ab</sup>

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar.

**Fósforo (P).** Los resultados del análisis de P entre genotipos de maíz mostraron valores que fluctuaron entre 334.40 y 719.99 mg 100 g<sup>-1</sup>. En los maíces de color morado el menor valor se observó en el MMB con 334.40 y el mayor fue para MRE con 568.41, en los maíces pintos el menor fue para PCA con 549.82 y el mayor para PLSI con 719.99, en el rojo de 619.71, en el amarillo 596.15, en el blanco 416.35 mg 100 g<sup>-1</sup>. El análisis de varianza mostró que hubo diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre los valores de P de los genotipos de maíz.

**Azufre (S).** Entre las variedades de maíz se encontró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) en cuanto a los valores del contenido de S. El S varió de 1.91 a 2.21 mg 100 g<sup>-1</sup>; en los maíces morados el menor valor se observó en el MPP con 1.91 y el mayor en MTE con 2.15, los maíces pintos el menor fue para PLSI con 2.01 y el mayor fue en PTE y PCA ambos con el valor de 2.11, el rojo 2.21, el amarillo 2.18 y el maíz de color blanco 2.18 mg 100 g<sup>-1</sup>.

### **Microelementos**

El contenido de los microelementos cobre (Cu), hierro (Fe), zinc (Zn) y manganeso (Mg) (Cuadro 10) se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Niño-medina *et al.* (2014) con ligeras variantes.

**Cobre (Cu).** El Cu en las variedades de maíz de color varió de 0.20 a 0.53 mg 100 g<sup>-1</sup> (Cuadro 10). En los maíces de color morado el menor valor fue en MPP con 0.20 y la mayor en MLSI con 0.53, en los maíces pintos el menor valor fue para PTE con 0.25 y el mayor para PLSI con 0.49, mientras que para el rojo 0.21, amarillo 0.24

y el blanco 0.36 mg 100 g<sup>-1</sup>. El análisis de varianza mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre los genotipos de maíz.

**Fierro (Fe).** En las variedades de maíz de color se encontró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) en cuanto a los valores de contenido de Fe. Los valores de Fe variaron de 0.77 a 2.53 mg 100 g<sup>-1</sup>. En los maíces de color morado el menor valor fue para MPP con 0.77 y el mayor para MLSI con 2.03. En los maíces pintos el menor valor fue para PLSI con 1.32 y el mayor para PTE con 2.20, en el rojo 1.34, en el amarillo 1.47 y en el maíz blanco 2.53 mg 100 g<sup>-1</sup>.

**Zinc (Zn).** Los valores de Zn en los maíces de color mostraron valores que oscilaron de 2.80 a 4.50 mg 100 g<sup>-1</sup>. En los maíces morados el menor valor se presentó en el MLSA con 2.80 y el menor en MLSI con 4.50, en los maíces pintos el menor valor fue para PCA con 2.83 y el mayor PLSI con 3.92, en el maíz de color rojo 3.88, en el amarillo 3.39 y en el blanco 4.49 mg 100 g<sup>-1</sup>. El análisis de varianza mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre maíces.

**Manganeso (Mn).** El análisis de varianza para los valores de Mn en los maíces de color mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Los valores de Mn en las variedades de maíces de color variaron de 0.30 a 0.73 mg 100 g<sup>-1</sup>. En los maíces morados el menor valor se observó en el MLSA con 0.47 y el mayor en MTE con 0.73, para los pintos el menor fue en PCA con 0.45 y el mayor para PLSI con 0.55, en el rojo fue de 0.54, en amarillo 0.54 y en el maíz blanco 0.30 mg 100 g<sup>-1</sup>.

Cuadro 10. Análisis de microelementos en genotipos de maíz de color.

Genotipo	Cobre (Cu)	Fierro (Fe)	Zinc (Zn)	Manganeso (Mn)
	mg 100 g <sup>-1</sup>			
MPN	0.25±0.03 <sup>cd</sup>	1.91±0.57 <sup>abcd</sup>	3.75±0.03 <sup>de</sup>	0.48±0.02 <sup>c</sup>
MMB	0.23±0.01 <sup>cd</sup>	1.70±0.11 <sup>bcd</sup>	3.66±0.08 <sup>e</sup>	0.48±0.01 <sup>c</sup>
MLSI	0.53±0.04 <sup>a</sup>	2.03±0.28 <sup>abc</sup>	4.50±0.01 <sup>a</sup>	0.67±0.01 <sup>a</sup>
MLSA	0.29±0.01 <sup>bcd</sup>	1.55±0.16 <sup>bcde</sup>	2.80±0.01 <sup>i</sup>	0.54±0.01 <sup>c</sup>
MLSO	0.23±0.02 <sup>cd</sup>	1.16±0.01 <sup>de</sup>	2.84±0.01 <sup>ghi</sup>	0.52±0.05 <sup>c</sup>
MLAS	0.31±0.01 <sup>bc</sup>	1.49±0.21 <sup>bcde</sup>	3.00±0.04 <sup>g</sup>	0.47±0.03 <sup>c</sup>
MPP	0.20±0.02 <sup>d</sup>	0.77±0.09 <sup>e</sup>	2.97±0.05 <sup>gh</sup>	0.52±0.01 <sup>c</sup>
MRE	0.25±0.01 <sup>cd</sup>	1.33±0.07 <sup>cde</sup>	3.64±0.01 <sup>e</sup>	0.66±0.04 <sup>ab</sup>
MTE	0.22±0.01 <sup>cd</sup>	1.36±0.09 <sup>cde</sup>	4.17±0.04 <sup>b</sup>	0.73±0.01 <sup>a</sup>
PCA	0.26±0.01 <sup>bcd</sup>	1.57±0.06 <sup>bcd</sup>	2.83±0.02 <sup>hi</sup>	0.45±0.01 <sup>c</sup>
PLSI	0.49±0.02 <sup>a</sup>	1.32±0.02 <sup>cde</sup>	3.92±0.04 <sup>c</sup>	0.55±0.01 <sup>bc</sup>
PTE	0.25±0.04 <sup>cd</sup>	2.20±0.19 <sup>ab</sup>	3.67±0.02 <sup>e</sup>	0.51±0.03 <sup>c</sup>
RRC	0.21±0.01 <sup>d</sup>	1.34±0.04 <sup>cde</sup>	3.88±0.01 <sup>cd</sup>	0.54±0.01 <sup>c</sup>
AM	0.24±0.01 <sup>cd</sup>	1.47±0.07 <sup>bcde</sup>	3.39±0.03 <sup>f</sup>	0.54±0.02 <sup>c</sup>
TRB	0.36±0.02 <sup>b</sup>	2.53±0.09 <sup>a</sup>	4.49±0.06 <sup>a</sup>	0.30±0.01 <sup>d</sup>

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar.

#### **4.1.4. Calidad nutraceútica**

##### **4.1.4.1. Compuestos polifenólicos totales**

La cuantificación de los compuestos polifenólicos totales (CP) en las variedades de maíz se llevó a cabo por el método de Folin-Ciocalteu y se basó en la metodología reportado por López-Contreras *et al.* (2015) con cambios. Los resultados de CP variaron de 104.71 a 138.62 en libres, de 238.82 a 360.06 en ligados y 349.31 a 471.65 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> en total (Cuadro 11). En los maíces morados los CP variaron de 105.50 a 138.62 en libres, 238.81 a 360.06 en ligados y 349.31 a 485.71 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> en total, para los maíces pintos fue de 111.43 a 120.34 en libres, 250.06 a 296.93 en ligados y 361.50 a 413.53 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> en total, en la variedad de maíz rojo 123.93 en libres, 303.50 en ligados y 427.43 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> en total, en el maíz amarillo 128.00 en libres, 339.12 en ligados y 467.12 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> en total y en maíz blanco fue 104.71 en libres, 305.37 en ligados y 410.09 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> en total. Los análisis de varianza se realizaron de forma independiente para los extractos libres y extractos ligados, estos análisis mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre las variedades de maíz.

##### **4.1.4.2. Flavonoides totales**

En cuanto a la cuantificación de los flavonoides totales (FL) de los maíces de color los análisis se realizaron en base a la metodología descrita por López-Contreras *et al.* (2015) con ligeras variantes. Los valores de los FL en los maíces variaron de 8.25 a 48.00 en libres, 3.75 a 86.25 en ligados y 22.50 a 105.75 mg EC 100 g<sup>-1</sup> total (Cuadro 12). En los maíces morados los valores variaron de 18.75 a 48.00 en libres, 3.75 a 63.75 en ligados y 22.50 a 96.00 mg EC 100 g<sup>-1</sup> en total, en los maíces pintos

variaron de 14.25 a 20.25 en libres, 33.00 a 50.25 en ligados y 53.25 a 64.50 mg EC 100 g<sup>-1</sup> en total, para en el maíz rojo el valor fue de 19.50 en libres, 86.25 en ligados y 105.75 mg EC 100 g<sup>-1</sup> en total, en el color amarillo fue de 10.50 en libres, 48.75 en ligados y 59.25 mg EC 100 g<sup>-1</sup> en total, en el maíz blanco 8.25 en libres, 15.75 en ligados y 24 mg EC 100 g<sup>-1</sup> en total. Los análisis de varianza realizados de forma independiente para los extractos libres y extractos ligados mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre maíces.

Cuadro 11. Compuestos polifenólicos totales (CP) de genotipos de maíz de color.

Genotipo	CP libres	CP ligados	Total
	mg EAG 100 g <sup>-1</sup>		
MPN	114.87±3.53 <sup>cdef</sup>	238.81±2.20 <sup>h</sup>	353.68
MMB	105.50±2.65 <sup>f</sup>	243.81± 6.62 <sup>gh</sup>	349.31
MLSI	109.87±6.62 <sup>ef</sup>	316.00± 7.07 <sup>abcde</sup>	425.87
MLSA	138.62±3.09 <sup>a</sup>	332.87± 3.50 <sup>abcd</sup>	471.50
MLSO	125.65±3.31 <sup>abcd</sup>	360.06±14.58 <sup>a</sup>	485.71
MLAS	120.03±5.52 <sup>bcdef</sup>	276.31±10.16 <sup>efgh</sup>	396.34
MPP	134.71±4.19 <sup>ab</sup>	309.12±16.70 <sup>abcde</sup>	443.84
MRE	115.50±2.20 <sup>cdef</sup>	352.5±15.46 <sup>ab</sup>	468.06
MTE	124.71±6.40 <sup>abcde</sup>	346.93±10.16 <sup>abc</sup>	471.65
PCA	120.34±2.43 <sup>bcdef</sup>	293.18±13.70 <sup>defg</sup>	413.53
PLSI	111.43±3.09 <sup>def</sup>	250.06±17.35 <sup>fgh</sup>	361.50
PTE	112.68±4.86 <sup>cdef</sup>	296.93±16.35 <sup>cdef</sup>	409.62
RRC	123.93±2.20 <sup>abcde</sup>	303.50±20.32 <sup>bcde</sup>	427.43
AM	128.00±1.76 <sup>abc</sup>	339.12±15.02 <sup>abcd</sup>	467.12
TRB	104.71±2.43 <sup>f</sup>	305.37±9.70 <sup>bcde</sup>	410.09

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media ± desviación estándar.

Cuadro 12. Concentración de flavonoides totales (FL) de genotipos de maíz de color.

Genotipo	FL libres	FL ligados	Total
	mg EC 100 g <sup>-1</sup>		
MPN	34.50±2.12 <sup>bc</sup>	5.25±1.06 <sup>g</sup>	39.75
MMB	27.75±1.06 <sup>d</sup>	12.00±2.12 <sup>fg</sup>	39.75
MLSI	36.00±2.12 <sup>bc</sup>	20.25±1.06 <sup>ef</sup>	56.25
MLSA	48.00±2.12 <sup>a</sup>	21.75±1.06 <sup>e</sup>	69.75
MLSO	38.25±1.06 <sup>b</sup>	34.50±2.12 <sup>d</sup>	72.75
MLAS	18.75±3.18 <sup>ef</sup>	3.75±1.06 <sup>g</sup>	22.50
MPP	35.25±1.06 <sup>bc</sup>	33.75±1.06 <sup>d</sup>	69.00
MRE	30.00±2.12 <sup>cd</sup>	61.50±2.12 <sup>b</sup>	91.50
MTE	32.25±1.06 <sup>bcd</sup>	63.75±3.18 <sup>b</sup>	96.00
PCA	20.25±1.06 <sup>ef</sup>	33.00±2.12 <sup>d</sup>	53.25
PLSI	18.75±1.06 <sup>ef</sup>	34.50±2.12 <sup>d</sup>	53.25
PTE	14.25±1.06 <sup>fg</sup>	50.25±3.18 <sup>c</sup>	64.50
RRC	19.50±2.12 <sup>e</sup>	86.25±3.18 <sup>a</sup>	105.75
AM	10.50±2.12 <sup>gh</sup>	48.75±1.06 <sup>c</sup>	59.25
TRB	8.25±1.06 <sup>h</sup>	15.75±3.18 <sup>ef</sup>	24.00

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar.

#### 4.1.4.3. Antocianinas totales

Los análisis de las antocianinas totales se realizaron con base a la metodología reportada por Abdel-Al y Hucl (1999) con ligeras variantes. Los resultados presentaron valores en las variedades de maíz de color que variaron de 1.38 a 74.52 mg EC3G 100 g<sup>-1</sup> (Cuadro 13). En los maíces morados variaron de 22.01 a 74.52, los maíces pintos variaron de 8.21 a 31.18, en el maíz de color rojo 24.69, en el amarillo 2.94 y en el maíz de color blanco 1.38 mg EC3G 100 g<sup>-1</sup>. Los resultados del análisis de varianza mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre las variedades.

#### **4.1.4.4. Taninos condensados totales**

La cuantificación de los taninos condensados totales (TC) de las variedades de maíz de color se realizó en base a la metodología reportada por López-Contreras *et al.* (2015) con variantes. Los resultados de TC en los maíces mostraron valores que variaron de 33.70 a 158.55 mg EC 100 g<sup>-1</sup> en libres (Cuadro 14). En los maíces morados los valores fueron de 39.00 a 158.55 en libres, en los maíces pintos de 33.70 a 37.67 en libres, en el rojo 67.67, en el maíz pinto PLSI, amarillo y blanco, así como en los extractos ligados de todas las variedades los TC no fueron identificados. El análisis de varianza realizados a los extractos libres de las variedades donde si se identificaron TC mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre variedades.

#### **4.1.5. Análisis cromatográfico (HPLC-DAD)**

##### **4.1.5.1. Compuestos polifenólicos**

La metodología para identificación de los compuestos polifenólicos (Figura 13) basada en lo escrito por Santos *et al.* (2014) con ligeras variantes, mostraron en los estándares utilizados para la curva de calibración los tiempos de retención para ácido gálico en el minuto 5.50 y 5.98; catequina 17.75 y 17.95; clorogénico, 20.03; cafeico, 20.63; *p*-cumárico, 25.26; ferúlico, 26.78; sinápico, 27.37; quercetina, 35.11 a una longitud de onda de 280 nm.

### Cuantificación de ácidos fenólicos

Los extractos fenólicos totales libres de los 15 genotipos pigmentados no mostraron contenido de ácido gálico, catequina, clorogénico, *p*-cumárico, ferúlico, cafeico, sinápico y quercetina, por otro lado, en los extractos de compuestos polifenólicos ligados sólo se identificó el ácido *p*-cumárico y ferúlico con diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre genotipos (Cuadro 15).

Cuadro 13. Antocianinas totales de genotipos de maíz de color.

Genotipo	Antocianinas totales
	mg EC3G 100 g <sup>-1</sup>
MPN	42.08±1.03 <sup>d</sup>
MMB	22.01±0.18 <sup>h</sup>
MLSI	21.79±0.24 <sup>h</sup>
MLSA	61.89±0.30 <sup>b</sup>
MLSO	74.52±0.67 <sup>a</sup>
MLAS	33.25±0.79 <sup>e</sup>
MPP	61.54±0.18 <sup>b</sup>
MRE	43.51±0.12 <sup>d</sup>
MTE	52.85±0.85 <sup>c</sup>
PCA	31.18±0.30 <sup>f</sup>
PLSI	8.21±0.12 <sup>j</sup>
PTE	14.92±0.55 <sup>i</sup>
RRC	24.69±0.67 <sup>g</sup>
AM	2.94±0.12 <sup>k</sup>
TRB	1.38±0.12 <sup>k</sup>

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar.

**Cuantificación de ácido *p*-cumárico.** La concentración del ácido *p*-cumárico el análisis de varianza mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre valores que oscilaron de 5.57 a 15.52 mg 100 g<sup>-1</sup> (Cuadro 15). En los maíces morados el menor valor se presentó en MMB con 5.57 y el mayor en MLSA con 11.70 mg 100 g<sup>-1</sup>, en los pintos el menor en PLSI con 9.00 y el mayor en PCA con 14.85, en el rojo fue 12.27, en amarillo 15.52 y en blanco 12.32 mg 100 g<sup>-1</sup>.

Cuadro 14. Concentración de taninos condensados totales (TC) en genotipos de maíz de color.

Genotipo	TC libres	TC ligados
	mg EC 100 g <sup>-1</sup>	
MPN	129.88±7.48 <sup>b</sup>	ND
MMB	70.32±4.36 <sup>de</sup>	ND
MLSI	39.00±1.24 <sup>fg</sup>	ND
MLSA	122.38±11.85 <sup>b</sup>	ND
MLSO	158.55±1.87 <sup>a</sup>	ND
MLAS	84.44±4.36 <sup>cd</sup>	ND
MPP	127.23±3.74 <sup>b</sup>	ND
MRE	57.52±3.74 <sup>ef</sup>	ND
MTE	98.55±4.36 <sup>c</sup>	ND
PCA	33.70±4.99 <sup>g</sup>	ND
PLSI	ND	ND
PTE	37.67±3.11 <sup>g</sup>	ND
RRC	67.67±3.11 <sup>de</sup>	ND
AM	ND	ND
TRB	ND	ND

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media ± desviación estándar. ND= no detectado.

**Cuantificación de ácido ferúlico.** La concentración del ácido ferúlico (Cuadro 15) en los 15 genotipos de maíz varió de 994.8 a 1649 mg 100 g<sup>-1</sup>. En los morados el menor fue en MMB con 99.48 y el mayor en MPP con 144.86, en pintos el menor fue para PTE con 130.05 y el mayor en PCA con 164.90, en el genotipo de color rojo el valor fue de 12.27, en amarillo 15.52 y en blanco 135.64 mg 100 g<sup>-1</sup>. Encontrando diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre los genotipos de maíz.

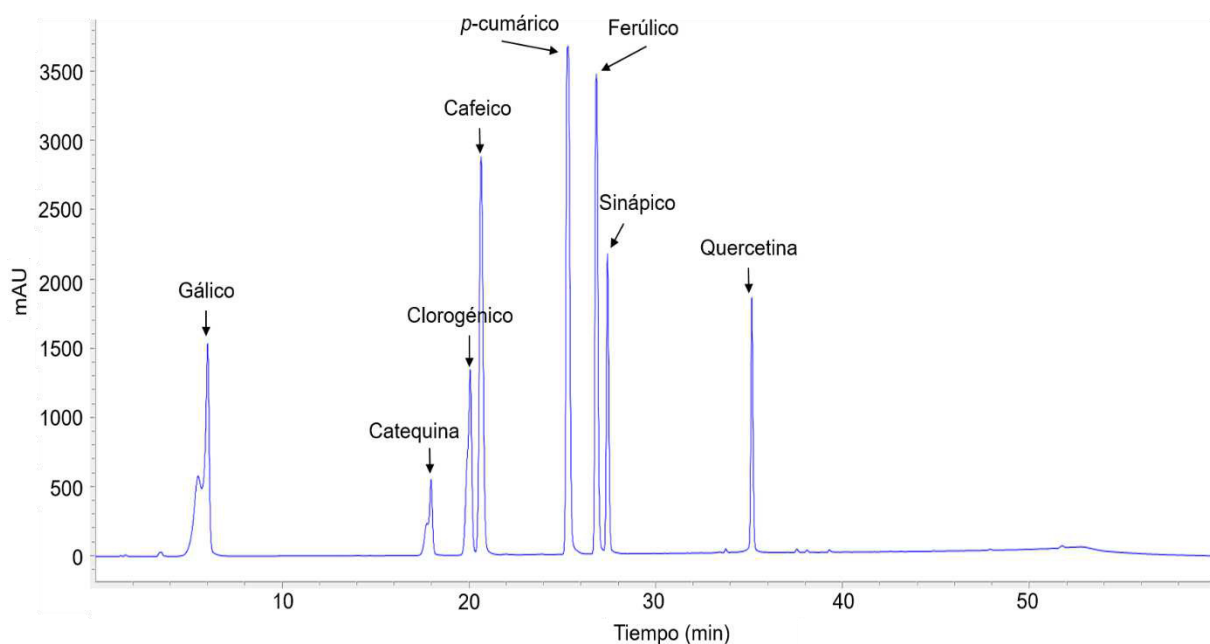


Figura 13. Cromatograma HPLC-DAD de mezcla de 8 estándares con la identificación de los picos a una longitud de onda de 280 nm.

### Cuantificación de cianidina-3-glucósido

La metodología para cuantificación de cianidina-3-glucósido (Figura 14) basada en lo escrito por Lao y Giuti (2016) con ligeras variantes, mostró que el estándar de antocianina C3G utilizado en la curva de calibración obtuvo un tiempo de retención de 14.35 a una longitud de onda de 520 nm. La antocianina presentó una  $R^2$  de 0.9997 con una ecuación de predicción de  $y = 325.38x - 218.47$ .

Cuadro 15. Cuantificación de ácido *p*-cumárico y ferúlico en maíces de color por HPLC-DAD.

Genotipo	<i>p</i> -cumárico	Ferúlico	Total
	mg 100 g <sup>-1</sup>		
MPN	6.73±0.97 <sup>fg</sup>	103.34±15.48 <sup>de</sup>	110.07
MMB	10.38±1.24 <sup>bcd</sup>	99.48±6.85 <sup>e</sup>	109.86
MLSI	5.57±0.24 <sup>g</sup>	118.72±3.23 <sup>cde</sup>	124.29
MLSA	11.70±0.69 <sup>bc</sup>	129.57±8.63 <sup>cd</sup>	141.27
MLSO	9.51±0.48 <sup>cde</sup>	124.30±5.92 <sup>cde</sup>	133.81
MLAS	10.69±0.40 <sup>bcd</sup>	132.99±8.97 <sup>c</sup>	143.68
MPP	10.82±0.35 <sup>bcd</sup>	144.86±3.05 <sup>abc</sup>	155.68
MRE	9.46±1.02 <sup>cde</sup>	143.32±12.73 <sup>abc</sup>	152.78
MTE	8.03±0.16 <sup>ef</sup>	140.30±4.77 <sup>abc</sup>	148.33
PCA	14.85±0.51 <sup>a</sup>	164.90±0.80 <sup>a</sup>	179.75
PLSI	9.00±0.73 <sup>def</sup>	131.56±7.62 <sup>cd</sup>	140.56
PTE	11.12±1.19 <sup>bcd</sup>	130.05±8.69 <sup>cd</sup>	141.17
RRC	12.27±0.64 <sup>b</sup>	144.78±15.10 <sup>abc</sup>	157.05
AM	15.52±0.72 <sup>a</sup>	162.51±10.22 <sup>ab</sup>	178.03
TRB	12.32±0.87 <sup>b</sup>	135.64±15.04 <sup>bc</sup>	147.96

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar.

**Identificación de antocianinas.** Con la extracción y purificación de antocianinas en los cromatogramas generados a 520 nm para los genotipos de maíz pigmentado se detectó la presencia de 9 antocianinas glucosiladas (Figura 15). el pico 1, corresponde a cianidina-3-glucósido, el pico 2 a pelargonidina-3-glucósido, pico 3 cianidina-3-malonylglucosido, pico 4 a un isómero de cianidina-3-malonilglucósido, el pico 5 a peonidina-3-glucósido, el pico 6 a cianidina-3-(6"-malonilglucósido), el pico 7 a cianidina-3-succinilglucósido, el pico 8 a pelargonidina-3-(6"-malonilglucósido) y el pico 9 a cianidina-3-dimalonilglucósido.

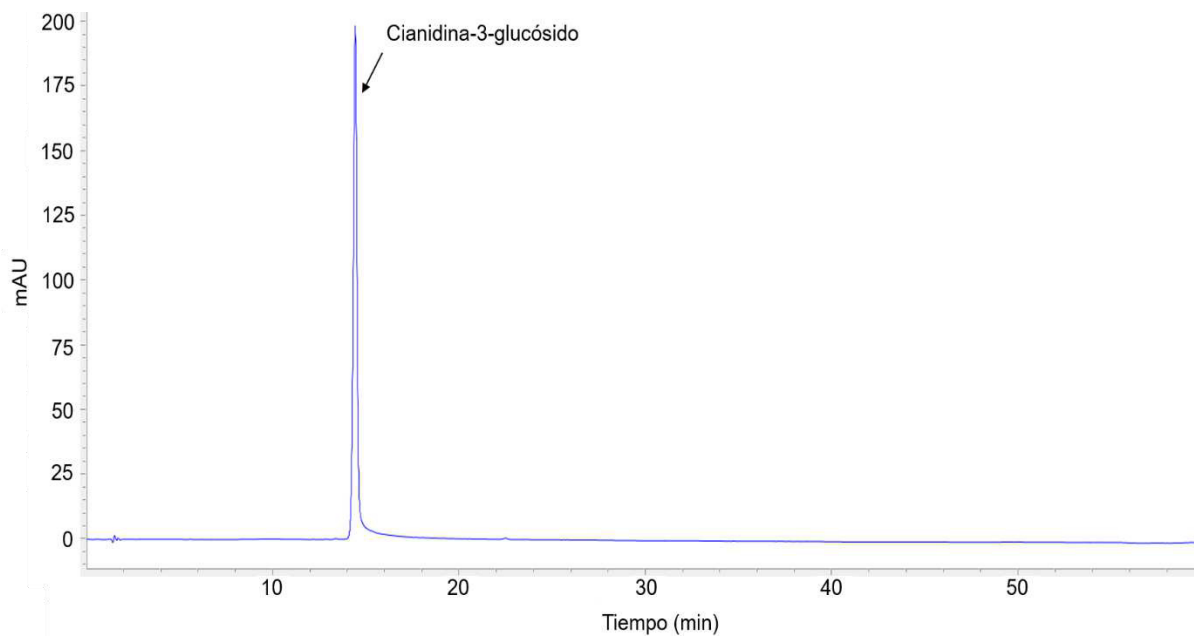


Figura 14. Cromatograma HPLC-DAD de estándar cianidina-3-glucósido a en longitud de onda 520 nm.

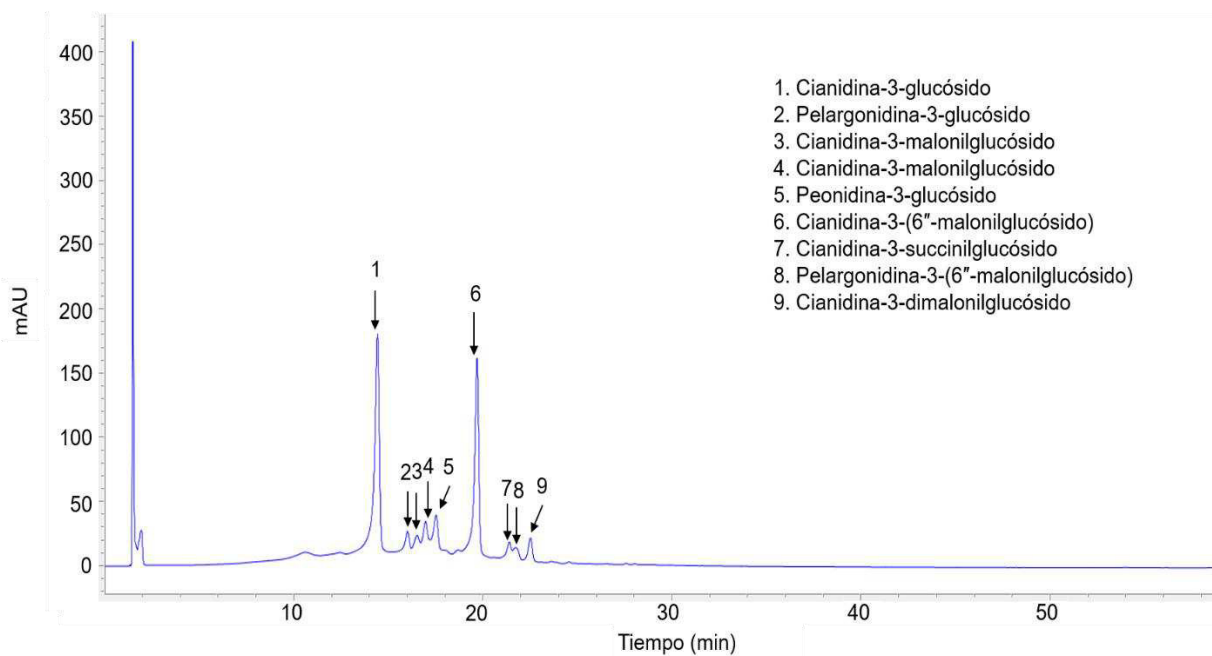


Figura 15. Cromatograma HPLC-DAD de genotipos de maíz con identificación de 9 antocianinas glucosiladas presentes a una longitud de onda 520 nm.

**Cuantificación de cianidina-3-glucósido.** El contenido de C3G (Cuadro 16) entre genotipos mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ), el contenido varió de 1.24 a 10.75 mg EC3G 100 g<sup>-1</sup>, en los maíces morados el menor contenido se observó en el maíz MLSI con 1.90 y el mayor en MLSO con 10.75 mg EC3G 100 g<sup>-1</sup>, en los maíces pintos el menor valor fue en PLSI con 1.46 y el mayor en PTE con 2.80 mg EC3G 100 g<sup>-1</sup>, en el maíz rojo en contenido fue de 1.24 mg EC3G 100 g<sup>-1</sup> y en el maíz amarillo y blanco no se detectó C3G.

Cuadro 16. Cuantificación de cianidina-3-glucósido en genotipos de maíz de color por HPLC-DAD.

Genotipo	Antocianina
	mg EC3G 100 g <sup>-1</sup>
MPN	2.34±0.22 <sup>fg</sup>
MMB	1.46±0.01 <sup>gh</sup>
MLSI	1.90±0.11 <sup>fgh</sup>
MLSA	5.24±0.14 <sup>d</sup>
MLSO	10.75±0.02 <sup>a</sup>
MLAS	4.20±0.61 <sup>e</sup>
MPP	6.97±0.34 <sup>c</sup>
MRE	6.04±0.04 <sup>cd</sup>
MTE	8.42±0.55 <sup>b</sup>
PCA	2.65±0.04 <sup>f</sup>
PLSI	1.46±0.04 <sup>gh</sup>
PTE	2.80±0.23 <sup>f</sup>
RRC	1.24±0.14 <sup>h</sup>
AM	ND
TRB	ND

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media ± desviación estándar.

#### **4.1.6. Capacidad antioxidante**

##### **4.1.6.1. DPPH**

La medición de la capacidad antioxidante DPPH en las variedades de maíz de color se llevó a cabo siguiendo la técnica reportada por López-Contreras *et al.* (2015) con variantes. Los resultados de los maíces presentaron valores que variaron de 470 a 749.10 en libres, 749.10 a 1136.10 en ligados y 1127.70 a 1865.70  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total (Cuadro 17). En los maíces morados los valores variaron de 470.10 a 749.10 en libres, 768.60 a 1136.10 en ligados y 1286.70 a 1865.70  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total, en los maíces pintos varió de 497.10 a 626.10 en libres, 501.60 a 836.10 en ligados y 1127.70 a 1444.20  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total, mientras que en el maíz de color rojo 623.10 en libres, 749.10 en ligados y 1372.20  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total, para amarillo 581.10 en libres, 956.10 en ligados y 1537.20  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total y en el blanco 620.10 en libres, 987.60 en ligados y 1607.70  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total. El análisis de varianza se realizó de forma independiente para cada tipo de extracto y se encontró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre variedades.

##### **4.1.6.2. ABTS**

La medición de la capacidad antioxidante ABTS se basó en la metodología descrita por López-Contreras *et al.* (2015) con cambios. Los resultados en las variedades de maíz mostraron valores que oscilaron de 687.90 a 940.65 en libres, de 2138.25 a 3345.75 en ligados y 2826.90 a 4263.90  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total (Cuadro 18). Los valores en los maíces morados oscilaron de 687.90 a 935.40 en libres, 2655.75 a 3345.75 en ligados y 3439.65 a 4263.90  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total, en las variedades de maíz pinto de 688.65 a 800.40 en libres, 2138.25 a 2978.25 en ligados

y 2826.90 a 3763.65  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total, en el maíz de color rojo fue de 877.65 en libres, 2708.25 en ligados y 3585.90  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total, en el maíz amarillo 769.65 en libres, 3263.25 en ligados y 4032.90  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total y para el maíz blanco 719.40 en libres, 3034.50 en ligados y 3753.90  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total. El análisis de varianza realizado para cada tipo de extracto mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre las variedades.

Cuadro 17. Capacidad antioxidante DPPH en genotipos de maíz de color.

Genotipo	Libres	Ligados	Total
	$\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$		
MPN	594.60±6.36 <sup>cde</sup>	824.10±46.66 <sup>fg</sup>	1418.70
MMB	470.10±8.48 <sup>f</sup>	816.60±31.81 <sup>fg</sup>	1286.70
MLSI	543.60±19.09 <sup>def</sup>	1050.60±19.09 <sup>abc</sup>	1594.20
MLSA	729.60±19.09 <sup>a</sup>	1136.10±12.72 <sup>a</sup>	1865.70
MLSO	749.10±16.97 <sup>a</sup>	1091.10±33.94 <sup>ab</sup>	1840.20
MLAS	642.60±14.84 <sup>bc</sup>	909.60±14.84 <sup>def</sup>	1552.20
MPP	693.60±19.09 <sup>ab</sup>	768.60±10.60 <sup>gh</sup>	1462.20
MRE	522.60±19.09 <sup>ef</sup>	1022.10±4.24 <sup>bc</sup>	1544.70
MTE	627.60±31.81 <sup>9bc</sup>	861.60±31.81 <sup>efg</sup>	1489.20
PCA	608.10±8.48 <sup>cd</sup>	836.10±42.42 <sup>fg</sup>	1444.20
PLSI	626.10±33.94 <sup>bc</sup>	501.60±19.09 <sup>i</sup>	1127.70
PTE	497.10±8.48 <sup>f</sup>	773.10±25.45 <sup>gh</sup>	1270.20
RRC	623.10±25.45 <sup>bc</sup>	749.10±21.21 <sup>h</sup>	1372.20
AM	581.10±8.48 <sup>cde</sup>	956.10±16.97 <sup>cde</sup>	1537.20
TRB	620.10±4.24 <sup>bc</sup>	987.60±10.60 <sup>cd</sup>	1607.70

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar.

Cuadro 18. Capacidad antioxidante ABTS en genotipos de maíz de color.

Genotipo	Libres	Ligados	Total
	$\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$		
MPN	800.40±4.24 <sup>cde</sup>	2727.00±190.91 <sup>bc</sup>	3527.40
MMB	720.15±35.00 <sup>def</sup>	2719.50±74.24 <sup>bc</sup>	3439.65
MLSI	687.90±16.97 <sup>f</sup>	3060.75±68.94 <sup>abc</sup>	3748.65
MLSA	918.15±15.90 <sup>a</sup>	3345.75±217.43 <sup>a</sup>	4263.90
MLSO	908.40±6.36 <sup>ab</sup>	3053.25±68.94 <sup>abc</sup>	3961.65
MLAS	809.40±4.24 <sup>bcd</sup>	2704.50±31.81 <sup>c</sup>	3513.90
MPP	935.40±12.72 <sup>a</sup>	2655.75±58.33 <sup>c</sup>	3591.15
MRE	770.40±14.84 <sup>def</sup>	3087.00±137.88 <sup>abc</sup>	3857.40
MTE	940.65±60.45 <sup>a</sup>	3177.00±137.88 <sup>ab</sup>	4117.65
PCA	800.40±8.48 <sup>cde</sup>	2963.25±5.30 <sup>abc</sup>	3763.65
PLSI	688.65±24.39 <sup>f</sup>	2138.25±100.76 <sup>d</sup>	2826.90
PTE	704.40±23.33 <sup>ef</sup>	2978.25±143.18 <sup>abc</sup>	3682.65
RRC	877.65±7.42 <sup>abc</sup>	2708.25±143.18 <sup>c</sup>	3585.90
AM	769.65±45.60 <sup>def</sup>	3263.25±37.12 <sup>a</sup>	4032.90
TRB	719.40±16.97 <sup>def</sup>	3034.50±106.06 <sup>abc</sup>	3753.90

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar.

#### 4.1.6.3. FRAP

La capacidad antioxidante FRAP se baso en lo descrito por López-Contreras *et al.* (2015) con variantes. Los resultados obtenidos fueron de 283.06 a 512.47 en libres, de 447.88 a 952.59 en ligados y 730.94 a 1340.65  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total (Cuadro 19). En los maíces morados los valores oscilaron de 317.91 a 512.47 en libres, 553.76 a 856.41 en ligados y 898.59 a 1340.65  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total, en los maíces pintos los valores variaron de 283.06 a 350.56 en libres, 447.88 a 665.82 en ligados y 730.94 a 989.03  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total, en el maíz de color rojo el valor fue de 351.00

en libres, 648.18 en ligados y 999.18  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total, para el amarillo 328.94 en libres, 952.59 en ligados y 1281.53  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total y en la variedad de color blanco 349.68 en libres, 777.00 en ligados y 1126.68  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total. El análisis de varianza realizado de forma independiente para los extractos libres y los extractos ligados mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre los genotipos de maíz.

Cuadro 19. Capacidad antioxidante FRAP en genotipos de maíz de color.

Genotipo	Libres	Ligados	Total
	$\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$		
MPN	358.50±9.36 <sup>cde</sup>	564.35±22.46 <sup>e</sup>	922.85
MMB	317.91±9.36 <sup>fg</sup>	639.35±33.69 <sup>de</sup>	957.26
MLSI	345.71±9.98 <sup>def</sup>	718.76±21.21 <sup>cd</sup>	1064.47
MLSA	496.59±12.48 <sup>a</sup>	708.18±8.73 <sup>cd</sup>	1204.76
MLSO	512.47±11.23 <sup>a</sup>	828.18±26.20 <sup>b</sup>	1340.65
MLAS	344.82±9.98 <sup>def</sup>	553.76±39.93 <sup>e</sup>	898.59
MPP	433.06±7.49 <sup>b</sup>	556.41±13.73 <sup>e</sup>	989.47
MRE	375.71±6.24 <sup>cd</sup>	856.41±33.69 <sup>ab</sup>	1232.12
MTE	394.68±10.61 <sup>c</sup>	797.29±24.96 <sup>bc</sup>	1191.97
PCA	350.56±8.11 <sup>def</sup>	638.47±19.97 <sup>de</sup>	989.03
PLSI	283.06±6.24 <sup>g</sup>	447.88±14.97 <sup>f</sup>	730.94
PTE	288.79±9.36 <sup>g</sup>	665.82±36.19 <sup>d</sup>	954.62
RRC	351.00±11.23 <sup>def</sup>	648.18±3.74 <sup>de</sup>	999.18
AM	328.94±2.50 <sup>ef</sup>	952.59±29.95 <sup>a</sup>	1281.53
TRB	349.68±6.86 <sup>def</sup>	777.00±18.72 <sup>bc</sup>	1126.68

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ).  
Media  $\pm$  desviación estándar.

#### 4.1.6.4. ORAC

En cuanto a la capacidad antioxidante ORAC, los análisis de varianza realizados de forma independiente para cada tipo de extracto, libres y ligados, mostraron valores con diferencias estadísticas ( $P \leq 0.05$ ) entre maíces (Cuadro 20). La metodología se realizó en base a lo reportado por Gaxiola-Cuevas *et al.* (2017) con ligeras variantes.

Cuadro 20. Capacidad antioxidante ORAC en genotipos de maíz de color.

Genotipo	Libres	Ligados	Total
	$\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$		
MPN	3290.20±22.3 <sup>bc</sup>	1097.0±28.3 <sup>bcdef</sup>	4387.20
MMB	3267.00±142.0 <sup>bc</sup>	1032.30±23.9 <sup>def</sup>	4299.30
MLSI	3161.40±51.9 <sup>bcd</sup>	1155.50±52.0 <sup>bcdef</sup>	4316.90
MLSA	4400.70±75.1 <sup>a</sup>	1191.90±65.0 <sup>abcde</sup>	5592.60
MLSO	3141.60±83.0 <sup>bcde</sup>	1021.72±12.0 <sup>ef</sup>	4163.30
MLAS	3336.20±74.1 <sup>b</sup>	1389.20±26.7 <sup>a</sup>	4725.40
MPP	2953.10±25.1 <sup>defg</sup>	983.30±42.7 <sup>f</sup>	3936.40
MRE	3381.04±2.7 <sup>b</sup>	1250.20±79.0 <sup>abc</sup>	4631.20
MTE	2874.0±20.5 <sup>efg</sup>	1044.55±13.5 <sup>def</sup>	3918.50
PCA	2960.07±6.2 <sup>defg</sup>	1293.70±124.0 <sup>ab</sup>	4253.70
PLSI	2494.50±44.6 <sup>h</sup>	990.30±47.8 <sup>f</sup>	3484.80
PTE	2854.01±9.0 <sup>fg</sup>	1227.10±17.0 <sup>abcd</sup>	4081.10
RRC	2871.40±94.8 <sup>efg</sup>	1080.60±30.0 <sup>cdef</sup>	3952.00
AM	3059.10±71.9 <sup>cdef</sup>	1157.40±16.3 <sup>bcdef</sup>	4216.50
TRB	2752.80±110.7 <sup>gh</sup>	1191.0±36.1 <sup>abcde</sup>	3943.80

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ).  
Media ± desviación estándar.

Los resultados presentaron valores de 2494.50 a 4400.70 en extractos libres, 983.30 a 1389.20 g en extractos ligados y 3484.80 a 5592.60  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total y en los maíces morados los valores variaron de 29.53.10 a 4400.70 en libres, 983.30 a 1389.20 en ligados y 3918.50 a 5592.60  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total, en los maíces pintos los valores variaron de 2494.50 a 2960.07 en libres, 990.30 a 1293.70 en ligados y 3484.80 4253.70  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total, mientras que en el maíz de color rojo el valor fue de 2871.40 en libres, 1080.60 en ligados y 3952.00  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total, en el amarillo de 3059.10 en libres, 1157.40 en ligados y 4216.5  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total y en el blanco 2752.80 en libres, 1191.00 en ligados y 3943.80  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  en total.

## **4.2. Bebidas de maíz blanco y morado**









### **4.2.1. Coordenadas cromáticas de grano y harina**

Los resultados obtenidos en  $L^*$  en el color del grano crudo y tostado, y harina cruda y tostada, mostraron variación entre 31.56 y 88.58 (Cuadro 21), para el color del grano de maíz blanco GBC y GBT con valores de 69.16 y 51.58 y harina de maíz morado HMC y HMT con valores de 74.28 y 56.32, respectivamente, además de que mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). En el color de la harina de maíz blanco HBC y HBT con valores de 88.58 y 77.32 y el grano de maíz morado GMC y GMT con valores de 31.5 y 35.7, respectivamente, no mostraron diferencia estadísticamente ( $P \geq 0.05$ ).

Los valores de  $a^*$ ,  $b^*$  y  $C^*$  con valores que variaron de 1.24 a 8.32, 1.56 a 25.63 y 3.38 a 26.68 respectivamente en el maíz blanco y morado mostraron diferencias estadísticas ( $P \leq 0.05$ ) en cada uno de los parámetros evaluados en el grano y harina crudo y tostado. Los mayores valores con diferencia estadística se encontraron en todos los tratamientos de tostado.

Con respecto al  $h$  los valores variaron de 23.80 a 85.44. Entre el grano de maíz blanco crudo y tostado, harina de maíz blanco cruda y tostada, y harina de maíz morado cruda y tostada con valores de 84.20 y 71.80, 85.44 y 74.06, y 23.80 y 64.20, respectivamente, encontrándose diferencias estadísticas ( $P \leq 0.05$ ). Pero en el grano de maíz morado crudo y tostado con valores de 68.48 y 64.20, respectivamente, no se encontró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

Cuadro 21. Color visual y coordenadas cromáticas del grano y harina de genotipos de maíz utilizada en preparación de bebida antes y después del tostado.

Genotipo	Muestra	Color visual	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h$
Blanco	GBC		69.16±2.84 <sup>a</sup>	2.28±0.81 <sup>b</sup>	22.28±2.01 <sup>b</sup>	22.42±2.05 <sup>b</sup>	84.20±1.68 <sup>a</sup>
	GBT		51.58±4.49 <sup>b</sup>	8.32±1.59 <sup>a</sup>	25.36±3.52 <sup>a</sup>	26.68±3.64 <sup>a</sup>	71.80±2.53 <sup>b</sup>
	HBC		88.58±0.22 <sup>a</sup>	1.24±0.08 <sup>b</sup>	15.70±0.31 <sup>b</sup>	15.78±0.30 <sup>b</sup>	85.44±0.33 <sup>a</sup>
	HBT		77.32±0.64 <sup>a</sup>	6.78±0.27 <sup>a</sup>	23.66±0.58 <sup>a</sup>	24.60±0.61 <sup>a</sup>	74.06±0.27 <sup>b</sup>
Morado	GMC		31.56±0.65 <sup>a</sup>	1.38±1.03 <sup>b</sup>	3.10±1.65 <sup>b</sup>	3.38±1.90 <sup>b</sup>	68.48±8.18 <sup>a</sup>
	GMT		35.78±1.33 <sup>a</sup>	3.44±1.63 <sup>a</sup>	8.36±0.74 <sup>a</sup>	9.32±0.56 <sup>a</sup>	64.20±6.24 <sup>a</sup>
	HMC		74.28±1.29 <sup>a</sup>	3.58±0.08 <sup>b</sup>	1.56±0.13 <sup>b</sup>	3.92±0.13 <sup>b</sup>	23.80±1.55 <sup>b</sup>
	HMT		56.32±0.63 <sup>b</sup>	6.08±0.13 <sup>a</sup>	12.58±0.28 <sup>a</sup>	13.98±0.28 <sup>a</sup>	64.20±0.18 <sup>a</sup>

Letras diferentes en el tipo de grano, y tratamiento del grano y harina en la misma columna indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar. GBC, grano blanco crudo. GBT, grano blanco tostado. HBC, harina blanca cruda. HBT, harina blanca tostada. GMC, grano morado crudo. GMT, grano morado tostado. HMC, harina morada cruda. HMT, harina morada tostada.









#### 4.2.1.1. Coordinadas cromáticas de bebidas

Los valores de  $L^*$  en las bebidas variaron de 31.10 a 36.98. Cada una de las bebidas mostraron diferencia estadística entre tratamientos. En la bebida de maíz blanco los valores variaron de 35.20 a 36.98 y el menor valor de luminosidad se encontró en B85 y las mayores en BSP y B63 (Cuadro 22). En la bebida de maíz morado  $L^*$  varió de 31.10 a 33.92 con el menor en M85 y el más alto en MSP.

El análisis de varianza para  $a^*$  con valores entre 2.50 y 2.84, mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos del tipo de bebida. El valor de  $a^*$  en la bebida de maíz blanco varió de 2.50 a 2.74, los más altos valores se mostraron en los tratamientos B73 y B85, y el menor en tratamiento BSP. En la bebida de maíz morado,  $a^*$  osciló de 2.44 a 2.84, el valor más alto fue para el tratamiento MSP y el menor para M63. En la de maíz blanco se observó que el valor de  $a^*$  se incrementó al aumentar la temperatura y en la de morado sólo se observó que disminuyó en el proceso a 63 °C.

Los valores de  $b^*$  en las bebidas variaron de 7.24 a 11.04. La bebida de maíz blanco los valores variaron de 10.74 a 11.04, sin encontrarse diferencia estadística entre tratamientos. Para la bebida de maíz morado los valores de  $b^*$  con 7.24 a 9.00 mostraron los valores más altos en el tratamiento MSP. Los valores de  $C^*$  en las bebidas de maíz variaron de 7.68 a 11.32 y en la de blanco variaron de 11.04 a 11.32. Estos resultados no mostraron diferencias estadísticas ( $P \geq 0.05$ ) entre tratamientos.

Cuadro 22. Color visual y coordenadas cromáticas de bebida de genotipos de maíz en proceso de pasteurización.

Tipo de Bebida	Muestra	Color visual	Coordenadas cromáticas				
			$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h$
Bebida de maíz blanco	BSP		36.26±0.47 <sup>ab</sup>	2.50±0.12 <sup>b</sup>	11.04±0.52 <sup>a</sup>	11.32±0.56 <sup>a</sup>	77.20±0.12 <sup>a</sup>
	B63		36.98±0.54 <sup>a</sup>	2.60±0.12 <sup>ab</sup>	11.00±0.28 <sup>a</sup>	11.30±0.28 <sup>a</sup>	76.70±0.33 <sup>a</sup>
	B73		35.32±0.72 <sup>b</sup>	2.72±0.10 <sup>a</sup>	10.74±0.30 <sup>a</sup>	11.12±0.26 <sup>a</sup>	75.82±0.39 <sup>b</sup>
	B85		35.20±1.31 <sup>b</sup>	2.74±0.05 <sup>a</sup>	10.80±0.45 <sup>a</sup>	11.04±0.54 <sup>a</sup>	75.62±0.46 <sup>b</sup>
Bebida de maíz morado	MSP		33.92±0.13 <sup>a</sup>	2.84±0.05 <sup>a</sup>	9.00±0.07 <sup>a</sup>	9.42±0.04 <sup>a</sup>	72.44±0.20 <sup>a</sup>
	M63		32.26±0.15 <sup>b</sup>	2.44±0.11 <sup>c</sup>	7.42±0.08 <sup>b</sup>	7.84±0.11 <sup>b</sup>	71.80±0.69 <sup>a</sup>
	M73		31.10±0.67 <sup>c</sup>	2.58±0.16 <sup>bc</sup>	7.24±0.25 <sup>b</sup>	7.68±0.27 <sup>b</sup>	70.40±0.60 <sup>b</sup>
	M85		31.20±0.18 <sup>c</sup>	2.66±0.08 <sup>ab</sup>	7.32±0.08 <sup>b</sup>	7.80±0.10 <sup>b</sup>	70.10±0.40 <sup>b</sup>

Letras diferentes en las columnas del tipo de bebida indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar.

Por otro lado, en la bebida de maíz morado  $C^*$  mostró valores de 7.68 a 9.42 siendo los más altos con diferencia en el tratamiento MSP. Para  $h$  de las bebidas de maíz, los valores fluctuaron entre 70.10 y 77.20. En la bebida de maíz blanco  $h$  osciló entre 75.62 y 77.20 y los valores más altos presentaron en los tratamientos BSP y B63. En cuanto a la bebida de maíz morado los valores variaron de 70.11 a 72.44, siendo los más altos estadísticamente los de tratamientos MSP y M63.

## 4.2.2. Calidad de las bebidas de maíz

### 4.2.2.1. Parámetros fisicoquímicos

Los valores de los parámetros fisicoquímicos para °Brix (Cuadro 23) en las bebidas de maíz variaron de 2.03 a 2.23. En la bebida de maíz blanco después de los tratamientos térmicos de pasteurización no mostraron diferencia ( $P \geq 0.05$ ) con valores de 2.03 a 2.06. En la bebida de maíz morado sólo se observó diferencia entre el tratamiento a M85 y M63 con valores de 2.03 a 2.23, respectivamente.

Los valores de pH en las bebidas variaron de 6.10 a 6.37 (Cuadro 23). En la bebida de maíz blanco variaron de 6.21 a 6.31 con diferencia ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos y con el menor valor de pH en BSP, entre el resto no hubo diferencias. En la bebida de maíz morado los valores de pH oscilaron entre 6.21 a 6.29 sin diferencia estadística entre tratamientos ni tipo de bebida.

El parámetro de acidez titulable (Cuadro 23) en todas las muestras de las bebidas de maíz blanco y morado mostraron en todos los casos valores de 0.033 % de equivalentes de ácido málico, sin diferencia estadística ( $P \geq 0.05$ ) entre tratamientos.

#### **4.2.2.2. Análisis microbiológicos**

Los resultados de análisis microbiológicos en las bebidas de maíz mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) en el tipo de bebida (Cuadro 24). Los mesófilos aerobios, lactobacilos y enterobacterias en las bebidas de maíz blanco y morado sólo se detectaron en el tratamiento sin pasteurizar para BSP los valores fueron de 6.96, 1.61 5.45 log UFC mL<sup>-1</sup>, respectivamente, y en MSP los valores de 7.31, 1.58 y 7.07 log UFC mL<sup>-1</sup>, respectivamente. En el resto de los tratamientos de las bebidas de maíz blanco y morado los hongos, levaduras y esporas no se detectaron.

#### **4.2.2.3. Análisis de minerales**

##### **Macroelementos**

El contenido de los macroelementos Magnesio (Mg), Calcio (Ca), Potasio (K), Sodio (Na), Fósforo (P) y Azufre (S) (Cuadro 25) se realizaron en base a la metodología descrita por Niño-Medina *et al.* (2014) con ligeras variantes.

Cuadro 23. Análisis fisicoquímicos de °Brix, pH y acidez titulable en bebidas de maíz blanco y morado.

Parámetros	Bebida de maíz blanco				Bebida de maíz morado			
	BSP	B63	B73	B85	MSP	M63	M73	M85
°Brix	2.06±0.05 <sup>a</sup>	2.03±0.05 <sup>a</sup>	2.03±0.05 <sup>a</sup>	2.03±0.05 <sup>a</sup>	2.17±0.06 <sup>ab</sup>	2.23±0.06 <sup>a</sup>	2.13±0.056 <sup>ab</sup>	2.03±0.06 <sup>b</sup>
pH	6.10±0.05 <sup>b</sup>	6.34±0.02 <sup>a</sup>	6.37±0.02 <sup>a</sup>	6.36±0.19 <sup>a</sup>	6.29±0.08 <sup>a</sup>	6.22±0.03 <sup>a</sup>	6.24±0.01 <sup>a</sup>	6.21±0.04 <sup>a</sup>
%acidez	0.033±0.001 <sup>a</sup>	0.033±0.001 <sup>a</sup>	0.033±0.001 <sup>a</sup>	0.033±0.001 <sup>a</sup>	0.033±0.001 <sup>a</sup>	0.033±0.001 <sup>a</sup>	0.033±0.001 <sup>a</sup>	0.033±0.001 <sup>a</sup>

Letras diferentes en las hileras del tipo de bebida indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar.

Cuadro 24. Análisis microbiológicos en bebidas de maíz blanco y morado.

Grupo de microorganismos	Bebida de maíz blanco				Bebida de maíz morado			
	BSP	B63	B73	B85	MSP	M63	M73	M85
	log UFC mL <sup>-1</sup>							
Mesófilos aerobios	6.96±0.05 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	7.31±0.04 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
Lactobacilos	1.61±0.02 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	1.58±0.02 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
Enterobacterias	5.45±0.03 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	7.07±0.04 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
Hongos y levaduras	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Esporas	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Letras diferentes en las hileras del tipo de bebida indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar. ND = no detectado.

**Calcio (Ca).** El contenido de Ca con valores de 163.60 a 209.65 mg L<sup>-1</sup> (Cuadro 25) en las bebidas de maíz mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre el tipo de bebida con el mayor contenido de Ca en la bebida de maíz morado. Los valores del contenido de Ca en la bebida de maíz blanco oscilaron de 163.60 a 177.52 mg L<sup>-1</sup> en B73 y BSP, respectivamente. En la de maíz morado de 189.55 a 209.65 mg L<sup>-1</sup> M63 y MSP respectivamente, no mostraron diferencia estadística entre tratamientos térmicos del tipo de bebida.

**Magnesio (Mg).** Los resultados Mg en las bebidas de maíz mostraron valores de 33.91 a 41.03 mg L<sup>-1</sup>. En la bebida de maíz blanco vario de 33.91 a 39.52 mg L<sup>-1</sup> en los tratamientos BSP y B63, respectivamente. En la bebida de maíz morado estos valores de Mg oscilaron de 34.84 a 41.03 mg L<sup>-1</sup> en MSP y M73, respectivamente. Los análisis de varianza mostraron que no existe diferencia estadística ( $P \geq 0.05$ ) entre el tipo de bebida, ni entre tratamientos térmicos.

**Potasio (K).** En K los valores de 97.39 a 129.60 mg L<sup>-1</sup> en el análisis de varianza no mostraron diferencia estadística ( $P \geq 0.05$ ) entre el tipo de bebida ni en los tratamientos de cada bebida. Los valores en la bebida de maíz blanco variaron de 99.01 a 113.64 mg L<sup>-1</sup> en BSP y B63, y con respecto a la bebida de maíz morado se observaron valores que oscilaron entre 97.39 y 129.60 mg L<sup>-1</sup> en M85 y MSP, respectivamente.

**Sodio (Na).** Los resultados de Na con valores de 200.43 a 254.27 mg L<sup>-1</sup> en las bebidas de maíz blanco y morado no mostraron diferencia estadística entre tipo de bebida; en la bebida de maíz blanco los valores variaron de 211.21 a 221.85 mg L<sup>-1</sup> en BSP y B63, respectivamente, sin diferencia estadística entre tratamientos. En la bebida de maíz morado los resultados mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre los tratamientos con valores de oscilaron de 200.43 a 254.27 mg L<sup>-1</sup>, con el menor valor en el tratamiento M85 y el mayor en MSP.

**Fósforo (P).** El contenido de P en las bebidas de maíz con valores de 145.74 a 205.04 mg L<sup>-1</sup> fue estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) superior en la bebida de maíz blanco. El contenido de P en la bebida de maíz blanco mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) con el menor valor de 163.69 en el tratamiento de B85 y el mayor con 205.04 mg L<sup>-1</sup> para el tratamiento de BSP. En la bebida de maíz morado, los valores obtenidos variaron de 145.74 a 169.60 mg L<sup>-1</sup> en los tratamientos M63 y MSP, respectivamente, sin diferencia estadística entre los tratamientos.

**Azufre (S).** Los resultados de S con valores de 77.40 a 91.73 mg L<sup>-1</sup> obtenidos para en las bebidas de maíz blanco y morado no mostraron diferencia estadística ( $P \geq 0.05$ ) en el tipo de bebida ni tratamientos. En la bebida de maíz blanco los resultados fueron de 77.40 y 88.63 mg L<sup>-1</sup> en BSP y B73, respectivamente. En la bebida de maíz morado los valores fueron de 83.76 a 91.73 mg L<sup>-1</sup> en M85 y M73, respectivamente.

## Microelementos

El contenido de los microelementos cobre (Cu), hierro (Fe), zinc (Zn) y manganeso (Mg) (Cuadro 25), se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Niño-medina *et al.* (2014) con ligeras variantes.

**Manganeso (Mn).** El análisis de varianza mostró que no existe diferencia estadística en el contenido de Mn entre las bebidas de maíz blanco y morado con valores de 0.15 a 0.47 mg L<sup>-1</sup>. Asimismo, en los tratamientos de la bebida de maíz blanco tampoco se encontró diferencia estadística con valores que fluctuaron entre 0.23 y 0.47 mg L<sup>-1</sup> en B63 y BSP, respectivamente. Por otro lado, en la bebida de maíz morado el análisis mostró diferencia ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos con valores que oscilaron entre 0.15 y 0.36 mg L<sup>-1</sup>, el menor valor correspondió al tratamiento M63 y el mayor al M85.

**Cobre (Cu).** Con respecto al contenido de Cu con valores de 0.18 a 0.34 mg L<sup>-1</sup> en las bebidas de maíz (Cuadro 25) se observó un comportamiento similar que en Mn, no se encontró diferencia estadística entre bebidas ni tampoco en los tratamientos térmicos aplicados a la bebida de maíz blanco con valores de 0.23 a 0.31 mg L<sup>-1</sup> en los tratamientos BSP y B63. Sin embargo, en los tratamientos de la bebida de maíz morado los valores de 0.18 a 0.34 mg L<sup>-1</sup> con el menor valor en M73 y el mayor en MSP, mostraron que son diferentes ( $P \leq 0.05$ ) entre ellos.

**Zinc (Zn).** El contenido de Zn entre las bebidas de maíz blanco y morado no mostró diferencia estadística con valores que variaron entre 0.13 y 0.74 mg L<sup>-1</sup>. Sin embargo, en la bebida de maíz blanco el análisis de varianza mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos con valores que oscilaron entre 0.13 y 0.74 mg L<sup>-1</sup>, con el menor valor en el tratamiento M63 y el mayor en M73. Para la bebida de maíz morado también se encontró diferencia con valores de 0.25 a 0.72 mg L<sup>-1</sup> con el menor valor en M73 y el mayor en MSP.

**Fierro (Fe).** El contenido de Fe con valores de 2.11 a 3.87 mg L<sup>-1</sup> en las bebidas de maíz blanco y morado fue estadísticamente igual en el caso del tipo de bebida y entre los tratamientos de pasteurización. En la bebida de maíz blanco los valores fueron de 2.81 a 3.80 mg L<sup>-1</sup> en B63 y BSP, respectivamente, mientras que en morado fueron de 2.11 a 3.87 en M85 y MSP, respectivamente.

#### **4.2.3. Contenido nutracéutico**

##### **4.2.3.1. Contenido de compuestos polifenólicos totales**

Los CP con valores de 103.51 a 125.83 mg EAG L<sup>-1</sup> mostraron diferencia estadística en el tipo de bebida, con mayor valor en la bebida de maíz morado y en cada uno de los tratamientos aplicados a las bebidas. En la de maíz blanco variaron de 103.51 a 115.10 mg EAG L<sup>-1</sup> (Cuadro 26) el menor fue en el tratamiento BSP y el mayor en B85, respectivamente. En la bebida de maíz morado los valores variaron entre 103.51 y 125.83 mg EAG L<sup>-1</sup> con el menor valor en MSP y el mayor para M63, respectivamente.

Cuadro 25. Análisis de macroelementos y microelementos en bebidas de maíz blanco y morado.

Minerales	Bebida de maíz blanco				Bebida de maíz morado			
	BSP	B63	B73	B85	MSP	M63	M73	M85
mg L <sup>-1</sup>								
Macroelementos								
Ca	177.52±1.72 <sup>a</sup>	174.60±0.38 <sup>a</sup>	163.60±8.04 <sup>a</sup>	167.59±0.27 <sup>a</sup>	209.65±2.29 <sup>a</sup>	189.55±10.68 <sup>a</sup>	206.15±1.51 <sup>a</sup>	204.96±6.42 <sup>a</sup>
Mg	33.91±0.07 <sup>a</sup>	39.52±0.25 <sup>a</sup>	34.81±2.97 <sup>a</sup>	35.04±0.24 <sup>a</sup>	34.84±0.14 <sup>a</sup>	38.71±5.58 <sup>a</sup>	41.03±0.27 <sup>a</sup>	37.58±1.26 <sup>a</sup>
K	99.01±10.40 <sup>a</sup>	113.64±7.78 <sup>a</sup>	100.48±13.60 <sup>a</sup>	103.12±3.13 <sup>a</sup>	129.60±16.70 <sup>a</sup>	100.52±1.48 <sup>a</sup>	97.89±34.02 <sup>a</sup>	97.39±3.49 <sup>a</sup>
Na	211.21±8.46 <sup>a</sup>	221.85±1.61 <sup>a</sup>	221.30±2.87 <sup>a</sup>	214.92±0.11 <sup>a</sup>	254.27±10.41 <sup>a</sup>	226±.57±1.02 <sup>b</sup>	219.24±5.24 <sup>bc</sup>	200.43±1.32 <sup>c</sup>
P	205.04±4.70 <sup>a</sup>	179.28±10.96 <sup>ab</sup>	188.10±11.02 <sup>ab</sup>	163.69±2.00 <sup>b</sup>	169.60±8.51 <sup>a</sup>	145.74±4.53 <sup>a</sup>	149.39±7.15 <sup>a</sup>	160.97±16.77 <sup>a</sup>
S	77.40±10.43 <sup>a</sup>	86.06±1.27 <sup>a</sup>	88.63±2.21 <sup>a</sup>	84.51±1.09 <sup>a</sup>	86.83±1.30 <sup>a</sup>	91.73±0.57 <sup>a</sup>	87.41±0.57 <sup>a</sup>	83.76±5.08 <sup>a</sup>
Microelementos								
Mn	0.47±0.08 <sup>a</sup>	0.23±0.01 <sup>a</sup>	0.42±0.16 <sup>a</sup>	0.29±0.01 <sup>a</sup>	0.28±0.02 <sup>ab</sup>	0.15±0.01 <sup>b</sup>	0.19±0.07 <sup>b</sup>	0.36±0.01 <sup>a</sup>
Cu	0.23±0.03 <sup>a</sup>	0.31±0.02 <sup>a</sup>	0.26±0.06 <sup>a</sup>	0.25±0.01 <sup>a</sup>	0.34±0.01 <sup>a</sup>	0.26±0.01 <sup>ab</sup>	0.18±0.06 <sup>b</sup>	0.19±0.04 <sup>a</sup>
Zn	0.48±0.01 <sup>ab</sup>	0.13±0.06 <sup>b</sup>	0.74±0.21 <sup>ab</sup>	0.34±0.02 <sup>ab</sup>	0.72±0.09 <sup>a</sup>	0.57±0.04 <sup>a</sup>	0.25±0.03 <sup>b</sup>	0.56±0.02 <sup>a</sup>
Fe	3.80±0.14 <sup>a</sup>	2.81±0.27 <sup>a</sup>	2.95±0.52 <sup>a</sup>	2.99±0.40 <sup>a</sup>	3.87±0.22 <sup>a</sup>	2.96±0.48 <sup>a</sup>	3.64±0.72 <sup>a</sup>	2.11±0.34 <sup>a</sup>

Letras diferentes en las hileras del tipo de bebida indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar.

#### **4.2.3.2. Flavonoides y taninos condensados totales**

La concentración de FL totales (Cuadro 26) con valores de 41.58 a 72.58 mg EC L<sup>-1</sup> no mostro diferencia en el tipo de bebida. En la bebida de maíz blanco varió de 41.58 a 72.58 mg EC L<sup>-1</sup> el menor valor fue en BSP y el mayor valor en B63, respectivamente con diferencia entre tratamientos. En la bebida de maíz morado se encontró un rango entre 51.4 y 64.7 mg EC L<sup>-1</sup>, el menor valor fue para tratamiento MSP y el mayor en el tratamiento M85, respectivamente, con diferencia entre tratamientos. Los taninos condensados en las bebidas no fueron detectados.

#### **4.2.3.3. Cianidina3-glucósido**

La concentración de cianidina-3-glucósido (Cuadro 26) con valores de 1.02 a 1.28 mg EC3G L<sup>-1</sup> mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre tipo de bebida, con mayor contenido en la bebida de maíz morado. Los valores de la bebida de maíz blanco variaron entre 1.02 y 1.14 mg EC3G L<sup>-1</sup> y en la de maíz morado de 1.20 a 1.27 mg EC3G L<sup>-1</sup>, los análisis de varianza realizados a cada tipo de bebida no mostraron diferencia estadística entre tratamientos.

#### **4.2.4. Análisis cromatográfico (HPLC-DAD)**

##### **4.2.4.1. Compuestos polifenólicos**

##### **Estándares de compuestos polifenólicos**

Los estándares de compuestos polifenólicos utilizados para la curva de calibración para el análisis de la bebida de maíz, mostraron los tiempos de retención para ácido gálico en el minuto 4.81; 4-hidroxibenzoico, 13.39; catequina, 16.48 y 16.74;

clorogénico, 18.09; cafeico, 18.78; *p*-cumárico, 23.50; ferúlico, 25.58; sinápico, 26.54; quercetina, 34.41 a una longitud de onda de 280 nm (Figura 16).

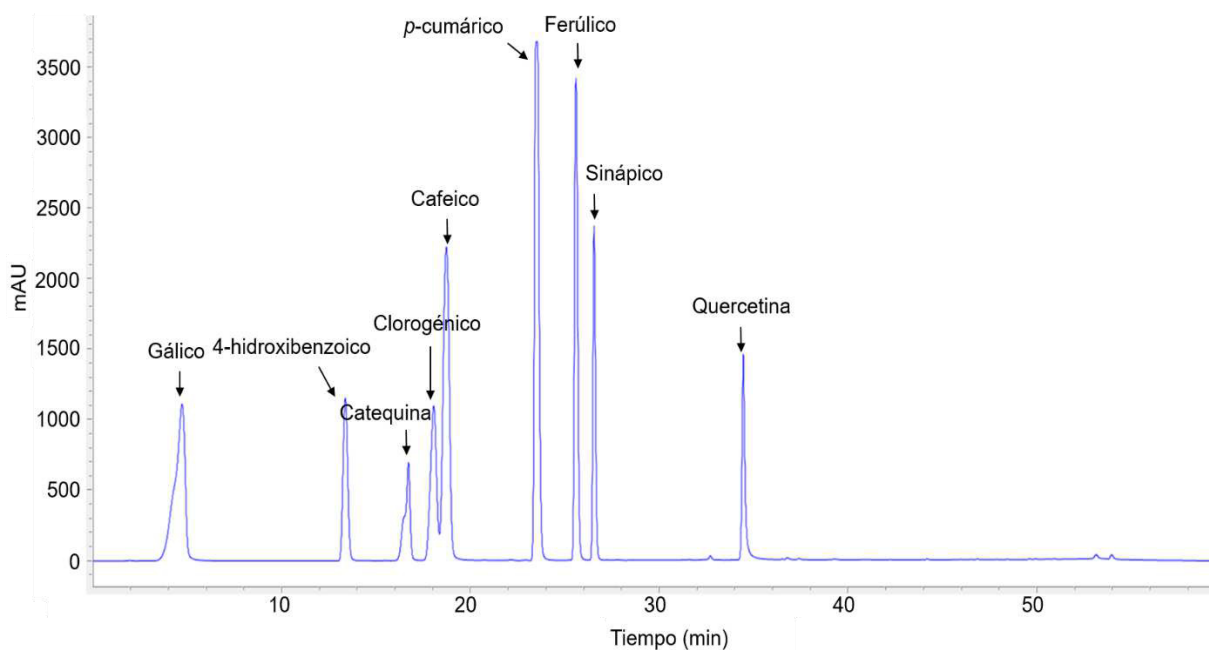


Figura 16. Cromatograma HPLC-DAD de mezcla de 9 estándares con la identificación de los picos y tiempo de retención a longitud de onda de 280 nm.

### Cuantificación de ácidos fenólicos

El ácido clorogénico sólo se detectó en los tratamientos sin pasteurizar y el análisis de varianza mostró diferencia ( $P \leq 0.05$ ) entre bebidas (Cuadro 27), el menor valor del ácido se encontró en la bebida de maíz blanco con un valor de 20.29 y el mayor en la bebida de maíz morado con un valor de 37.14 mg L<sup>-1</sup>.

Los valores de ácido cafeico entre 13.85 y 33.26 detectados sólo en los tratamientos a 63, 73 y 85 °C mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre tipo de bebida, con los mayores valores para la bebida de maíz morado. En la bebida de maíz blanco los valores fluctuaron entre 13.85 y 17.13 mg L<sup>-1</sup> sin diferencia estadística

( $P \geq 0.05$ ) entre tratamientos, mientras que para la bebida de maíz morado, los tratamientos mostraron diferencia con valores que oscilaron entre 27.38 a 33.26 con el menor en M63 y el mayor en M85, respectivamente.

El contenido de ácido ferúlico, con valores entre 34.70 y 49.74 mostró diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre el tipo de bebida y los tratamientos. El mayor contenido de ácido se encontró en la bebida de maíz blanco cuyos valores fluctuaron entre 45.77 y 49.74 mg L<sup>-1</sup>, con el menor valor en el tratamiento BSP y el mayor en B73, respectivamente. En la bebida de maíz morado los valores fluctuaron entre 34.70 y 40.57 mg L<sup>-1</sup>, el menor valor fue en M73 y el mayor en M85, respectivamente. En ambas bebidas los tratamientos sin pasteurizar mostraron el menor valor de ácido ferúlico.

#### **4.2.5. Capacidad antioxidante**

##### **4.2.5.1. DPPH**

La capacidad antioxidante DPPH (Cuadro 28) con valores de 163.67 a 384.78 fueron mayores en la bebida de maíz morado. La bebida de maíz blanco mostró valores que variaron entre 163.67 y 267.56  $\mu\text{mol ET L}^{-1}$  con diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos, el menor valor correspondió al tratamiento BSP y el mayor al B85, respectivamente. En la de maíz morado, los resultados mostraron una variación entre 312.00 y 384.78  $\mu\text{mol ET L}^{-1}$ , los menores valores se encontraron en el tratamiento MSP y M73 y el mayor valor en el M85, respectivamente, con diferencia estadística entre tratamientos.

Cuadro 26. Contenido de compuestos polifenólicos en bebidas de maíz con procesos de pasteurización.

Parámetros	Bebida de maíz blanco				Bebida de maíz morado			
	BSP	B63	B73	B85	MSP	M63	M73	M85
CP mg EAG L <sup>-1</sup>	103.51±2.99 <sup>b</sup>	108.93±3.71 <sup>b</sup>	106.73±2.29 <sup>b</sup>	115.10±1.44 <sup>a</sup>	103.51±3.56 <sup>b</sup>	125.83±2.23 <sup>a</sup>	124.53±2.23 <sup>a</sup>	124.36±6.14 <sup>a</sup>
FL mg EC L <sup>-1</sup>	41.58±4.22 <sup>c</sup>	72.58±7.61 <sup>a</sup>	58.08±2.17 <sup>b</sup>	70.25±4.73 <sup>a</sup>	51.41±5.79 <sup>b</sup>	56.75±8.46 <sup>ab</sup>	57.58±6.37 <sup>ab</sup>	64.75±8.09 <sup>a</sup>
TC mg EC L <sup>-1</sup>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
AT mg EC3G L <sup>-1</sup>	1.14±0.16 <sup>a</sup>	1.05±0.20 <sup>a</sup>	1.10±0.19 <sup>a</sup>	1.02±0.21 <sup>a</sup>	1.20±0.17 <sup>a</sup>	1.28±0.21 <sup>a</sup>	1.26±0.13 <sup>a</sup>	1.27±0.14 <sup>a</sup>

Letras diferentes en las hileras del tipo de bebida indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar. ND = no detectado.

#### 4.2.5.2. ABTS

En la capacidad antioxidante ABTS con valores que fluctuaron entre 367.18 y 511.90 en las bebidas de maíz, mostraron diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre el tipo de bebida y los tratamientos, siendo mayor en la bebida de maíz morado. Los valores de la bebida de maíz blanco variaron entre 367.18 y 455.90 y en maíz morado los valores fluctuaron entre 423.18 y 511.90  $\mu\text{mol ET L}^{-1}$  (Cuadro 28). El comportamiento de los tratamientos en ambas bebidas fue similar. Los menores valores de capacidad antioxidante se obtuvieron en las bebidas con pasteurización a 85 °C B85 y M85, y los mayores en las bebidas sin pasteurizar BSP y MSP.

#### 4.2.5.3. FRAP

Los resultados de capacidad antioxidante FRAP (Cuadro 28) en las bebidas de maíz variaron entre 815.00 y 1566.67, siendo estadísticamente mayores en la bebida de maíz morado y diferentes entre los tratamientos. En la bebida de maíz blanco, los valores estuvieron entre 815.00 y 1283.33  $\mu\text{mol ET L}^{-1}$ , con el menor valor en el tratamiento BSP y el mayor en B85, respectivamente. En la bebida de maíz morado los resultados oscilaron entre 1093.33 y 1566.67  $\mu\text{mol ET L}^{-1}$  con el menor valor en MSP y el mayor en M85, respectivamente. En ambas bebidas se observó un comportamiento similar al aumentar la capacidad antioxidante con el incremento de la temperatura.

Cuadro 27. Cuantificación de ácidos fenólicos en bebida de maíz.

Parámetros	Bebida de maíz blanco				Bebida de maíz morado			
	BSP	B63	B73	B85	MSP	M63	M73	M85
	$\text{mg L}^{-1}$							
Clorogénico	20.29±1.25 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	37.14±3.77 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
Cafeico	ND	13.85±1.82 <sup>a</sup>	17.13±1.50 <sup>a</sup>	16.46±0.96 <sup>a</sup>	ND	27.93±1.98 <sup>b</sup>	29.38±0.79 <sup>b</sup>	33.26±0.44 <sup>a</sup>
Ferúlico	45.77±1.07 <sup>b</sup>	49.52±0.21 <sup>a</sup>	49.74±2.32 <sup>a</sup>	48.90±0.41 <sup>ab</sup>	36.46±0.55 <sup>b</sup>	35.72±2.05 <sup>b</sup>	34.70±1.95 <sup>b</sup>	40.57±0.68 <sup>a</sup>

Letras diferentes en las hileras del tipo de bebida indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar. ND = no detectado.

Cuadro 28. Capacidad antioxidante en bebida de maíz con procesos de pasteurización.

Parámetros	Bebida de maíz blanco				Bebida de maíz morado			
	BSP	B63	B73	B85	MSP	M63	M73	M85
	$\mu\text{mol ET L}^{-1}$							
DPPH	163.67±6.01 <sup>c</sup>	241.44±5.09 <sup>b</sup>	254.22±3.47 <sup>b</sup>	267.56±5.09 <sup>a</sup>	312.00±11.66 <sup>b</sup>	360.89±10.71 <sup>a</sup>	313.11±9.17 <sup>b</sup>	384.78±6.30 <sup>a</sup>
ABTS	455.90±32.00 <sup>a</sup>	433.54±35.80 <sup>a</sup>	435.54±33.66 <sup>a</sup>	367.18±37.10 <sup>b</sup>	511.90±12.68 <sup>a</sup>	454.63±47.35 <sup>ab</sup>	448.63±41.70 <sup>ab</sup>	423.18±41.41 <sup>b</sup>
FRAP	815.00±25.00 <sup>c</sup>	1176.67±40.41 <sup>b</sup>	1216.67±25.17 <sup>ab</sup>	1283.33±55.75 <sup>a</sup>	1093.33±85.20 <sup>b</sup>	1478.33±58.38 <sup>a</sup>	1530.00±13.23 <sup>a</sup>	1566.67±80.36 <sup>a</sup>

Letras diferentes en las hileras del tipo de bebida indican diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Media  $\pm$  desviación estándar.

#### 4.2.6. Análisis sensorial

El análisis sensorial realizado a las bebidas de maíz morado (Figura 17) no mostró diferencia estadística ( $P \geq 0.05$ ), lo que nos indica que no hubo diferencia en las características organolépticas de las bebidas por el nivel de preferencia, por lo que, podemos asumir que los tratamientos térmicos de pasteurización aplicados a las bebidas de maíz no alteran el sabor.

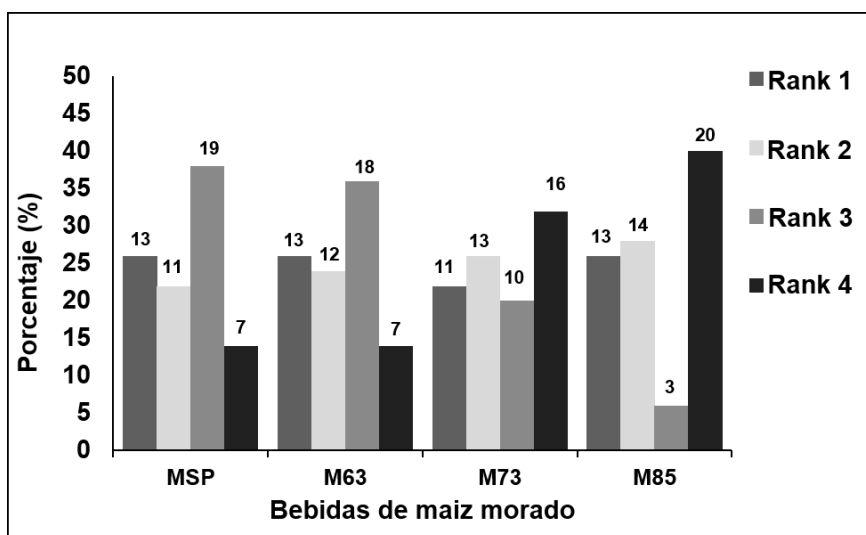


Figura 17. Niveles de preferencia de bebida de maíz morado.

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1. Color del grano

Los valores en las coordenadas cromáticas de luminosidad ( $L^*$ ), cromaticidad ( $C^*$ ) y hue ( $h$ ) en el grano de los genotipos de maíz variaron con el color del grano. Para los valores de  $L^*$  diversos autores (Yang y Zahi, 2010; Salinas-Moreno *et al.*, 2012b) mencionaron que la  $L^*$  en maíces claros (amarillo y blanco) son altos debido a la claridad de su color y reflectancia de luz, y en maíces oscuros (morado, pinto y rojo) la  $L^*$  es menor debido a que reflejan menos la luz; para  $C^*$  los resultados en las variedades MMB, MLAS, PLSI concuerdan con lo reportado por Yang y Zahi (2010) y Salinas-Moreno *et al.* (2012b), quienes reportaron valores promedio de 12.00. En el resto de los maíces morados nuestros resultados fueron menores y en el rojo, amarillo y blanco fueron mayores. Los valores de  $h$  que están relacionados con la percepción visual del color (Salinas-Moreno *et al.*, 2012b), los maíces mostraron valores de 14.36 hasta 359.19, los valores bajos que variaron de 14.36 a 38.35 su tonalidad corresponde a un color rojo, los valores que van de 45.24 a 77.71 a color naranja y los de 352.90 a 359.19 a color rosa.

### 5.1.1. Color de la harina

Los valores en las coordenadas cromáticas de  $L^*$ ,  $C^*$  y  $h$  en la harina de los genotipos de maíz a diferencia del grano presentó colores claros y como consecuencia mayor luminosidad. Los resultados encontrados son superiores a los de Moreira *et al.* (2015) quienes reportaron valores de 51.82 a 69.49 para maíces de color, asimismo en  $L^*$  el valor en harina del maíz blanco TRB fue superior a lo reportado por Bolade y Adeyemi (2012), quienes reportaron valores que variaron de 67.7 a 71.8. En valores de  $C^*$  los resultados encontrados son similares a los reportados por Moreira *et al.* (2015), con valores de  $C^*$  de 34.15 en maíz amarillo 10.37 en maíz blanco y 3.37 a 6.77 en maíz de color. En el ángulo  $h$  las variedades registraron valores de 19.63 a 87.05. Los valores más bajos que van de 19.63 hasta 37.40 corresponden al color rojo y los valores más altos que van de 46.80 hasta 87.03 corresponden al color naranja (Salinas-Moreno *et al.* 2012b).

### 5.1.2. Calidad nutricional

El porcentaje de humedad en la harina es bajo y esto favorece a su conservación, ya que por la baja actividad del agua no existe peligro de contaminación por microorganismos. El contenido de ceniza en los maíces fue mayor en los morados, por lo que se puede establecer que su consumo aporta mayor contenido de minerales (Cuadro 29). Estos resultados de humedad y ceniza en las variedades concuerdan con los valores reportados por Bello-Pérez *et al.* (2016) y Camelo-Méndez *et al.* (2017) con un promedio de 8.4 y 1.4 %, respectivamente.

Cuadro 29. Ingesta diaria recomendada de consumo de minerales para una persona adulta de promedio 70 kg de peso.

Mineral	IDR mg día <sup>-1</sup>
Proteína	56000
Carbohidratos	130000
Fibra	25000
Potasio (K)	4700
Sodio (Na)	2400
Calcio (Ca)	800
Azufre (S)	800
Fósforo (P)	700
Magnesio (Mg)	350
Zinc (ZN)	9.4
Hierro (Fe)	6
Manganeso (Mn)	2
Cobre (Cu)	0.7

Fuente: Mir-Marqués *et al.* (2012); FAO/WHO (2005).

En cuanto al contenido de carbohidratos, son requeridos diariamente 130000 mg o 130 g y el consumo de 100 g de harina de maíz equivaldría al consumo promedio de 73000 mg o 73 g, por lo que la harina de maíz aporta un 56% de los carbohidratos requeridos por día (Cuadro 29). El aporte de fibra recomendado diariamente es de 25000 mg o 25 g y el consumo de 100 g de harina de maíz contienen en fibra 1.5%, lo que equivale al 6.4% del consumo de fibra sugerido por día (FAO/WHO, 2005). En fibra cruda nuestros resultados concuerdan con Nuss y Tanumihardjo (2010) y Sumczynski *et al.* (2015) con un promedio de 2 %. Por otro lado, en el porcentaje de carbohidratos Bello-Pérez *et al.* (2016) y Camelo-Méndez *et al.* (2017) mencionaron que los carbohidratos del grano de maíz constituidos de almidón se encuentran en mayor proporción en el endospermo en una concentración promedio de 80 %. Además, las variaciones de nuestros resultados en las variedades de maíces de color se

explican por estos mismos autores debido a la variabilidad genética, que influye en la composición química del grano de maíz

La ingesta diaria recomendada de proteína oscila entre los 56000 mg o 56 g por día y el consumo de 100 g de harina de los genotipos de maíz analizados en este estudio en promedio aporta 12.4 %, lo que equivaldría a 12400 mg o 12.4 g, lo que da un aporte del 22 % de la ingesta diaria recomendada. Nuestros valores son comparables a los reportados por Vázquez *et al.* (2010) y Bello-Pérez *et al.* (2016), quienes reportaron porcentajes que van de 6.9 a 12.5 % de proteína en diferentes variedades nativas de maíz.

En cuanto al porcentaje de grasa, la harina de maíz aporta ácidos grasos insaturados, entre los que se encuentran antioxidantes naturales como la vitamina A y E. Además, el mayor contenido de grasa se observó en el maíz blanco, lo que concuerda con Vázquez *et al.* (2010), quienes mencionaron que los maíces de color blanco son los más utilizados en la elaboración de tortillas y en la extracción de aceite, debido a que su mayor contenido de grasa favorece la textura en las tortillas y calidad nutricional. Los valores de grasa de los genotipos concordaron con los reportados por Salinas-Moreno *et al.* (2013); Bello-Pérez *et al.* (2016) y Camelo-Méndez *et al.* (2017) con valores del 3.7 a 5.6 %.

## Minerales

El consumo de 100 g de harina de maíz aportaría en promedio de potasio 341.70 mg, lo que equivaldría al 38 % de la ingesta diaria recomendada (IDR). El promedio de sodio 43 mg equivale al 1.79 %, calcio con 29.7 mg equivale al 3.7 %, azufre 2.1 mg equivale al 0.2 %, con respecto al fósforo 499.3 mg equivale al 71.3 %, el magnesio con promedio de 133.4 mg equivale al 38.1 %, el zinc con 37 mg equivale al 39 %, el hierro 1.8 mg con un 29.8 %, el manganeso con 0.54 mg al 27 % y cobre con 0.3 mg equivale al 43.1% de la IDR.

El contenido de Mg de los genotipos de maíz concuerda con Nuss y Tanumihardjo (2010) y Kahrıman *et al.* (2015) con un contenido de 138.78 mg 100 g<sup>-1</sup> y difieren de Shah *et al.* (2010) con 113.32 mg 100 g<sup>-1</sup> en maíces nativos. Para Ca, K y Na se concordó con algunos autores (Shah *et al.*, 2010; Nuss y Tanumihardjo, 2010; Sokrab *et al.*, 2014; Obinna-Echem *et al.*, 2015) con valores promedio de 27.31, 315 y 31.5 mg 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente. En cuanto a P y S los valores obtenidos fueron mayores a los reportados por autores (Shah *et al.*, 2010; Sokrab *et al.*, 2014; Suri *et al.*, 2016; Klikocka *et al.*, 2016), quienes reportan valores promedio de 260 mg 100 g<sup>-1</sup> y 1.2 mg 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente.

En cuanto al contenido de microelementos los resultados de Cu, Fe, Zn y Mn concuerdan con diversos autores (Sokrab *et al.*, 2014; Obinna-Echem *et al.*, 2015; Suri *et al.*, 2016; Prasanthi *et al.*, 2017), quienes reportaron valores promedio de 0.11 a 0.45, 2, 3.5 y 0.56 mg 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente. Estas variaciones de minerales entre los genotipos pueden explicarse con lo mencionado por Salinas-Moreno *et al.* (2013)

y Bello-Pérez *et al.* (2016) quienes mencionaron que la genética afecta la composición química del grano.

Los resultados de los genotipos morados mostraron que en estos se encontraron los menores contenidos de fósforo y entre los más altos de carbohidratos y minerales como calcio, potasio, sodio, cobre, zinc y manganeso. Los genotipos pintos obtuvieron altos valores de carbohidratos, y minerales como calcio, sodio, fosforo y cobre. Los genotipos de color rojo y amarillo mostraron los menores valores de carbohidratos y los mayores de proteína; el genotipo de maíz blanco mostró los menores valores de proteína, y minerales como Mg, Na, y Mn y los mayores de grasa y minerales como Ca, Fe y Zn. Con base en estos contenidos podemos mencionar que el maíz es fuente de nutrientes esenciales en la nutrición humana, ya que es fuente rica de K, P, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, proteína y un alto contenido de carbohidratos, y gracias a la caracterización los genotipos y su variación del contenido nutricional estos pueden ser utilizados en futuras pruebas para la generación de nuevas variedades o materiales híbridos.

### **5.1.3. Calidad nutracéutica**

El mayor contenido de compuestos polifenólicos se encontró en los extractos ligados, esto se debe a un efecto natural en cereales, y a que la mayoría de los compuestos polifenólicos se encuentran esterificados a las paredes de las células vegetales (Salinas-Moreno *et al.*, 2007; Serna-Saldívar *et al.*, 2013; Taylor *et al.*, 2013; Acosta-Estrada *et al.*, 2014). Los resultados aquí encontrados, son similares a las reportados por Salinas-Moreno *et al.* (2012b) y Lao *et al.* (2017) con valores reportados

de 145.24 a 175.6 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> en extractos libres; en extractos ligados, los resultados concuerdan con lo reportado por Salinas-Moreno *et al.* (2007) y Oboh *et al.* (2010) quienes reportaron valores de 249.22 a 320.62 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> en extractos ligados. En flavonoides se concordó con lo reportado por diversos autores (Žilić *et al.*, 2012; Taylor *et al.*, 2013; González-Muñoz *et al.*, 2013; Acosta-Estrada *et al.*, 2014), quienes obtuvieron concentraciones de 24.86 a 33.75 mg EC 100 g<sup>-1</sup>.

En antocianinas, los resultados encontrados son superiores a lo reportados por Mendoza-Díaz *et al.*, (2012) y Serna-Saldívar *et al.*, (2013) con valores de 0.57 a 1.74 mg EC3G 100 g<sup>-1</sup>; el maíz blanco con 1.38 mg EC3G 100 g<sup>-1</sup> concordando con Serna-Saldívar *et al.* (2013) quienes encontraron 1.30 mg EC3G 100 g<sup>-1</sup> de antocianinas en maíz blanco y a su vez es diferente de Mendoza-Díaz *et al.*, (2012) quienes reportaron ausencia de antocianinas en maíz blanco; en los maíces morados, pintos y rojo los valores encontrados en cuanto al contenido de antocianinas concuerda con diversos autores (Yang y Zhai, 2010; Salinas-Moreno *et al.*, 2012ab; Mendoza-Díaz *et al.*, 2012, Serna-Saldívar *et al.*, 2013) los cuales reportan valores que van de 9.75 hasta 90.40 mg EC3G 100 g<sup>-1</sup>.

**Correlación de antocianinas totales con variables cromáticas.** El contenido de antocianinas totales mostró una correlación significativa entre los valores de  $h$  y  $L^*$  en la harina con  $r = -0.78$  y  $-0.75$ , respectivamente (Cuadro 30); esto indica que, mientras menores sean los valores  $h$  y  $L^*$  mayores valores de antocianinas son encontrados. Los resultados coinciden con Žilić *et al.* (2012) y Salinas-Moreno *et al.*

(2013) quienes encontraron una relación similar en cuanto a parámetros de color y el contenido de antocianinas.

Los taninos condensados totales (TC) sólo fueron detectados en los extractos libres, los valores de las concentraciones encontradas concuerdan con lo reportado por Khattab *et al.* (2010), Kaur *et al.* (2011) y con Taylor *et al.* (2013) en cereales de color, cuyos valores en las concentraciones variaron de 75.00 a 153.00 mg 100 g<sup>-1</sup>, además, estos autores mencionaron que la concentración de TC en cereales representa un alto porcentaje de los compuestos polifenólicos en el grano. Entre los maíces PLSI, AM y TRB no se detectaron TC, al igual que en todas las muestras de TC ligados. La ausencia de TC en extractos ligados se explica con lo reportado por Ricco *et al.* (2006) y Vázquez-Flores *et al.* (2012), quienes mencionaron que, debido a la naturaleza química de los TC, estos pueden ser extraídos por disolventes orgánicos como: agua, metanol, etanol, acetona, etc., sin necesidad de realizar una hidrólisis alcalina y por tanto se obtiene su presencia solo en los extractos libres y ausencia en los extractos ligados.

**Correlación de antocianinas, taninos condensados y flavonoides.** El análisis de correlación presentó significancia con el contenido de antocianinas con TC libres y FL libres con una  $r = 0.91$  y  $0.82$ , respectivamente (Cuadro 30). Esta correlación concordó con algunos autores (Pozo-Insfran *et al.*, 2007; Hu y Xu, 2011; Žilić *et al.*, 2012) quienes mencionaron que en maíz de color existen compuestos polifenólicos en forma libre.

Cuadro 30. Correlación lineal entre el contenido de antocianinas (AT), parámetros de color, compuestos polifenólicos totales (CP) flavonoides (FL), taninos condensados (TC) y capacidad antioxidante.

	AT	L* grano	C* grano	h grano	L* harina	C* harina	h harina	CP libres	CP ligados	FL libres	FL ligados	TC	DPPH libres	DPPH ligados	ABTS libres	ABTS ligados	FRAP libres	FRAP ligados	ORAC libres	
L* grano	-0.48**																			
C* grano	-0.54**	0.59**																		
h grano	0.47**	0.50**	0.26																	
L* harina	-0.75**	-0.49**	0.53**	-0.06																
C* harina	-0.59**	-0.34	0.80**	-0.18	0.566**															
h harina	-0.78**	-0.60**	0.27	-0.14	0.738**	0.536**														
CP libres	0.61**	-0.21	-0.13	0.24	-0.439*	0.044	-0.369*													
CP ligados	0.39*	0.09	-0.23	0.54**	-0.127	0.049	0.005	0.459*												
FL libres	0.83**	-0.59**	-0.58**	0.23	-0.751**	-0.605**	-0.692**	0.444*	0.219											
FL ligados	0.01	-0.03	-0.15	0.23	-0.085	0.072	0.116	0.250	0.493**	-0.138										
TC libres	0.92**	-0.53**	-0.35	0.38*	-0.701**	-0.538**	-0.894**	0.502**	0.156	0.786**	-0.133									
DPPH libre	0.60**	-0.01	-0.31	0.43**	-0.244	-0.155	-0.373*	.674**	0.358	0.385*	-0.062	0.526**								
DPPH ligados	0.37*	0.06	-0.09	0.26	-0.101	-0.004	-0.199	.229	0.649**	0.384*	-0.176	0.293	.228							
ABTS libres	0.80**	-0.30	-0.20	0.49**	-0.568**	-0.269	-0.610**	.808**	0.471**	0.533**	0.268	0.742**	.731**	.237						
ABTS ligados	0.22	0.116	-0.08	0.34	0.044	0.179	.078	.301	0.713**	0.192	0.146	0.104	.065	.815**	.253					
FRAP libres	0.87**	-0.18	-0.31	0.50**	-0.0493**	-0.338	-0.602**	.660**	0.573**	0.729**	-0.029	0.773**	.761**	.619**	.778**	.427*				
FRAP ligados	0.04	0.31	0.12	0.42**	-0.166	0.410*	0.191	.134	0.777**	-0.040	0.350	-0.086	-.048	.692**	.117	.800**	.287			
ORAC libres	0.49*	-0.46**	-0.11	-0.11	-0.467**	-0.154	-0.448**	0.430**	0.200	0.642**	-0.300	0.480**	0.230	0.649**	0.312	0.487**	0.558**	0.160		
ORAC ligados	-0.138	0.13	-0.28	-0.28	0.131	0.079	0.199	-0.030	0.052	-0.240	-0.164	-0.244	-0.103	0.288	-0.140	0.300	-0.121	0.077	0.243	

\*Significancia ( $P \leq 0.05$ ); \*\*significancia ( $P \leq 0.01$ )

### **Análisis cromatográfico (HPLC-DAD)**

En las muestras analizadas de los extractos libres de los genotipos de maíz no se identificaron compuestos polifenólicos que concordaran con los estándares utilizados, en los extractos ligados sólo se identificaron los ácidos *p*-cumárico y ferúlico. Los resultados obtenidos en la cuantificación de los ácidos *p*-cumárico y ferúlico concuerdan con Cuevas *et al.* (2011) y Salinas-Moreno *et al.* (2003), quienes reportan que en maíces pigmentados los dos ácidos dominantes son el *p*-cumárico en concentraciones que pueden variar de 12.3 a 107 mg 100 g<sup>-1</sup> y ferúlico en concentraciones promedio de 136.65 mg 100 g<sup>-1</sup>, recalcando que estos valores pueden variar dependiendo del genotipo. Estos mismos autores reportaron que el método de extracción es importante, debido a que los compuestos polifenólicos como el ácido ferúlico se encuentra principalmente esterificado a las paredes celulares o de forma glucosilada y formando complejos fenólicos como dímeros y trímeros, por lo que, es necesaria una hidrólisis alcalina fuerte para cuantificarlos de una manera eficiente. Por otro lado, Santos *et al.* (2014) mencionaron que también la disponibilidad de los diversos compuestos polifenólicos está influenciada por la genética y el periodo de almacenaje

Las antocianinas totales sólo se detectaron en los extractos de los maíces pigmentados, por otro lado, las antocianinas glucosiladas identificadas en los cromatogramas de los genotipos de maíz concuerdan en el orden de detección con los reportados por Lao y Guisti (2016) y Guisti (comunicado personal). La variación en los tiempos de retención se debe principalmente a las modificaciones en la técnica y las condiciones utilizadas en la que influye la longitud de la columna utilizada en este

estudio. Por otro lado, con respecto al contenido de C3G en los genotipos de maíz analizados los valores que fluctuaron entre 1.24 y 10.75 mg EC3G 100 g<sup>-1</sup>; estos resultados concuerdan con diversos autores (de Pascual-Teresa *et al.*, 2002; Lopez-Martinez *et al.*, 2009; Žilić *et al.*, 2012; Lao y Guisti, 2016), quienes reportaron que los valores de C3G en el grano de maíz de color presentan variaciones que oscilan entre los 0.25 hasta 850.90 mg EC3G 100 g<sup>-1</sup> siendo esta antocianina una de las predominantes. La diferencia del presente trabajo con los autores citados es que ellos reportan el conjunto áreas de todos los picos encontradas en los cromatogramas de las diferentes antocianinas a diferencia de este trabajo que sólo cuantificó el contenido de C3G con respecto al estándar utilizados.

#### **5.1.4. Capacidad antioxidante**

Nuestros resultados en capacidad antioxidante por DPPH, ABTS y FRAP concuerda con Žilić *et al.* (2012) y González-Muñoz *et al.* (2013) que reportaron que la mayor actividad antioxidante se observó en el extracto ligado. Sin embargo, en ORAC se observó el efecto contrario, esto se puede explicar con lo mencionado por Lao y Giusti (2016) quienes declaran que las antocianinas son una fuente rica en antioxidantes y como se encuentran de forma libre brindan una mejor capacidad antioxidante por el método ORAC.

En estudios de capacidad antioxidante por el método DPPH, los resultados obtenidos en los extractos libres son diferentes a los reportados por González-Muñoz *et al.* (2013) con valores de 31.9 a 171.1, pero concuerdan con estos mismos autores para extractos ligados con 471.1 a 923.0  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$ . En ABTS los valores son

más altos a los reportados por González-Muñoz *et al.* (2013) con valores que variaron de 76.9 a 343.8 en extractos libres y 1095.7 a 1696.4  $\mu\text{mol}/\text{ET } 100 \text{ g}^{-1}$  extractos ligados. En FRAP los resultados obtenidos en extractos libres concuerdan con los reportados por Oboh *et al.* (2010) con valores medios de 1294 calculados en  $\mu\text{mol EAA } 100 \text{ g}^{-1}$  (equivalentes de ácido ascórbico), Rodríguez *et al.* (2013) con valores 1292.10 y Capocchi *et al.* (2017) con 517.0  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$ ; en ORAC los resultados son mayores a los reportados por Urias-Lugo *et al.* (2014) y Urías-Orona *et al.* (2016) con 2032 y 1050  $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$  respectivamente, en total de la suma de extractos libres y ligados.

## 5.2. Bebidas de maíz

### 5.2.1. Color del grano y harina

Los valores de las coordenadas cromáticas de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  y  $h$  obtenidos en el análisis de color del grano y harina de maíz blanco morado antes y después del tostado muestran que existe un oscurecimiento en el color del grano y la harina efecto producido por el tostado; este efecto produce un aumento en las melanoidinas, las cuales se generan como producto de la reacción de Maillard, las cuales se definen como un oscurecimiento no enzimático ocasionado por la caramelización de los azúcares que indica la presencia de glucosa o sacarosa en la muestra (Krings y Berger 2001; Tacora *et al.*, 2010; Pérez-Hernández *et al.*, 2012).

### 5.2.2. Color en bebidas

La  $L^*$  en las bebidas de maíz blanco y morado mostraron para ambas bebidas que la luminosidad disminuyó con el incremento de la temperatura. Además, los valores de  $a^*$  en las bebidas de maíz blanco y morado se incrementaron al subir la temperatura y en la de morado, sólo se observó que disminuyó en el tratamiento M63. En cuanto a los valores de  $b^*$  y  $C^*$  en la bebida de maíz blanco no se afectaron por la temperatura de pasteurización y en el maíz morado se observó que estos valores disminuyeron con el incremento de la temperatura. En el ángulo  $h$  fueron encontradas diferencias estadísticas y se observó que su valor disminuyó al aumentar la temperatura en ambas bebidas de maíz. Los resultados de oscurecimiento después de los tratamientos de calentamiento se deben a la reacción de Maillard, que como es descrita por Salinas-Moreno *et al.* (2007), esta se debe a que, en productos alimenticios sometidos a tratamientos térmicos, pueden presentar oscurecimiento, esta reacción se debe a una reacción química entre azúcares reductores como la D-glucosa con un aminoácido libre. Asimismo, estos autores declaran que existe poca relación entre el oscurecimiento debido a compuestos polifenólicos en productos derivados de maíz.

### 5.2.3. Calidad de las bebidas

#### 5.2.3.1. Parámetros fisicoquímicos

Los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos indicaron que los tratamientos térmicos de pasteurización térmico aplicados a la bebida no representan un efecto en la alteración de los °Brix, pH y acidez titulable, por lo que se puede mencionar que los tratamientos no tienen efecto en estas variables, estos resultados

concuerdan con algunos autores como: Yusof y Chiong (1997), Suárez-Jacobo *et al.* (2010) y Zulueta *et al.* (2012), quienes reportaron que los tratamientos térmicos no afectaban las variables fisicoquímicas de °Brix, pH y acidez titulable.

#### **5.2.3.2. Análisis microbiológicos**

Los resultados de análisis microbiológicos en las bebidas de maíz blanco y morado mostraron que los procesos de pasteurización con temperaturas de 63, 73 y 85 °C hubo inactivación total de los microorganismos, los cuales fueron detectados en el tratamiento control obteniendo una letalidad igual y/o mayor a la encontrada de mesófilos aerobios, lactobacilos y enterobacterias. Por otro lado, los hongos, levaduras y esporas no fueron detectados en ninguno de los tratamientos. Estos resultados demuestran que el tratamiento térmico en cualquiera de sus variantes tiene un efecto letal en los microorganismos de la bebida, y como es mencionado por Suárez-Jacobo *et al.* (2010) y Rico *et al.* (2007), que los tratamientos térmicos como la pasteurización son efectivos para la conservación e inactivación de microorganismo patógenos y microorganismos responsables del deterioro de los alimentos.

#### **5.2.4. Calidad nutricional**

El contenido de los macroelementos (Ca, Mg, K, Na, P y S) y microelementos (Mn, Cu, Zn y Fe) demuestra que la bebida de maíz es una excelente fuente de minerales, los cuales son esenciales como ingesta diaria y como parte importante de la nutrición humana porque son elementos inorgánicos requeridos para la regulación de los procesos metabólicos, función estructural y bioquímicas en el organismo (Pedro *et al.*, 2006; Mir-Marqués *et al.*, 2012; Obinna-Echem *et al.* 2015).

### **5.2.5. Calidad nutracéutica**

#### **Compuestos polifenólicos totales**

Los valores de los compuestos polifenólicos totales en las bebidas aumentaron de 103.51 a 125.83 mg EAG L<sup>-1</sup> con el incremento de la temperatura, estos resultados son atribuidos a que los tratamientos térmicos generan la hidrólisis de compuestos polifenólicos ligados a la pared celular, como el ácido ferúlico, por otro lado, también se atribuye a la reacción de Maillard, ya que tiene un efecto importante en los alimentos que se exponen a procesos térmicos, ya que los azúcares reductores presentes en estos alimentos al unirse a los aminoácidos libres, generan melanoidinas (Krings y Berger, 2001; Oboh *et al.*, 2010). Las melanoidinas, son sustancias que pueden incrementar la detección de compuestos polifenólicos totales debido a que son compuestos capaces de ceder electrones y con alto poder antioxidante (Tacora *et al.*, 2010; Pérez-Hernández *et al.*, 2012).

#### **Flavonoides totales**

El incremento del contenido FL de 41.58 a 72.58 mg EC L<sup>-1</sup> en las bebidas es explicado con lo reportado por Caristi *et al.* (2006) y Gattuso *et al.* (2007), quienes explicaron que los flavonoides pueden encontrarse de forma glucosilada, lo que impide que sean detectados por los métodos comunes de cuantificación, por lo que un proceso de hidrólisis como en este caso un tratamiento térmico con alta temperatura, genera una solubilización o hidrólisis de los azúcares lo que permite que los flavonoides sean identificados.

### **Antocianinas totales**

Los resultados obtenidos en AT de 1.02 a 1.28 mg EC3G L<sup>-1</sup> no mostraron diferencia estadística entre tratamientos de cada una de las bebidas de maíz, las bajas concentraciones de antocianinas pueden deberse a la dilución de la harina de maíz en la bebida. Sin embargo, a pesar de la dilución, fueron identificadas en bajas concentraciones o los tratamientos térmicos las hayan degradado, esto es explicado por autores quienes reportaron que las antocianinas de bebidas formuladas son degradadas con mayor rapidez al aumentar la temperatura de los tratamientos térmicos (Harbourne *et al.*, 2008; Mishra *et al.*, 2008).

### **Cuantificación de ácidos fenólicos (HPLC-DAD)**

En las bebidas de maíz blanco y morado sin pasteurizar, se detectó la presencia del ácido clorogénico con valores de 20.29 y 37.14 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente; el ácido cafeico con valores de 13.85 a 33.26 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, se detectó en las bebidas con tratamientos térmicos, y mostró una relación de incremento al aumentar la temperatura, esto ocurrió en todos los tratamientos térmicos y en los dos tipos de bebida. Como se podrá observar existe una relación con la ausencia de ácido clorogénico en las muestras sometidas a tratamientos térmicos, ya que este consiste en una esterificación del ácido cafeico con un ácido quínico (Olthof *et al.*, 2001; Lafay *et al.*, 2006), este enlace éster se puede romper por causa de un tratamiento térmico (Variyar *et al.*, 2003), esto explica por qué el ácido clorogénico es detectado en el tratamiento MSP y porque sólo se detecta ácido cafeico en los tratamientos a M63, M73 y M85. Además, como se observó existe mayor concentración de ácido cafeico al incrementarse las temperaturas.

Los resultados obtenidos en la cuantificación del ácido ferúlico con valores de 34.70 a 49.74 mg L<sup>-1</sup> indicaron que el incremento de la temperatura de los tratamientos tuvo un efecto en la liberación del ácido ferúlico que puede encontrarse formando parte de la estructura de la pared celular u otros compuestos glucosilados, los cuales, como en el caso del ácido cafeico, un proceso de hidrolisis por alta temperatura promueve la liberación del ácido ferúlico (Saulnier *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2006).

### 5.2.6. Capacidad antioxidante

**DPPH.** En el caso de DPPH se observó que los tratamientos térmicos incrementaron la capacidad antioxidante de 163.67 a 384.78  $\mu\text{mol ET L}^{-1}$ , estos resultados pueden explicarse con lo descrito por Tacora *et al.* (2010) y Pérez-Hernández *et al.* (2012), quienes mencionaron que los productos generados en la reacción de Maillard tiene una alta capacidad antioxidante, este incremento también se atribuye al ácido ferúlico de la muestras, debido a que se observó que se incrementó después los tratamientos térmicos (Kim *et al.*, 2006; Lopez-Martinez *et al.*, 2009; González-Muñoz *et al.*, 2013).

**ABTS.** Los resultados ABTS con valores de 367.18 a 511.90  $\mu\text{mol ET L}^{-1}$  para las bebidas de maíz, mostraron que al incrementar la temperatura disminuyó la capacidad antioxidante, esta disminución es debida a que existen diversos factores que afectan a los compuestos polifenólicos. Autores (Rhim, 2002; Rico *et al.*, 2007; Patras *et al.*, 2010; Jang y Moon 2011; Rawson *et al.*, 2011) declaran que los compuestos polifenólicos son oxidados durante procesos térmicos utilizados en la preparación de alimentos, en los que puede influir el pH, luz, iones metálicos,

temperatura, oxígeno presente y azúcar, además de otros compuestos con capacidad de ceder electrones.

**FRAP.** Los resultados en FRAP con valores que variaron de 815.00 a 1566.67  $\mu\text{mol ET L}^{-1}$  se incrementaron en las bebidas de maíz con el incremento de la temperatura, estos resultados son explicados por Krings y Berger (2001) y Oboh *et al.* (2010), quienes reportaron que después de un tratamiento térmico como la cocción en granos de maíz, se incrementó su capacidad antioxidante y mejoró su efecto en la reducción de ion férrico  $\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}$  en la prueba de FRAP, este resultado lo atribuyeron al sinergismo de fitoquímicos y melanoidinas también conocido como reacción de Maillard. Nuestros resultados difieren de los reportados por algunos autores como Harbourne *et al.* (2008) y Mishra *et al.* (2008), quienes reportaron que la capacidad antioxidante disminuye al incrementarse la temperatura a más de 50 °C, estos por la degradación de que algunos compuestos polifenólicos como el ácido ferúlico y antocianinas.

## 6. CONCLUSIONES

Se caracterizó el contenido nutricional y nutracéutico de los 15 genotipos de maíz colectados en el sur del estado de Nuevo León, y se encontró que existe una correlación con en el color del grano y el contenido de compuestos polifenólicos, principalmente en antocianinas.

Se identificó y cuantificó el contenido de los principales compuestos polifenólicos totales, a los cuales se les atribuye su calidad nutracéutica. Además, se confirmó que en el sur de Nuevo León México existen genotipos, que podría ser utilizada para producir nuevas variedades y producir alimentos con alto valor nutracéutico.

Se encontró que los procesos de pasteurización en las bebidas de maíz no afectan los parámetros fisicoquímicos (°Brix, pH y acidez titulable) y contribuyen a la inhibición de microorganismos causales del deterioro de los alimentos.

Se encontró que la bebida desarrollada de maíces pigmentados puede ser una excelente fuente de minerales esenciales en la nutrición humana. Además, se encontró que se incrementó el contenido de compuestos polifenólicos totales, así como la capacidad antioxidante por efecto de aumento de la temperatura en los procesos de pasteurización.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Aal, E.S., and P. Hucl. 1999. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry*. 76(3):350-354.
- Abdel-Aal, E.S., J.C. Young, and I. Rabalski. 2006. Anthocyanin composition in black, blue, pink, and red cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54:4698-4704.
- Ade-Omowaye, B.I.O., S.A. Olaniyan, I.A. Adeyemi, and O.O. Isola. 2006. Development and quality evaluation of non-alcoholic beverages from maize based products. *Nutrition & Food Science*. 36(3), 183- 190.
- Acosta-Estrada, B.A., J.A. Gutiérrez-Uribe, and S.O. Serna-Saldívar. 2014. Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*. 152:46-55.
- Alam, M.N., N.J., Bristi, and M. Rafiquzzaman. 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 21(2):143-152.
- Polanco, J.A., y G.A. Puente. 2013. La siembra comercial de maíz transgénico en México en el marco de la bioeconomía y la política pública. *El maíz en peligro ante los transgénicos: un análisis integral sobre México*. C. Trueba Carrillo. (Ed.). Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México, DF, pp. 187-230.
- AOAC. 1998. *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemist International*. 16th edition, 4th Revision. AOAC International Maryland, USA.
- Akonor, P.T., C. Tortoe, and C. Oduro-Yeboah. 2014. Physicochemical characterization of non-alcoholic beverages produced from malted roasted varieties of maize (*Zea mays*). *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering* 4(1):20-26

- Bello-Pérez, L.A., G.A. Camelo-Mendez, E. Agama-Acevedo, y R.G. Utrilla-Coello. 2016. Aspectos nutraceuticos de los maíces pigmentados: digestibilidad de los carbohidratos y antocianinas. *Agrociencia*. 50(8):1041-1063.
- Bentayeb, K., P. Vera, C. Rubio, and C. Nerín. 2014. The additive properties of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assay: the case of essential oils. *Food Chemistry*. 148:204-208.
- Benzie I. F., and J.J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239:70-76.
- Bolade, M.K., and I.A. Adeyemi. 2012. Functionality enhancement of composite cassava flour in the production of maize tuwo (a non-fermented maize-based food dumpling). *Food and Bioprocess Technology*. 5(4):1340-1348.
- Boz, H. 2015. *p*-Coumaric acid in cereals: presence, antioxidant and antimicrobial effects. *International Journal of Food Science & Technology*. 50:2323-2328.
- Butkhup, L., M. Jeenphakdee, S. Jorjong, S. Samappito, W. Samappito and J. Butimal. 2012. Phenolic composition and antioxidant activity of thai and eri silk sericins. *Food Science and Biotechnology*. 21(2):389-398.
- Camelo-Méndez, G.A., E. Agama-Acevedo, J. Tovar, and L.A. Bello-Pérez. 2017. Functional study of raw and cooked blue maize flour: Starch digestibility, total phenolic content and antioxidant activity. *Journal of Cereal Science*. 76:179-185.
- Capocchi, A., S. Bottega, C. Spanò, and D. Fontanini. 2017. Phytochemicals and antioxidant capacity in four Italian traditional maize (*Zea mays* L.) varieties. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 68(5):515-524.
- Caristi, C., E. Bellocco, C. Gargiulli, G. Toscano, and U. Leuzzi. 2006. Flavone-di-C-glycosides in citrus juices from Southern Italy. *Food Chemistry*. 95(3):431-437.
- Chai, W.M. Y. Shi, H.L. Feng, L. Qiu, H.C. Zhou, Z.W. Deng, Ch.L. Yan, and Q.X. Chen. 2012. NMR, HPLC-ESI-MS, and MALDI-TOF MS analysis of condensed tannins from *Delonix regia* (Bojer ex Hook.) raf. and their bioactivities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60:5013-5022.
- Chaiittianan, R., P. Chayopas, A. Rattanathongkom, P. Tippayawat, and K. Sutthanut. 2016. Anti-obesity potential of corn silks: Relationships of phytochemicals and

- antioxidation, anti-pre-adipocyte proliferation, anti-adipogenesis, and lipolysis induction. *Journal of Functional Foods*. 23:497-510.
- Charles-Rodríguez, A.V., G.V. Nevárez-Moorillón, Q.H. Zhang, and E. Ortega-Rivas. 2007. Comparison of thermal processing and pulsed electric fields treatment in pasteurization of apple juice. *Food and Bioproducts Processing*. 85(2):93-97.
- Chaves-López, C., A. Serio, C.D. Grande-Tovar, R. Cuervo-Mulet, J. Delgado-Ospina, and A. Paparella. 2014. Traditional fermented foods and beverages from a microbiological and nutritional perspective: the Colombian heritage. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 13(5):1031-1048.
- Chiremba, C., L.W. Rooney, and T. Beta. 2012. Microwave-assisted extraction of bound phenolic acids in bran and flour fractions from sorghum and maize cultivars varying in hardness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60:4735-4742.
- Choi, L.H., and S.S. Nielsen. 2005. The effects of thermal and nonthermal processing methods on apple cider quality and consumer acceptability. *Journal of Food Quality*. 28(1): 13-29.
- ColorHexa: Color Encyclopedia: Information and Conversion. Computer Software. [www.colorhexa.com](http://www.colorhexa.com). 2019. Accessed 15 Jan 2019.
- CONANP. 2016. Programa de Conservación de Maíz Criollo en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. Available from: [http://www.conanp.gob.mx/maiz\\_criollo/maiz%20final.pdf](http://www.conanp.gob.mx/maiz_criollo/maiz%20final.pdf) [accessed 05 February 2018].
- Cuevas-Montilla, E., S. Hillebrand, A. Antezana, and P. Winterhalter. 2011. Soluble and bound phenolic compounds in different bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59:7068-7074.
- Cuevas Montilla, E., S. Hillebrand, A. Antezana, and P. Winterhalter. 2011. Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(13):7068-7074.
- de Pascual-Teresa, S., C. Santos-Buelga, and J.C. Rivas-Gonzalo. 2002. LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82(9):1003-1006.

- Dixon, R.A., C. Liu, and J.H. Jun. 2013. Metabolic engineering of anthocyanins and condensed tannins in plants. *Current Opinion in Biotechnology*. 24(2):329-335.
- Fernández, R., L.A. Morales, y A. Gálvez, 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36:275-283.
- Ferrer, J.L., M.B. Austin, Jr.C. Stewart and J.P. Noel. 2008. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiology and Biochemistry*. 46(3):356-370.
- Fliegmann, J., K. Furtwängler, G. Malterer, C. Cantarello, G. Schüler, J. Ebel, and A. Mithöfer. 2010. Flavone synthase II (CYP93B16) from soybean (*Glycine max* L.). *Phytochemistry*. 71(5-6):508-514.
- Gadaga, T.H., A.N. Mutukumira, J.A. Narvhus, and S.B. Feresu. 1999. A review of traditional fermented foods and beverages of Zimbabwe. *International Journal of Food Microbiology*. 53(1):1-11.
- García, J., L. De la Rosa, B. Herrera, A. González, J. López, G. González, J. Lopez, G. Gonzalez, S. Ruiz, y E. Álvarez. 2011. Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en ciudad Juárez, México. *Tecnociencia*. 5(2):67-75.
- García, A., y E. Pacheco-Delahaye. 2010. Evaluación de una bebida láctea instantánea a base de harina de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) con la adición de ácido fólico. *Revista Chilena de Nutrición* 37(4):480-492.
- Gattuso, G., D. Barreca, C. Gargiulli, U. Leuzzi, and C. Caristi. 2007. Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules* 12(8):1641-1673.
- Gawlik-Dziki, U., M. Swieca, and D. Dziki. 2012. Comparison of phenolic acids profile and antioxidant potential of six varieties of spelt (*Triticum spelta* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60:4603-4612.
- Gaxiola-Cuevas, N., S. Mora-Rochín, E.O. Cuevas-Rodriguez, L. León-López, C. Reyes-Moreno, A. Montoya-Rodríguez, and J. Milán-Carrillo. 2017. Phenolic Acids Profiles and Cellular Antioxidant Activity in Tortillas Produced from Mexican Maize Landrace Processed by Nixtamalization and Lime Extrusion Cooking. *Plant Foods for Human Nutrition*. 72(3):314-320.

- Gaytán-Martínez, M., J.D.D. Figueroa-Cárdenas, M.D.L.L. Reyes-Vega, E. Morales-Sánchez, y F. Rincón-Sánchez. 2013. Selección de maíces criollos para su aplicación en la industria con base en su valor agregado. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 36:339-346.
- Ghiselli, A., M. Serafini, G. Maiani, E. Azzini, and A. Ferro-Luzzi. 1995. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radical Biology and Medicine*. 18(1):29-36.
- Ghosh, S., Y. Chisti, and U.C. Banerjee. 2012. Production of shikimic acid. *Biotechnology Advances*. 30(6):1425-1431.
- Glazer, A.N. 1990. [14] Phycoerythrin fluorescence-based assay for reactive oxygen species. In *Methods in enzymology*. Academic Press Vol. 186. pp. 161-168.
- Goleniowski, M., M. Bonfill, R. Cusido, and J. Palazón. 2013. Phenolic acids. *In Natural Products*. Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 1951-1973.
- González-Muñoz, A., A.M. Quesille-Villalobos, C. Fuentealba, K. Shetty, and L. Gálvez. 2013. Potential of chilean native corn (*Zea mays* L.) accesions as natural sources of phenolic antioxidants and in vitro bioactivity for hyperglycemia and hypertension management. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61:10995-11007.
- Grajeda-Iglesias, C., E. Salas, N. Barouh, B. Baréa, A. Panya, M.C. Figueroa-Espinoza. 2016. Antioxidant activity of protocatechuates evaluated by DPPH, ORAC, and AT methods. *Food Chemistry*. 194:749-757.
- Gramazio, P., J. Prohens, M. Plazas, I. Andjar, F.J. Herraiz, E. Castillo, S. Knapp R.S. Meyer y S. Vilanova. 2014. Location of chlorogenic acid biosynthesis pathway and polyphenol oxidase genes in a new interspecific anchored linkage map of eggplant. *BMC Plant Biology* 14(1):350.
- Grunert, K.G. 2005. Food quality and safety: consumer perception and demand. *European review of agricultural economics*. 32(3):369-391.
- Harbourne, N., J.C. Jacquier, D.J. Morgan, and J.G. Lyng. 2008. Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods. *Food Chemistry*. 111(1):204-208.

- Hellin, J., A. Keleman, D. López, L. Donnet, y D. Flores. 2013. La importancia de los nichos de mercado: Un estudio de caso del maíz azul y del maíz para pozole en México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 36:315-328.
- Herrmann, K.M. 1995. The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. *The Plant Cell*. 7(7):907.
- Hsu, B.Y., S.W. Lin, B.S. Inbaraj, and B.H. Chen. 2017. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in *Chenopodium formosanum* Koidz. (djlis) by HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 132:109-116.
- Hu, Q.P., and J.G. Xu. 2011. Profiles of carotenoids, anthocyanins, phenolics, and antioxidant activity of selected color waxy corn grains during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(5):2026-2033.
- Huang, D., B. Ou, and R.L. Prior. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(6):1841-1856.
- Humphreys, J.M., and C. Chapple. 2002. Rewriting the lignin roadmap. *Current Opinion in Plant Biology*. 5(3):224-229.
- Hwang, E.I., M. Kaneko, Y. Ohnishi, and S. Horinouchi. 2003. Production of plant-specific flavanones by *Escherichia coli* containing an artificial gene cluster. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(5):2699-2706.
- Irakli, M.N., V.F. Samanidou, C.G. Biliaderis and L.N. Papadoyannis. 2012. Development and validation of an HPLC-method for determination of free and bound phenolic acids in cereals after solid-pphase extraction. *Food Chemistry*. 134(3):1624-1632.
- Jang, J.H., and K.D. Moon. 2011. Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. *Food Chemistry*. 124(2):444-449.
- Jiménez-Sánchez, C., J. Lozano-Sánchez, A. Segura-Carretero and A. Fernández-Gutiérrez. 2017. Alternatives to conventional thermal treatments in fruit-juice processing. Part 2: Effect on composition, phytochemical content, and physicochemical, rheological, and organoleptic properties of fruit juices. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57(3):637-652.

- Kahrıman, F., C.Ö. Egesel, and B. Egesel. 2015. A comparative study on changes and relationships of kernel biochemical components in different types of maize. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 92(10):1451-1459.
- Kaur, K.D., A. Jha, L. Sabikhi, and A.K. Singh. 2014. Significance of coarse cereals in health and nutrition: a review. *Journal of Food Science and Technology* 51(8):1429-1441.
- Khanbabaee, K. and T. Van Ree. 2001. Tannins: classification and definition. *Natural product reports*. 18:641-649.
- Khattab, R., E. Goldberg, L. Lin, and U. Thiyam. 2010. Quantitative analysis and free-radical-scavenging activity of chlorophyll, phytic acid, and condensed tannins in canola. *Food Chemistry*. 122(4):1266-1272.
- Kim, K. H., R. Tsao, R. Yang, and S.W. Cui. 2006. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*. 95(3):466-473.
- Klikocka, H., Cybulska, M., Barczak, B., Narolski, B., Szostak, B., Kobińska, A., ... & Wójcik, E. 2016. The effect of sulphur and nitrogen fertilization on grain yield and technological quality of spring wheat. *Plant, Soil and Environment*. 62:230-236.
- Kreisz, S., E.K. Arendt, F. Hübner, and M. Zarnkov. (2008). Cereal-based gluten-free functional drinks. In *Gluten-Free Cereal Products and Beverages* (pp. 373-392). Academic Press.
- Krings, U., and R.G. Berger. 2001. Antioxidant activity of some roasted foods. *Food Chemistry*. 72(2):223-229.
- Kuskoski, E.M., A.G. Asuero, A.M. Troncoso, J. Mancini-Filho and R. Fett. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*. 25(4):726-732.
- Lafay, S., C. Morand, C. Manach, C. Besson, and A. Scalbert. 2006. Absorption and metabolism of caffeic acid and chlorogenic acid in the small intestine of rats. *British Journal of Nutrition*. 96(1):39-46.
- Lao, F., and M.M. Giusti. 2016. Quantification of purple corn (*Zea mays* L.) anthocyanins using spectrophotometric and HPLC approaches: method comparison and correlation. *Food analytical methods*. 9(5):1367-1380.

- Lao, F., G.T. Sigurdson, and M.M. Giusti. 2017. Health benefits of purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 16(2):234-246.
- Lim, T.K., 2013. Edible medicinal and non-medicinal plants: Fruits. Media: Science+Business. *Zea mays*: Vol 6. pp. 416-447.
- Liu, J., C. Wang, Z. Wang. C. Zhang, S. Lu, J. Liu. 2011. The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides. *Food Chemistry*. 126:261-269.
- López-Contreras, J.J., F. Zavala-García, V. Urías-Orona, G.C.G. Martinez-Avila, R. Rojas, and G. Niño-Medina. 2015. Chromatic, phenolic and antioxidant properties of *Sorghum bicolor* genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 43(2):366-370.
- Lopez-Martinez, L.X., R.M. Oliart-Ros, G. Valerio-Alfaro, C.H. Lee, K.L. Parkin, and H.S. García. 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Science and Technology*. 42(6):1187-1192.
- Lopez-Martinez, L.X., K.L. Parkin, and H.S. García. 2011. Phase II-inducing, polyphenols content and antioxidant capacity of corn (*Zea mays* L.) from phenotypes of white, blue, red and purple colors processed into masa and tortillas. *Plant Foods for Human Nutrition*. 66:41-47.
- Maeda, H., and N. Dudareva. 2012. The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. *Annual review of plant biology*. 63:73-105.
- Maqsood S., S. Benjakul, A. Abushelaibi, and A. Alam. 2014. Phenolic compounds and plant phenolic extracts as natural antioxidants in prevention of lipid oxidation in seafood: a detailed review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 13:1125-1140.
- Mendoza-Díaz, S., Ma.delC. Ortiz-Valerio, E. Castaño-Tostado, E., J.deD. Figueroa-Cárdenas, R. Reynoso-Camacho, M. Ramos-Gómez, R. Capos-Vega and G. Loarca-Piña. 2012. Antioxidant capacity and antimutagenic activity of anthocyanin and carotenoid extracts from nixtamalized pigmented creole maize races (*Zea mays* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*. 67(4):442-449.

- Mex-Alvarez, R.M.J., N.J. Bolívar-Fernández, P.M. Garma-Quen, J. Tut-Heredia, and K.I. Romero-Guillén. 2013. Actividad antioxidante de cinco variedades de maíz cultivadas en Campeche, México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 12(6):558-571.
- Mir-Marqués, A., M.L. Cervera, and M. de la Guardia. 2012. A preliminary approach to mineral intake in the Spanish diet established from analysis of the composition of university canteen menus. *Journal of Food composition and analysis*. 27(2):160-168.
- Mishra, D.K., K.D. Dolan, and L. Yang. 2008. Confidence intervals for modeling anthocyanin retention in grape pomace during nonisothermal heating. *Journal of Food Science*. 73(1):E9-E15.
- Mishra, K., H. Ojha, and N.K. Chaudhury. 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*. 130(4):1036-1043.
- Moreira, R., F. Chenlo, S. Arufe, and S.N. Rubinos. 2015. Physicochemical characterization of white, yellow and purple maize flours and rheological characterization of their doughs. *Journal of Food Science and Technology* 52(12):7954-7963.
- Navarro-Hoyos, M., R. Lebrón-Aguilar, J.E. Quintanilla-López, C. Cueva, D. Hevia, S. Quesada, G. Azofeifa, M.V. Moreno-Arribas, M. Monagas, and B. Bartolomé. 2017. Proanthocyanidin characterization and bioactivity of extracts from different parts of *Uncaria tomentosa* L. (cat's claw). *Antioxidants*. 6(1):12.
- Nicoletti, I., D. Martini, A. De Rossi, F. Taddei, M.G. D'Egidio, and D. Corradini. 2013. Identification and quantification of soluble free, soluble conjugated, and insoluble bound phenolic acids in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var *durum*) and derived products by RP-HPLC on a semimicro separation scale. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61:11800-11807.
- Niño-Medina, G., D. Muy-Rangel, A. Gardea-Bejar, G. Gonzalez-Aguilar, B. Heredia, B.S. Manuel, J. Siller-Cepeda and R.V. de la Rocha. 2014. Nutritional and nutraceutical components of commercial eggplant types grown in Sinaloa, Mexico. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 42(2):538-544.

- Niño-Medina, G., D. Muy-Rangel, and V. Urías-Orona. 2017. Chickpea (*Cicer arietinum*) and soybean (*Glycine max*) hulls: byproducts with potential use as a source of high value-added food products. *Waste and biomass valorization*. 8(4):1199-1203.
- Nkhili, E., and P. Brat. 2011. Reexamination of the ORAC assay: effect of metal ions. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 400:1451-1458.
- Nuss, E.T., and S.A. Tanumihardjo. 2010. Maize: a paramount staple crop in the context of global nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 9(4):417-436.
- Obinna-Echem, P.C., J. Beal, and V. Kuri. 2015. Effect of processing method on the mineral content of Nigerian fermented maize infant complementary food–Akamu. *LWT-Food Science and Technology*. 61(1):145-151.
- Oboh, G., A.O. Ademiluyi, and A.A. Akindahunsi. 2010. The effect of roasting on the nutritional and antioxidant properties of yellow and white maize varieties. *International Journal of Food Science & Technology*. 45(6):1236-1242.
- Olivas-Gastélum, R., G.V. Nevárez-Moorillón, y M.G. Gastélum-Franco. 2009. Las pruebas de diferencia en el análisis sensorial de los alimentos. *Tecnociencia* 3(1):1-7.
- Olthof, M. R., P.C. Hollman, and M.B. Katan. 2001. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *The Journal of nutrition* 131(1):66-71.
- Patras, A., N.P. Brunton, C. O'Donnell, and B.K. Tiwari. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*. 21(1):3-11.
- Pedersen, M.B., M. Bunzel, J. Schafer, K.E. Knudsen, J.F. Sorensen, S. Yu, and H.N. Laerke. 2015. Ferulic acid dehydrodimer and dehydrotrimer profiles of distilled dried grains with solubles from different cereal species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63:2006-2012.
- Pedro, N. A., E. De Oliveira, and S. Cadore. 2006. Study of the mineral content of chocolate flavoured beverages. *Food Chemistry*. 95(1):94-100.

- PEPMA, Proyecto Estratégico de Producción de Maíz 2014. Informe de Evaluación de Impacto. Disponible en: [www.sagarpa.gob.mx/.../informe%20evaluacion%20pepma % 202014.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/.../informe%20evaluacion%20pepma%202014.pdf) (junio 2016).
- Pérez-Hernández, L. M., K. Chávez-Quiroz, L.A. Medina-Juárez, and N. Gámez Meza. 2012. Phenolic characterization, melanoidins, and antioxidant activity of some commercial coffees from *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 56(4):430-435.
- Petruzzi, L., D. Campaniello, B. Speranza, M.R. Corbo, M. Sinigaglia, and A. Bevilacqua. 2017. Thermal treatments for fruit and vegetable juices and beverages: A literature overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 16(4):668-691.
- Pozo-Insfran, D.D., S.O. Serna Saldivar, C.H. Brenes, and S.T. Talcott. 2007. Polyphenolics and antioxidant capacity of white and blue corns processed into tortillas and chips. *Cereal Chemistry*. 84(2):162-168.
- Prasanthi, P.S., N. Naveena, M.V. Rao, and K. Bhaskarachary. 2017. Compositional variability of nutrients and phytochemicals in corn after processing. *Journal of Food Science and Technology*. 54(5):1080-1090.
- Prior, R.L., X. Wu, and K. Schaich. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(10):4290-4302.
- Raven PH (2005) Transgenes in Mexican maize: desirability or inevitability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 102:13003–13004.
- Rawson, A., A. Patras, B.K. Tiwari, F. Noci, T. Koutchma, and N. Brunton. 2011. Effect of thermal and non-thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*. 44(7):1875-1887.
- Rhim, J.W. 2002. Kinetics of thermal degradation of anthocyanin pigment solutions driven from red flower cabbage. *Food Science and Biotechnology*. 11(4):361-364.
- Ricco, R.A., F. Kathrein, V. Lozano, M.L. Wagner, and A.A. Gurni. 2006. Taninos condensados de *Ephedra frustillata* Miers (*Ephedraceae*). *Acta Farmacéutica Bonaerense*. 25(2):192-197.

- Rico, D., A.B. Martin-Diana, J.M. Barat, and C. Barry-Ryan. 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science & Technology*. 18(7):373-386.
- Rodríguez, V.M., P. Soengas, A. Landa, A. Ordás, and P. Revilla. 2013. Effects of selection for color intensity on antioxidant capacity in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 193:339-345.
- Rodríguez-Saona, L.E., and R.E. Wrolstad. 2001. Extraction, isolation, and purification of anthocyanins. *Current protocols in food analytical chemistry*. (1):F1-1.
- Sait, S., S. Hamri-Zeghichi, L. Boulekbache-Makhlouf, K. Madani, P. Rigou, V. Brighenti, F.P. Prencipe, S. Benvenuti, and F. Pellati. 2015. HPLC-UV/DAD and ESI-MS<sup>n</sup> analysis of flavonoids and antioxidant activity of an Algerian medicinal plant: *Paronychia argentea* Lam. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 111:231-240.
- Salinas-Moreno, Y., F. Martínez-Bustos, M. Soto-Hernández, R. Ortega-Paczka, y J.L. Arellano Vázquez. 2003. Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia* 37(6):617-628.
- Salinas-Moreno, Y., J.D.J. López-Reynoso, G.B. González-Flores, y G. Vázquez-Carrillo, G. 2007. Compuestos fenólicos del grano de maíz y su relación con el oscurecimiento de masa y tortilla. *Agrociencia* 41(3):295-305.
- Salinas-Moreno Y., J. Soria Ruiz, y E. Espinosa Trujillo. 2010 Aprovechamiento y distribución de maíz azul en el Estado de México. Folleto Técnico 42. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 50 p.
- Salinas-Moreno, Y., J. Pérez-Alonso, G. Vázquez-Carrillo, F. Aragón-Cuevas, y G. Velázquez-Cardelas. 2012a. Anthocyanins and antioxidant activity in maize grains (*Zea mays* L.) of chalqueño. Elotes cónicos and races. *Agrociencia* 46:693-706.
- Salinas-Moreno, Y., F.J. Cruz-Chávez, S.A. Díaz-Ortiz, y F. Castillo-González. 2012b. Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 35(1):33-41.
- Salinas-Moreno, Y., F. Aragón, C. Ybarra, J. Aguilar, B. Altunar y E. Sosa. 2013. Caracterización física y composición química de razas de maíz de grano

- azul/morado de las regiones tropicales y subtropicales de Oaxaca. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 36:23-31.
- Santos, J., M.B.P.P. Oliveira, E. Ibáñez, and M. Herrero. 2014. Phenolic profile evolution of different ready-to-eat baby-leaf vegetables during storage. *Journal of Chromatography A*. 1327:118-131.
- Saulnier, L., C. Marot, M. Elgorriaga, E. Bonnin, and J.F. Thibault. 2001. Thermal and enzymatic treatments for the release of free ferulic acid from maize bran. *Carbohydrate Polymers*. 45(3):269-275.
- Schaich, K.M., X. Tian, and J. Xie. 2015. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*. 14:111-125.
- Seigler, D.S. 1998. Shikimic acid pathway. In *Plant Secondary Metabolism*. Springer, Boston, MA. pp. 94-105.
- Serna-Saldívar, S.O., J.A. Gutiérrez-Urbe, S. Mora-Rochin y S. García-Lara. 2013. Nutraceutical potential of native maize and changes during traditional and extrusión processing. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 36:3-A:295-304.
- Shah, H.U., T.J. Simpson, S. Alam, K.F. Khattak, and S. Perveen, S. 2010. Mould incidence and mycotoxin contamination in maize kernels from Swat Valley, North West Frontier Province of Pakistan. *Food and Chemical Toxicology*. 48(4):1111-1116.
- Sharma, M., C. Chai, K. Morohashi, E. Grotewold, M.E. Snook, and S. Chopra. 2012. Expression of flavonoid 3'-hydroxylase is controlled by P1, the regulator of 3-deoxyflavonoid biosynthesis in maize. *BMC Plant Biology*. 12(1):196.
- Siehl, D. L. 1998. The Biosynthesis of Tryptophan, Tyrosine, and Phenylalanine. *Plant amino acids: Biochemistry and biotechnology*. 171 p.
- Sokrab, A. M., I.A.M. Ahmed, and E.E. Babiker. 2014. Effect of fermentation on antinutrients, and total and extractable minerals of high and low phytate corn genotypes. *Journal of Food Science and Technology* 51(10):2608-2615.
- Staller, J. E. 2010. *Maize cobs and cultures: History of Zea mays L.* Berlin: Springer-Verlag. 150 p.

- Suárez-Jacobo, Á., R. Gervilla, B. Guamis, A.X. Roig-Sagués, and J. Saldo. 2010. Effect of UHPH on indigenous microbiota of apple juice: a preliminary study of microbial shelf-life. *International Journal of Food Microbiology*. 136(3):261-267.
- Sumczynski, D., Z. Bubelova, J. Sneyd, S. Erb-Weber, and J. Mlcek. 2015. Total phenolics, flavonoids, antioxidant activity, crude fibre and digestibility in non-traditional wheat flakes and muesli. *Food Chemistry*. 174:319-325.
- Suri, D.J., and S.A. Tanumihardjo. 2016. Effects of different processing methods on the micronutrient and phytochemical contents of maize: from A to Z. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 15(5):912-926.
- Tacora Cauna, R.L., G.I. Luna Mercado, R. Bravo Portocarrero, J. Mayta Hanco, M. Choque Yucra, and V. Ibañez Quispe. 2010. Effect of the expansion pressure process by explosion and toast temperature on some functional and physicochemical characteristics on two varieties of cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen). *Journal de Ciencia y Tecnologia Agraria*. 2:188-198.
- Tanaka, Y., H. Teramoto, M. Inui, and H. Yukawa. 2008. Regulation of expression of general components of the phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase system (PTS) by the global regulator SugR in *Corynebacterium glutamicum*. *Applied microbiology and biotechnology*. 78(2):309-318.
- Tao, Y., D.W. Sun, A. Górecki, W. Błaszczak, G. Lamparski, R. Amarowicz, J. Fornal, and T. Jeliński. 2012. Effects of high hydrostatic pressure processing on the physicochemical and sensorial properties of a red wine. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 16:409-416.
- Taylor, J.R., B.C. Dlamini, and J. Kruger. 2013. 125th Anniversary Review: The science of the tropical cereal's sorghum, maize and rice in relation to lager beer brewing. *Journal of the Institute of Brewing*. 119(1-2):1-14.
- Turrent, A., T.A. Wise, y E. Garvey. 2012. Factibilidad de alcanzar el potencial productivo de maíz de México. *Mexican Rural Development Research Reports* 24:1-36.

- Türkyılmaz, M., and M. Özkan. 2014. Effects of condensed tannins on anthocyanins and colour of authentic pomegranate (*Punica granatum* L.) juices. *Food Chemistry*. 164:324-331.
- Tykot, R.H., and J.E. Staller. 2002. On the importance of early maize agriculture in coastal Ecuador: new data from the Late Valdivia Phase site of La Emerenciana. *Current Anthropology*. 43(4):666–677.
- Urias-Lugo, D.A., J.B. Heredia, M.D. Muy-Rangel, J.B. Valdez-Torres, S.O. Serna-Saldivar, and J.A. Gutiérrez-Urbe. 2015. Anthocyanins and phenolic acid of hybrid and native blue maize (*Zea mays* L.) extracts and their antiproliferative activity in mammary (MCF7), liver (HepG2), colon (Caco2 and HT29) and prostate (PC3) cancer cells. *Plant Foods for Human Nutrition*. 70:193-199.
- Uriás-Orona, V., J. Basilio Heredia, D. Muy-Rangel, y G. Niño-Medina, G. (2016). Ácidos fenólicos con actividad antioxidante en salvado de maíz y salvado de trigo. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 3(7):43-50.
- Variyar, P.S., R. Ahmad, R. Bhat, Z. Niyas, and Sharma, A. (2003). Flavoring components of raw monsooned arabica coffee and their changes during radiation processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(27):7945-7950.
- Vázquez Carrillo, M., J.P. Pérez Camarillo, J.M. Hernández Casillas, M. Marrufo Diaz, y E. Martínez Ruiz. 2010. Calidad de grano y de tortillas de maíces criollos del altiplano y valle del mezquital, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 33(SPE4):49-56.
- Vázquez-Flores, A.A., E. Álvarez-Parrilla, J.A. López-Díaz, A. Wall-Medrano, y L.A. de la Rosa. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia*. 6(2):84-93.
- Vermerris, W., and R. Nicholson. 2007. *Phenolic compound biochemistry*. Springer Science & Business Media. 5 p.
- Weaver, L. M., and K.M. Herrmann. 1997. Dynamics of the shikimate pathway in plants. *Trends in Plant Science*. 2(9):346-351.
- World Health Organization. 2005. *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*.

- Wu, X., L. Gu, J. Holden, D.B. Haytowitz, S.E. Gebhardt, G. Beecher, and R.L. Prior. 2004. Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study. *Journal of Food Composition and Analysis*. 17(3-4):407-422.
- Yang, Z. G. Fan, Z. Gu, Y. Han and Z. Chen. 2007. Optimization extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob using tristimulus colorimetry. *European Food Research and Technology*. 227:409-415.
- Yang, Z., G. Fan, Z. Gu, Y. Han, and Z. Chen. 2008. Optimization extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob using tristimulus colorimetry. *European Food Research and Technology*. 227:409-415.
- Yang, Z., Z. Chen. S. Yuan, W. Zhai. X. Piao, and X. Piao. 2009. Extraction and identification of anthocyanin from purple corn (*Zea mays* L.). *International journal of food science & technology*. 44:2484-2492.
- Yang, Z., and W. Zhai. 2010. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 11(1):169-176.
- Yusof, S., and L.K. Chiong. 1997. Effects of Brix, processing techniques and storage temperature on the quality of carambola fruit cordial. *Food Chemistry*. 59(1):27-32.
- Žilić, S., A. Serpen, G. Akıllıoğlu, V. Gökmen, and J. Vančetović, J. 2012. Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60(5):1224-1231.
- Žilić, S., M. Jankovic, Z. Basic. J. Vancetovic, and V. Maksimovic. 2016. Antioxidant activity, phenolic profile, chlorophyll and mineral matter content of corn silk (*Zea mays* L.): comparison with medical herbs. *Journal of Cereal Science*. 69:363-370.
- Zulueta, A., M.J. Esteve, and A. Frígola. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*. 114(1):310-316

## Anexo 1

### Publicaciones

**Chromatic, Nutritional and Nutraceutical Properties of Pigmented Native Maize (*Zea mays* L.) Genotypes from the Northeast of Mexico**

Pablo Alan Rodríguez-Salinas, Guillermo Niño-Medina\*, Vania Urías-Orona, Dolores Muy-Rangel, José Basilio Heredia, Francisco Zavala-García

**Aceptado:** Arabian Journal for Science and Engineering (JCR-Factor 1.518).

**Thermal Processing Effects on the Microbiological, Physicochemical, Mineral, and Nutraceutical Properties of a Roasted Purple Maize Beverage**

Pablo A. Rodríguez-Salinas, Dolores Muy-Rangel, Vania Urías-Orona, Francisco Zavala-García, Ángela Suárez-Jacobo, José B. Heredia, Werner Rubio-Carrasco, Guillermo Niño-Medina\*

**Aceptado:** Farmacia (JCR-Factor 1.527)

**Efecto de termo-sonicación y pasteurización sobre las propiedades nutraceuticas de bebidas de maíz blanco y morado**

Pablo Alan Rodríguez-Salinas, Vania Urías-Orona, Dolores Muy-Rangel, José Basilio-Heredia, Angela Suarez-Jacobo, Francisco Zavala-García, Juan Gabriel Báez-González, Guillermo Niño-Medina\*

**En revisión** en Archivos Latinoamericanos de Nutrición (JCR-Factor 0.375)



# Chromatic, Nutritional and Nutraceutical Properties of Pigmented Native Maize (*Zea mays* L.) Genotypes from the Northeast of Mexico

Pablo Alan Rodríguez-Salinas<sup>1</sup> · Francisco Zavala-García<sup>1</sup> · Vania Urías-Orona<sup>2</sup> · Dolores Muy-Rangel<sup>3</sup> · José Basilio Heredia<sup>3</sup> · Guillermo Niño-Medina<sup>1</sup>

Received: 2 March 2019 / Accepted: 30 July 2019  
© King Fahd University of Petroleum & Minerals 2019

## Abstract

The aim of this study was the characterization of chromatic, nutritional and nutraceutical properties of fifteen native maize genotypes of the races: conico norteño, elotes cónicos, raton, conico norteño × elotes cónicos, raton × elotes cónicos, Celaya × elotes cónicos, elotes cónicos × conico norteño from the northeast of Mexico. The results showed that the values of the color parameters  $L^*$ ,  $C^*$  and  $h$  in genotypes range from 25.13 to 63.64, 2.41 to 33.58 and 14.36 to 359.19, respectively. The percentage of nutritional component varied from carbohydrates (71.30–74.88), protein (9.72–12.57) and moisture (7.98–9.67). The samples were rich in P, K, Mg, Zn and Fe. The total phenols content (free + bound) ranged from 349.39 to 485.71 mgGAE/100 g, showing bound fractions higher content than free fractions. The total flavonoids (free + bound) were from 24.00 to 105.75 mgCE/100 g, and for eight of the genotypes the bound fractions were higher than free fractions. Condensed tannins were only found in free fractions with values ranging from 33.70 to 158.55 mgCE/100 g. Total anthocyanins ranged from 1.38 to 74.52 mgC3GE/100 g. In HPLC analysis, ferulic acid (103.34–164.90 mg/100 g) was the main phenolic compound followed by coumaric acid (5.57–15.52 mg/100 g) and they were only identified in bound extracts. Finally, the antioxidant capacity (free + bound) expressed in  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  was from 1127.70 to 1875.70, 2826.90 to 4263.90, 730.94 to 1340.65 and 3484.80 to 5592.60 in DPPH, ABTS, FRAP and ORAC, respectively, and IC<sub>50</sub> to DPPH and ABTS were expressed in mg/mL. In conclusion, significant correlation was found between chromatic versus antioxidant capacity, and anthocyanin content. In addition, higher phenolic content were found in bound extracts, and a genetic diversity was observed between maize genotypes.

**Keywords** Color parameters · Chemical composition · Phenolic compounds · Antioxidant capacity · *Zea mays* L.

## 1 Introduction

Mexico is the center of origin, domestication and diversification of maize (*Zea mays* L.), because of that maize crop is important in diet, society, culture and economy of this country. According to the most recent classification based on the morphological and isoenzymatic characteristics, Mexico has between 41 and 65 races among the 300 maize races identified in the American continent [1]. Some of the Mexican identified maize races are native genotypes that produce pigmented grains in yellow, black, purple, blue, red and orange colors. Due to their content in phenolic compounds and their antioxidant capacity levels, nutraceutical properties have been attributed to those pigmented native genotypes [2]. Phenolics are secondary metabolites synthesized by the plant during growth and reproduction, and also, they are produced as a response to environment stress

✉ Guillermo Niño-Medina  
guillermo.ninomd@uanl.edu.mx

Francisco Zavala-García  
francisco.zavala.garcia@gmail.com

<sup>1</sup> Laboratorio de Química y Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, Francisco Villa S/N, Col. Ex-Hacienda, El Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, Mexico

<sup>2</sup> Laboratorio de Química de los Alimentos, Facultad de Salud Pública y Nutrición, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Dr. Eduardo Aguirre Pequeño y Yuriria, Col. Mitras Centro, C.P. 64460, Monterrey, Nuevo León, Mexico

<sup>3</sup> Laboratorio de Tecnología de Alimentos, Alimentos Funcionales y Nutracéuticos, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) A.C., Carretera Culiacán a El Dorado, km 5.5, C.P. 80110, Culiacán, Sinaloa, Mexico



conditions, defense against infection by pathogens and UV radiation [3, 4]. Different groups of phenolic compounds have been classified according to the number of phenol rings and moieties attached to these rings, and the most common phenolic compounds in plants are phenolic acids and flavonoids [5]. The outer tissues of cereals are rich in phenolic acids [6], and also, the bran of maize has been shown to be one of the most abundant sources of ferulic acid [7]. In addition, the maize pigmented genotypes are rich in flavonoid compounds, especially anthocyanins [8] which give them their particular pigmentation and have beneficial effects on human health [9]. Also it is suggested that some of the native Mexican pigmented maize genotypes have a better protein quality, higher content of phenolic compounds and higher levels of antioxidant capacity than some commercial hybrids pigmented maize genotypes [10, 11]. In Mexico, there is a great diversity of native pigmented maize genotypes and generally they are produced for self-supply feeding of the rural communities and because of that their nutritional and nutraceutical properties are unknown. For this reason, the aim of this work was to evaluate the chromatic, nutritional and nutraceutical properties of fifteen native maize genotypes from the northeast of Mexico.

## 2 Materials and Methods

### 2.1 Maize Genotypes and Field Experiment

Seeds of maize genotypes were collected in January–February 2016 from rural communities of Nuevo Leon, Mexico. Every genotype was named using the color of the grain and the name of the community in which it was collected. The characterization and description of maize genotypes races was done by Dr. Juan Manuel Hernandez-Casillas (Table 1). The seeds of the fifteen maize genotypes collected were grown in the experimental field of the Agronomy Faculty of Universidad Autónoma de Nuevo León located in 24°19'16.71"N and 99°54'58.06"W during 2016 spring–summer cycle. The sowing was performed on June 16 on a clay soil (49.6% clay, 34.7% silt and 15.7% sand) with pH 8.1 and 3.64% of organic matter. In addition, the soil had an electrical conductivity of 0.58 dS/m, and it was rich in nitrogen (0.187%) and had optimum levels of phosphorus (30 ppm) and potassium (1.39 meq/100 g). The experimental units were distributed on a homogeneous field and involved three rows per treatment (considering every row as a repetition). Each row was 100 m long with a space of 0.8 m between rows, and it was established using 0.2 m distance between plants with a plant density of 6.25 plants/m<sup>2</sup>, distributed in a completely random experimental design. Four irrigations were carried out during whole cycle: June 17 (a day after sowing), July 9 (V8 stage), August 5 (VT

stage) and August 25 (R2 stage). All maize genotypes were harvested at harvest maturity stage on December 26.

### 2.2 Sampling

The samples were obtained from a balance mixture of fraternal crosses, using pollen mixture of at least 10 plants into the same a row. A mixture of grains of at least 30 plants per row was obtained, and the total sample from every row was around of 500 g. Finally, 80 g from every row sample was used for analyzes.

### 2.3 Grain Color

A Petri dish (4.73 cm × 1.5 cm) was filled with 100 g of grains of each genotype, and color was determined using a CR-20 Konica Minolta Color Reader (Tokyo, Japan). Chromatic parameters were obtained using CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) and CIELCH ( $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h$ ) color systems according to Commission Internationale De L'ecclairage (CIE) [12].  $L^*$  defines lightness (0 = black, 100 = white),  $a^*$  indicates red (positive  $a^*$ ) or green value (negative  $a^*$ ) and  $b^*$  indicates yellow (positive  $b^*$ ) or blue value (negative  $b^*$ ),  $C^*$  (chromaticity; saturation level of  $h$ ) and  $h$  (hue angle: 0° = red, 90° = yellow, 180° = green, 270° = blue). Color view was obtained by online software ColorHexa [13] color converter using  $L^*$ ,  $C^*$  and  $h$  values.

### 2.4 Flour Color

One hundred grams of grains from every genotype were ground in an electric mill and sieved to obtain a particle size < 0.5 mm (using standard mesh size 35). A Petri dish was filled with the flour obtained from grains of every genotype, and color was determined as described previously.

### 2.5 Chemical Composition

The flour of every genotype was used to determine moisture (method 925.09), protein (method 960.52), ash (method 923.03), fat (method 923.03) and crude fiber (method 920.86) according to the methods of Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [14]. Carbohydrates content was obtained as follows: carbohydrates = 100% – (% water + % protein + % ash + % fat + % crude fiber).

### 2.6 Mineral Content

Mineral analysis was done based on AOAC [14] methods using an Agilent Atomic Absorption 240FS spectrometer (Santa Clara, United States). The ash sample obtained in chemical composition was treated with 5 mL of 3 M HCl, filtered through Whatman 1, diluted to 50 mL and used for

**Table 1** Pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico

Morado Peña Nevada (MPN) (Purple), Doctor Arroyo, N.L. Altitude 1484 msnm. Race: conico norteño x elotes conicos	Morado María Berrones (MMB) (Purple), Doctor Arroyo, N.L. Altitude 1596 msnm. Race: conico norteño x elotes conicos	Morado La Siberia (MLSA) (Purple), General Zaragoza, N.L. Altitude 2620 msnm. Race: conico norteño x elotes conicos	Morado La Sabanilla (MLSI) (Purple), General Zaragoza, N.L. Altitude 1460 msnm. Race: elotes conicos	Morado La Soledad (MLSO) (Purple), Aramberri, N.L. Altitude 1595 msnm. Race: ratón x elotes conicos
				
				
				
Morado La Ascención (MLAS) (Purple), Aramberri, N.L., Altitude 1960 msnm. Race: Celaya x elotes conicos	Morado Puerto Piñones (MPP) (Purple), Aramberri, N.L. Altitude 2367 msnm. Race: elotes conicos	Morado Refugio (MRE) (Purple), Doctor Arroyo, N.L., Altitude 1920 msnm. Race: elotes conicos x conico norteño	Morado Tepozanes (MTE) (Purple), General Zaragoza, N.L. Altitude 2304 msnm. Race: elotes conicos	Pinto Carpintería (PCA) (Purple, White, Yellow), Aramberri, N.L. Altitude 1160 msnm. Race: conico norteño
				
				
				
Pinto La Siberia (PLSI) (Purple, White, Yellow), Aramberri, N.L. Altitude 1160 msnm. Race: conico norteño	Pinto Tepozanes (PTE) (Purple, White, Yellow), General Zaragoza, N.L. Altitude 2304 msnm. Race: raton	Rojo Refugio de Cedillo (RRC) (Red, Purple), Doctor Arroyo, N.L., Altitude 1920 msnm. Race: conico norteño x elotes conicos	Amarillo (AM) (Yellow), General Zaragoza, N.L. Altitude 2304 msnm. Race: ND advanced generation of hybrid	Tremes Blanco (TRB) (White), General Zaragoza, N.L. Altitude 2304 msnm. Race: conico norteño
				
				
				

mineral analysis. Potassium and sodium were detected by emission at wavelengths of 589.6 and 769.9 nm, respectively, while calcium, magnesium, iron, zinc, copper and manganese were determined by absorption at wavelengths of 422.7, 285.2, 248.3, 213.9, 324.7 and 279.5 nm, respectively. The results were expressed as milligrams per liter of sample (mg/L) based on calibration curves prepared with standards of each mineral (0 to 100 mg/L for sodium and potassium; 0 to 10 mg/L for calcium, magnesium, iron, and manganese; and 0 to 5 mg/L for zinc and copper).

## 2.7 Extraction of Free and Bound Phenolics

The extraction of free and bound phenolics was performed according to Niño-Medina et al. [15] with small modifications. For the extraction of free phenolics, 200 mg of sample was suspended in 3 mL of 80% methanol, purged for 30 s with argon and stirred for 2 h at 200 rpm. After that, sample was centrifuged at  $5750 \times g$  (25 °C, 5 min) and supernatant was recovered and stored at -20 °C. Bound phenolics were obtained from the solid residue of free phenolics by treating sample with 5 mL of NaOH 2 M for 2 h in stirring. After that, the pH of the sample was adjusted to 2.5 with 1 mL of concentrated HCl and phenolics were extracted with 5 mL of diethyl ether twice. Diethyl ether extracts were combined and evaporated to dryness, and finally samples were dissolved in 80% methanol.

## 2.8 Total Phenols, Total Flavonoids, Condensed Tannins and Total Anthocyanins

Total phenols, total flavonoids and condensed tannins of free and bound phenolic extracts were evaluated according to López-Contreras et al. [16]. The total phenolics content was determined using a colorimetric method based on the reaction of Folin–Ciocalteu reagent. Briefly, 0.2 mL of phenolic extract was placed in 2.6 mL of distilled water, oxidized with 0.2 mL of Folin–Ciocalteu reagent and after 5 min neutralized with 2 mL of 7%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  solution. The reaction was left for 90 min, and finally absorbance of samples was measured at 750 nm. Gallic acid was used as the standard for calibration curve (0, 40, 80, 120, 160 and 200 mg/L), and results were expressed as milligrams of gallic acid equivalent per one hundred grams of sample (mgGAE/100 g). The total flavonoids content was evaluated based on the reaction of aluminum chloride. Briefly, 0.2 mL of phenolic extract was placed in 3.5 mL of distilled water, followed by 0.15 mL of 5%  $\text{NaNO}_2$ , after 5 min 0.15 mL of 10%  $\text{AlCl}_3$  was added, and finally 5 min later 1.0 mL of 1 M NaOH was added. Reaction was left for 15 min, and finally the absorbance of samples was measured at 510 nm. The condensed tannins content was determined based on the reaction of vanillin- $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Briefly, 0.25 mL of phenolic extract was mixed with 0.65 mL 1% vanillin solution and 0.65 mL of 25%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (vanillin and  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dissolved in methanol). Reaction was left for 15 min at 30 °C, and finally the absorbance of samples was measured at 500 nm. Catechin was used as standard for calibration curves (0, 50, 100, 150, 200 and 250 mg/L), and results were expressed as milligrams of catechin equivalents per one hundred grams of sample (mgCE/100 g). Total anthocyanins content was evaluated according to Abdel-Aal and Hucl [17]. For the extraction of anthocyanins, 200 mg of maize flour was mixed with 10 mL of ethanol-HCl 1 N (85:15 v/v, pH 1, 4 °C), purged for 30 s with argon and stirred for 30 min at 200 rpm. Afterward, the sample was centrifuged at  $7759 \times g$  (4 °C, 15 min) and finally, 3.5 mL of sample was measured at 535 nm. The content of anthocyanins was reported as milligrams of cyanidin-3-glucoside equivalents (C3GE) per one hundred grams of sample (mgC3GE/100 g) as follows:  $C = (A/\epsilon) \cdot (V/1000) \cdot MW \cdot (1/\text{weight of sample}) \cdot 10^6$ , where: C = concentration in mgC3GE/L, A = absorbance of sample,  $\epsilon$  = molar absorptivity (mgC3GE = 26,965 l/cm l/mol), V = volume of sample, MW = molecular weight of C3G (449.2 g/mol).

## 2.9 Phenolics by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Analysis

The extracts of free and bound phenolics were used to quantify phenolic compounds by HPLC according to the method reported by Santos et al. [18] with minor modifications. The phenolic compounds were identified in an Agilent 1260 Infinity chromatograph equipped with autosampler (G1329B), quaternary pump (G1311C), thermostatted column compartment (G1316A) and diode array detector (G4212B) (Agilent, Santa Clara, CA, United States). The separation was carried out in an Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 (5  $\mu\text{m}$ , 100 mm  $\times$  3 mm), and the mobile phase consisted of a gradient mixture of water (1% HCl, solvent A) and methanol (1% HCl, solvent B). The gradient used was: 0 min, 95% A; 4 min, 95% A; 20 min, 73% A; 50 min, 5% A; 57 min, 99% A; 58 min, 99% A; 60 min, 95% A. The flow rate was 0.7 mL min<sup>-1</sup>, and the injection volume of sample used was 10  $\mu\text{L}$ . The detection of the phenolics compounds was done at 280, and spectra of each compound were recorded by the diode array from 200 to 400 nm, and all the runs were done at 25 °C. Levels of phenolic compounds were calculated based on a calibration curve obtained with standards of caffeic acid, catechin, chlorogenic acid, coumaric acid, ferulic acid, gallic acid, quercetin and sinapic acid in concentrations from 0 to 160 mg/L. The results were expressed as milligrams per one hundred grams of sample (mg/100 g) of each phenolic compound.

## 2.10 Antioxidant Capacity

Antioxidant capacity by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) and FRAP (ferric reducing antioxidant power) methods were performed according to López-Contreras et al. [16], while antioxidant capacity by ORAC method was carried out according to Urías-Orona et al. [19].

DPPH was evaluated using a working solution 60  $\mu\text{M}$  with an absorbance adjusted to 0.7 at 517 nm. The assay was carried out by mixing 0.2 mL of phenolic extract with 3.3 mL of the DPPH working solution, the reaction was left for 30 min in the dark, and the reduction in DPPH was determined. ABTS was carried out using a working solution obtained by mixing one mL 7.4 mM of ABTS and one mL of 2.6 mM of  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  and allowing them to react for 12 h in the dark, after that time absorbance of working solution was adjusted to 0.7 at 734 nm diluting with methanol. The ABTS assay was performed by mixing 0.2 mL of phenolic extract with 3.3 mL of ABTS working solution, reaction was left for 2 h in the dark, and the reduction in ABTS was measured. FRAP was determined using a working solution prepared by mixing 300 mM  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (pH 3.6), 10 mM TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine, in HCl 40 mM) and 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  in 10:1:1 proportion. The FRAP assay was prepared by mixing 0.2 mL of phenolic extract with 3.3 mL of FRAP working solution, reaction was left for 30 min in the dark at 37 °C, and the absorbance of samples was taken at 593 nm. The ORAC assay was performed by using 25  $\mu\text{L}$  of phenolic extract, 200  $\mu\text{L}$  of fluorescein (0.96  $\mu\text{mol/L}$ ) and 75  $\mu\text{L}$  of AAPH (2,2'-azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride, 95.8 mmol/L). The fluorescence (485 nm (ex)/525 nm (em)) was measured for 70 min (37 °C) with 70 s intervals using a Synergy 2 multimode microplate reader (BioTek Instruments, USA). Trolox was used as standard for calibration curves (0 to 500  $\mu\text{mol/L}$  for DPPH, ABTS and FRAP, 0-100  $\mu\text{mol/L}$  for ORAC), and results were expressed as micromoles of Trolox equivalents per one hundred grams of sample ( $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$ ).

The IC<sub>50</sub> of DPPH and ABTS was calculated for the amount of antioxidant required to inhibit 50% of the oxidation of the radical, the absorbance adjusted to 0.7 in the working solutions was considered as 100% of oxidation, and methanol was used as control. The results were expressed as milligrams of maize flour per milliliter (mg/mL).

## 2.11 Statistical Analysis

Results were expressed as mean values of three samples  $\pm$  standard deviation. Statistical significance between samples was evaluated by analysis of variance followed by Tukey's test using Minitab 14.0 [20]. A probability of

$p \leq 0.05$  (5%) was deemed to be statistically significant. In addition, a correlation analysis was performed by Pearson's regression coefficient.

## 3 Results and Discussion

### 3.1 Grain Color

The  $L^*$  values of the maize genotypes analyzed varied from 25.13 to 63.64 (Table 2). The values for purple maize ranged from 25.13 to 42.75, and these values correspond to MLSA and MPP, respectively. The values for pinto maize varied from 34.71 to 51.26, and these values occurred for PTE and PCA, respectively. Red maize showed a value of 38.22, while yellow maize had a value of 54.80. The highest lightness reading was observed in white maize, with a value of 63.64. Analysis of variance showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among genotypes. It has been mentioned that high  $L^*$  values may be observed in light-colored maize such as yellow or white maize, whereas in pigmented maize, such as purple and red maize, these values may decrease due to the anthocyanin content in the grain [21, 22].

Statistical differences ( $p < 0.05$ ) were found in  $C^*$  among maize genotypes, with values ranging from 2.41 to 33.58 in the fifteen genotypes evaluated. In purple maize, the values ranged from 2.41 to 22.17 for genotypes MTE and MPN,

**Table 2** Chromatic properties of grains from pigmented native maize genotypes from the northeast of Mexico

Genotype	Color parameter			
	$L^*$	$C^*$	$h$	View
MPN	34.52±0.35ef	22.17±0.21b	15.20±0.24hi	
MMB	31.67±0.80fg	11.14±2.40de	26.49±2.52g	
MLSI	40.66±0.81cd	4.68±0.77gh	25.22±9.14g	
MLSO	42.51±1.71c	6.12±1.39fg	359.19±0.81a	
MLSA	25.13±1.16i	3.63±0.32gh	67.76±4.80d	
MLAS	29.60±0.97gh	14.00±0.25cd	38.35±1.28ef	
MPP	42.75±0.17c	8.80±0.42ef	29.81±7.77fg	
MRE	31.93±2.56fg	4.34±1.61gh	14.36±4.89i	
MTE	25.83±0.74hi	2.41±0.16h	352.90±1.75a	
PCA	51.26±0.99b	8.40±0.26ef	45.24±1.55e	
PLSI	37.47±0.57de	10.62±0.41e	45.58±0.98e	
PTE	34.71±4.80ef	5.29±0.98gh	72.05±7.33cd	
RRC	38.22±1.82de	16.54±1.92c	23.78±1.11gh	
AM	54.80±2.44b	33.58±3.43a	77.71±0.28bc	
TRB	63.64±1.77a	24.23±0.51b	85.71±0.48b	

Different letters in columns indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Values are reported as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ )



respectively. For pinto maize, the values varied from 5.29 to 10.62 for genotypes PTE and PLSI, respectively. Values for red, yellow and white maize were 16.54, 33.58 and 24.23, respectively. Yang and Zahi [21] and Salinas-Moreno et al. [22] reported values from 11.10 to 12.65 in pigmented maize. The reported values agree with that of MMB maize (11.14). The values were lower than those found in MPN (22.17), TRB (24.23) and AM (33.58).

The readings of  $h$  in maize in the maize genotypes varied from 14.36 to 359.19. Purple maize values ranged from 14.36 in MRE to 359.19 in MLSO, while in pinto maize, values ranged from 45.24 to 72.05 in PCA and PTE, respectively. In red maize, the  $h$  value was 23.78, while in yellow maize, it was 77.71, and in white maize, the  $h$  values reached 85.71. The analysis of variance showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among genotypes. As mentioned by Salinas-Moreno et al. [22], the  $h$  values are related to the perception of visual color; for instance, the values for MTE (352.90) and MLSO (359.19) correspond to a visual pink color, while values from PCA (45.24) to TRB (85.71) correspond to orange tones, and values from MRE (14.36) to MRE (38.35) correspond to red tones.

### 3.2 Flour Color

The  $L^*$  values obtained from flours of the fifteen maize genotypes ranged from 72.85 to 88.78 (Table 3). Readings from purple maize varied from 72.85 (MRE) to 79.64 (MLSI), while in pinto maize, these values ranged from 81.03 (PLSI) to 84.50 (PTE). Readings of  $L^*$  for red, yellow and white maize were 78.43, 85.45 and 88.78, respectively. Analysis of variance showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among genotypes. Flour had a lighter color than the grain and, consequently, greater lightness. These results were higher than those in pigmented maize reported by Moreira et al. [23], who obtained values from 51.82 to 69.49.

The  $C^*$  readings showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among the fifteen maize genotypes with values from 3.24 to 32.10. In the purple maize, the values varied from 3.24 (MTE) to 8.23 (MPN), and for pinto maize, the values ranged from 7.18 (PCA) to 8.33 (PTE). The  $C^*$  values for red, yellow and white maize were 8.24, 32.10, and 12.41, respectively. The flour readings of our genotypes were higher than those reported by Bolade and Adeyemi [24] but agreed with  $C^*$  values reported by Moreira et al. [23] for yellow maize (34.15), white maize (10.37) and pigmented maize (3.37 to 6.77).

The  $h$  readings obtained in the fifteen maize genotypes varied from 19.63 to 87.05. In purple maize, the values ranged from 19.63 (MLSO) to 64.40 (MLSI). The values for pinto maize ranged from 65.41 (PCA) to 80.22 (PTE). The values for red, yellow and white maize were 36.01, 85.16 and 87.05, respectively. These results were significantly

**Table 3** Chromatic properties of flours obtained from pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico

Genotype	Color parameter			
	$L^*$	$C^*$	$h$	View
MPN	77.30±0.65fg	8.23±0.18c	27.31±1.71i	
MMB	78.89±0.87ef	6.24±0.24e	37.40±0.87fg	
MLSI	79.64±0.41de	4.64±0.39f	64.40±2.82c	
MLSO	79.00±0.20ef	3.78±0.08g	19.63±3.36j	
MLSA	74.31±1.39h	5.26±0.32f	40.73±1.41f	
MLAS	76.18±0.50g	7.79±0.05cd	33.92±0.75gh	
MPP	73.28±1.57h	4.88±0.29f	32.08±1.72h	
MRE	72.85±0.87h	5.28±0.38f	46.80±1.88e	
MTE	73.94±1.72h	3.24±0.23g	56.07±2.15d	
PCA	82.05±0.26c	7.18±0.18d	65.41±0.71c	
PLSI	81.03±0.37cd	8.32±0.17c	79.38±0.29b	
PTE	84.50±0.31b	8.33±0.36c	80.22±0.82b	
RRC	78.34±0.22ef	8.24±0.14c	36.01±0.79g	
AM	85.45±0.37b	32.10±0.44a	85.16±0.07a	
TRB	88.78±0.13a	12.41±0.57b	87.05±2.29a	

Different letters in columns indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Values are reported as mean ± standard deviation ( $n = 3$ )

different ( $p < 0.05$ ) among values. The observed  $h$  values obtained from the tested maize genotypes varied from 46.80 to 87.05 and correspond to a visual orange tone, and the values from 19.63 to 37.40 correspond to a visual red color, as described by Salinas-Moreno et al. [22].

### 3.3 Nutritional Composition

The moisture content of the maize genotypes analyzed varied from 7.98 to 9.67% (Table 4). In purple maize, the lowest value was in MTE (7.98%), and the highest was in MMB (8.47%). In pinto maize, the lowest value was in PCA (8.01%), and the highest was in PTE (8.64%). The values for red, yellow and white maize were 9.04, 9.67, and 9.11%, respectively. The moisture content values among maize genotypes did not show significant difference ( $p = 0.05$ ). The moisture content of maize of our genotypes agrees with the results reported by Bello-Pérez et al. [9] and Camelo-Méndez et al. [25], who reported a moisture content of approximately 8.4%.

For ash content, the analysis of variance showed that values for genotypes MPN, MRE and MTE were significantly different ( $p < 0.05$ ) and higher than those from AM and TRB maize genotypes, and the rest maize genotypes were not significantly different ( $p > 0.05$ ). The values ranged from 1.00 to 1.46% in the fifteen genotypes analyzed. In purple maize,

**Table 4** Chemical composition of pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico

Genotype	Component (g/100 g)					
	Moisture	Ash	Protein	Fat	Crude fiber	Carbohydrates
MPN	8.46 ± 0.08ab	1.39 ± 0.11a	10.50 ± 0.01fgh	4.43 ± 0.30d	1.26 ± 0.01e	73.96 ± 0.31ab
MMB	8.47 ± 0.67ab	1.17 ± 0.01ab	11.29 ± 0.19def	4.01 ± 0.13def	1.20 ± 0.03e	73.86 ± 0.58ab
MLSI	8.19 ± 0.16b	1.22 ± 0.05ab	11.49 ± 0.10bcde	4.58 ± 0.09 cd	1.30 ± 0.01de	73.21 ± 0.02bcd
MLSA	8.23 ± 0.19b	1.26 ± 0.01ab	12.31 ± 0.23ab	3.50 ± 0.21 fg	1.63 ± 0.17abcd	73.08 ± 0.41bcd
MLSO	8.23 ± 0.11b	1.24 ± 0.02ab	10.16 ± 0.17gh	4.05 ± 0.03def	1.43 ± 0.04abcde	74.88 ± 0.04a
MLAS	8.20 ± 0.09b	1.27 ± 0.01ab	10.76 ± 0.10efg	4.33 ± 0.27d	1.37 ± 0.20bcde	74.06 ± 0.28ab
MPP	8.41 ± 0.21b	1.19 ± 0.10ab	10.58 ± 0.04 fg	4.54 ± 0.18 cd	1.53 ± 0.05abcde	73.74 ± 0.37abc
MRE	8.36 ± 0.31b	1.46 ± 0.02a	11.94 ± 0.33abcd	5.40 ± 0.03b	1.54 ± 0.02abcde	71.30 ± 0.09f
MTE	7.98 ± 0.07b	1.39 ± 0.01a	11.79 ± 0.15abcd	5.07 ± 0.06bc	1.30 ± 0.08de	72.47 ± 0.08cdef
PCA	8.01 ± 0.77b	1.17 ± 0.04ab	11.66 ± 0.19bcd	3.38 ± 0.21 g	1.73 ± 0.10ab	74.05 ± 0.81ab
PLSI	8.27 ± 0.01b	1.21 ± 0.14ab	11.44 ± 0.22cde	4.50 ± 0.04 cd	1.37 ± 0.01cde	73.20 ± 0.39bcd
PTE	8.64 ± 0.01ab	1.16 ± 0.04ab	11.53 ± 0.21bcde	4.20 ± 0.02de	1.29 ± 0.06de	73.19 ± 0.22bcd
RRC	9.04 ± 0.09ab	1.10 ± 0.22ab	12.57 ± 0.25a	4.52 ± 0.12 cd	1.41 ± 0.09abcde	71.36 ± 0.16f
AM	9.67 ± 0.05a	1.00 ± 0.15b	12.12 ± 0.32abc	3.67 ± 0.04efg	1.76 ± 0.14a	71.77 ± 0.02ef
TRB	9.11 ± 0.33ab	1.02 ± 0.08b	9.72 ± 0.25 h	6.15 ± 0.02a	1.69 ± 0.03abc	72.31 ± 0.01def

Different letters in columns indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Values are reported as mean ± standard deviation ( $n = 3$ )

the lowest content was for MPP (1.19%), and the highest for MRE (1.46%). In pinto maize, the lowest value was found in PTE (1.16%), and the highest in PLSI (1.21%). The values for red, yellow and white maize were 1.10, 1.00 and 1.02%, respectively. These values were similar to the 1.4% average of ash content observed by Bello-Pérez et al. [9] and Camelo-Méndez et al. [25]. In addition, these authors mentioned that genetic variability of maize genotypes is an important factor that influences the chemical composition of maize grain.

Protein concentration of the maize genotypes varied from 9.72 to 12.57%. The highest protein percentages were found in RRC (12.57%), MLSA (12.31%) and AM (12.12%), and the lowest values were observed in TRB (9.72%) and MLSO (10.16%); there were significant differences ( $p < 0.05$ ) among them. Within the purple maize group, values of 10.16 to 12.31% were observed, and there were significant differences ( $p < 0.05$ ) among genotypes; within the pinto maize group, with values ranging from 11.44 to 11.66%, no differences were found ( $p > 0.05$ ). However, high levels of statistical equality between samples exist. These values were similar to reported protein concentrations of 6.9 to 12.5% in different landraces by Vázquez-Carrillo et al. [26] and Bello-Pérez et al. [9].

The fat content showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among maize genotypes, and their values ranged from 3.38 to 6.15%. In purple maize, the lowest value was for MLSA (3.50%), and the highest was for MRE (5.40%). In pinto maize, the lowest value was for PCA (3.38%), and the highest was for PLSI (4.50%). Values for red, yellow and white maize were 4.52, 3.67 and 6.15%, respectively. These results

are similar to those obtained by Salinas-Moreno et al. [27], Bello-Pérez et al. [9] and Camelo-Méndez et al. [25] with values ranging from 3.7 to 5.6% in maize flour.

Crude fiber is composed by lignin and cellulose from the cell wall structures, but it has no nutritional value for the human body as the enzyme needed to carry out digestion is missing. The extraction method for crude fiber quantification requires hydrolysis with diluted acid and alkali [28]. The results obtained for crude fiber in maize genotypes varied from 1.20 to 1.76%. In purple maize, the lowest content was for MMB (1.20), and the highest was for MLSA (1.63%). In pinto maize, the lowest content was for PTE (1.29), and the highest content was for PCA (1.73%). Crude fiber content for red, yellow and white maize was 1.41, 1.76 and 1.69%, respectively. Analysis of variance showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among genotypes. Maize genotypes within the purple group were statistically similar; however, a small difference between purple and pinto genotypes was observed. Our results agreed with those of Nuss and Tanumihardjo [29] and Sumczynski et al. [28], who reported average values of 2.00% crude fiber content in cereals.

Bello-Pérez et al. [9] mentioned that starch carbohydrates in the maize kernel are mostly found near the endosperm at an 80% average concentration. Data obtained in this research showed that the carbohydrate percentages varied from 71.30 to 74.88% with significant difference ( $p < 0.05$ ) among maize genotypes. In purple maize, the lowest value was found in MRE (71.30%), and the highest was in MLSO (74.88%). In pinto maize genotypes, the highest percentage was in PTE (73.19%), and the lowest was in PCA (74.05%). The percentage values for red, yellow and white maize were

71.36, 71.77 and 72.31%, respectively. These values are in agreement with average carbohydrate content of 76% in the maize kernel reported by Nuss and Tanumihardjo [29], Bello-Pérez et al. [9] and Camelo-Méndez et al. [25].

### 3.4 Mineral Analysis

#### 3.4.1 Macroelements

The magnesium (Mg) content among genotypes ranged from 116.24 to 146.75 mg/100 g (Table 5). In purple maize, the lowest value was observed in MPP (126.86 mg/100 g), and the highest was in MLSI (146.75%). For pinto maize, the lowest content was in PCA (116.24 mg/100 g), and the highest was in PLSI (146.27 mg/100 g). The Mg content for red, yellow and white maize was 138.46, 134.58 and 118.07 mg/100 g, respectively. Analysis of variance showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among genotypes. Mg values recorded in this research agree with results reported by Nuss and Tanumihardjo [29] and Kahrman et al. [30] in different maize genotypes. They reported an average content of 138.78 mg/100 g. However, our results were higher than the 113.32 mg/100 g average in maize reported by Shah et al. [31]. For Ca content, the analysis of variance found significant differences ( $p < 0.05$ ) among maize genotypes with values of 24.58 to 32.63 mg/100 g. In purple maize, the lowest value was obtained in MMB (24.58 mg/100 g), and the highest was in MPN (29.17 mg/100 g). In pinto genotypes, the lowest content was recorded in PTE (29.73 mg/100 g), and the highest was in PCA (30.45). The

Ca content for red, yellow and white maize was 29.08, 28.49 and 31.62 mg/100 g, respectively.

Our results coincided with those reported by Shah et al. [31], who reported an average of 27.31 mg/100 g in maize. These findings differ from reports by Obinna-Echem et al. [32] and Suri and Tanumihardjo [33], who mentioned the grain of maize only has an average of 7.00 mg/100 g Ca. The high Ca content recorded in this research might be related to genetics as one of the main factors that affect the chemical composition of the grain in different maize genotypes [9, 27]. The K content in maize genotypes varied from 314.20 to 397.18 mg/100 g.

In the purple genotypes, the lowest value was recorded in MLAS (325.72 mg/100 g), and the highest was in MLSI (397.18 mg/100 g). In pinto maize, the lowest recorded value was in PTE (325.58 mg/100 g), and the highest was in PLSI (355.45 mg/100 g). The recorded K content in red, yellow and white maize was 314.20, 338.65 and 321.85 mg/100 g, respectively. Analysis of variance showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among pigmented maize.

These results agree with those of Shah et al. [31], Nuss and Tanumihardjo [29] and Sokrab et al. [34], who reported K values of 287.00 to 343.03 mg/100 g in maize genotypes.

The Na content in the pigmented maize genotypes showed significant differences ( $p < 0.05$ ) with values of 24.08 to 70.3 mg/100 g. In purple maize, the lowest value was for MRE (41.19 mg/100 g), and the highest was for MLAS (70.30 mg/100 g). Pinto maize genotypes showed the lowest value in PCA (25.77 mg/100 g) and the highest in PLSI (53.37 mg/100 g). The values for red, yellow and white maize were 28.62, 28.01 and 24.08 mg/100 g, respectively.

**Table 5** Macroelements content of pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico

Genotype	Macroelement (mg/100 g)					
	Mg	Ca	K	Na	P	S
MPN	145.97 ± 2.13a	29.17 ± 1.12bc	348.40 ± 1.27bc	48.35 ± 3.17b	368.17 ± 12.14i	2.06 ± 0.09abc
MMB	136.52 ± 1.13bc	24.58 ± 0.12f	339.14 ± 1.91cd	45.75 ± 0.18bc	334.40 ± 20.50i	2.29 ± 0.01a
MLSI	146.75 ± 0.29a	32.63 ± 1.69a	397.18 ± 0.21a	50.42 ± 1.52b	499.00 ± 15.60fg	2.08 ± 0.07abc
MLSA	130.05 ± 0.53de	28.10 ± 0.21cd	350.34 ± 4.93b	48.30 ± 3.13b	419.84 ± 3.87h	1.98 ± 0.11bc
MLSO	128.95 ± 0.19de	25.04 ± 0.15ef	326.66 ± 4.54ef	42.96 ± 2.32bede	361.30 ± 24.50i	1.99 ± 0.04bc
MLAS	132.72 ± 0.60cd	25.25 ± 0.30def	325.72 ± 3.60ef	70.30 ± 14.50a	373.00 ± 14.70i	2.13 ± 0.09abc
MPP	126.86 ± 0.74e	27.76 ± 0.37cde	326.18 ± 0.16ef	42.75 ± 4.90bcde	463.75 ± 1.02g	1.91 ± 0.02c
MRE	145.39 ± 0.40a	27.91 ± 0.91cde	358.56 ± 1.35b	41.19 ± 2.36bcdef	568.41 ± 0.69cd	2.00 ± 0.09bc
MTE	138.31 ± 0.32b	28.50 ± 0.37c	355.09 ± 5.45b	42.32 ± 0.87bcde	524.59 ± 3.30ef	2.15 ± 0.06abc
PCA	116.24 ± 0.68g	30.45 ± 0.14abc	333.07 ± 2.94de	25.77 ± 0.15ef	549.82 ± 3.83de	2.11 ± 0.02abc
PLSI	146.27 ± 0.714a	30.31 ± 0.06abc	355.45 ± 0.88b	53.37 ± 0.83ab	719.99 ± 4.81a	2.01 ± 0.02bc
PTE	122.39 ± 0.106f	29.73 ± 1.45abc	325.58 ± 2.10ef	43.62 ± 1.22bcd	613.72 ± 4.72b	2.11 ± 0.02abc
RRC	138.46 ± 0.446b	29.08 ± 1.0bc	314.20 ± 0.40g	28.62 ± 2.63cdef	619.71 ± 2.34b	2.21 ± 0.02ab
AM	134.58 ± 2.20bc	28.49 ± 0.20c	338.65 ± 2.95cd	28.01 ± 3.13def	596.15 ± 4.74bc	2.18 ± 0.02ab
TRB	118.07 ± 0.94g	31.62 ± 0.23ab	321.85 ± 0.12fg	24.08 ± 0.04f	416.35 ± 0.95h	2.18 ± 0.02ab

Different letters in columns indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Values are reported as mean ± standard deviation ( $n = 3$ )

Our values were similar to Na concentrations ranging from 21.00 to 42.11 mg/100 g in maize genotypes reported by Shah et al. [31], Sokrab et al. [34] and Obinna-Echem et al. [32].

The P content in maize genotypes varied from 334.40 to 719.99 mg/100 g. In purple maize, the lowest value was in MMB (334.40 mg/100 g), and the highest was in MRE (568.41 mg/100 g). In pinto maize, the lowest value was in PCA (549.82 mg/100 g), and the highest was in PLSI (719.99 mg/100 g). The P content for red, yellow and white maize was 619.71, 596.15 and 416.35 mg/100 g, respectively. Analysis of variance found significant differences ( $p < 0.05$ ) in P content among maize genotypes. Our results were higher than the range, from 210.0 to 310 mg/100 g, reported by Shah et al. [31], Sokrab et al. [34] and Suri and Tanumihardjo [33]. However, these results agree with reports by Salinas-Moreno et al. [27] and Bello-Pérez et al. [9], who mentioned that genetic information in each genotype has an important effect on the chemical composition of maize grain. Among maize genotypes, significant differences in S content ( $p < 0.05$ ) were found.

The S content values were higher than those reported by Klikocka et al. [35] of 1.2 mg/100 g in cereals. The S values varied between 1.91 and 2.18 mg/100 g. In purple maize, the lowest value was recorded in MPP (1.91 mg/100 g), and the highest was in MTE (2.15 mg/100 g). In pinto maize, the lowest was content was found in PLSI (2.01 mg/100 g), and the highest was in PTE (2.11 mg/100 g). Values for red, yellow and white were 2.21, 2.18 and 2.18 mg/100 g, respectively.

### 3.4.2 Microelements

The Cu content among pigmented maize genotypes varied from 0.20 to 0.53 mg/100 g (Table 6). In purple genotypes, the lowest Cu content was recorded in MPP (0.20 mg/100 g), and the highest was in MLSI (0.53 mg/100 g). In pinto maize, the lowest content was in PTE (0.25 mg/100 g), and the highest was in PLSI (0.49 mg/100 g). The values for red, yellow and white maize were 0.21, 0.24 and 0.36 mg/100 g, respectively. The values showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among maize genotypes. Our results for Cu content agree with values reported by Sokrab et al. [34], Obinna-Echem et al. [32] and Prasanthi et al. [36] from 0.11 to 0.79 mg/100 g in different maize genotypes.

Pigmented maize genotypes showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among Fe content. Our results varied from 0.77 to 2.53 mg/100 g. In purple maize, the lowest content was recorded in MPP (0.77 mg/100 g), and the highest was in MLSI (2.03 mg/100 g). In pinto maize, the lowest content was in PLSI (1.32 mg/100 g), and the highest was in PTE (2.20 mg/100 g). Results were similar to the reported average content of 2 mg/100 g of Sokrab et al. [34] and Suri and Tanumihardjo [33] who reported 1.34, 1.47 and 2.53 mg/100 g in red, yellow and white maize genotypes, respectively.

The Zn content values in maize genotypes varied from 2.80 to 4.50 mg/100 g. In purple maize, the lowest value was in MLSA (2.80 mg/100 g), and the highest was in MLSI (4.50 mg/100 g). In pinto maize, the lowest content was found in PCA (2.83 mg/100 g), and the highest was in PLSI (3.92 mg/100 g). Red, yellow and white maize

**Table 6** Microelements content of pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico

Genotype	Microelement (mg/100 g)			
	Cu	Fe	Zn	Mn
MPN	0.25 ± 0.03cd	1.91 ± 0.57abcd	3.75 ± 0.03de	0.48 ± 0.02c
MMB	0.23 ± 0.01cd	1.70 ± 0.11bcd	3.66 ± 0.08e	0.48 ± 0.01c
MLSI	0.53 ± 0.04a	2.03 ± 0.28abc	4.50 ± 0.01a	0.67 ± 0.01a
MLSA	0.29 ± 0.01bcd	1.55 ± 0.16bcde	2.80 ± 0.01i	0.54 ± 0.01c
MLSO	0.23 ± 0.02cd	1.16 ± 0.01de	2.84 ± 0.01ghi	0.52 ± 0.05c
MLAS	0.31 ± 0.01bc	1.49 ± 0.21bcde	3.00 ± 0.04g	0.47 ± 0.03c
MPP	0.20 ± 0.02d	0.77 ± 0.09e	2.97 ± 0.05gh	0.52 ± 0.01c
MRE	0.25 ± 0.01cd	1.33 ± 0.07cde	3.64 ± 0.01e	0.66 ± 0.04ab
MTE	0.22 ± 0.01cd	1.36 ± 0.09cde	4.17 ± 0.04b	0.73 ± 0.01a
PCA	0.26 ± 0.01bcd	1.57 ± 0.06bcd	2.83 ± 0.02hi	0.45 ± 0.01c
PLSI	0.49 ± 0.02a	1.32 ± 0.02cde	3.92 ± 0.04c	0.55 ± 0.01bc
PTE	0.25 ± 0.04cd	2.20 ± 0.19ab	3.67 ± 0.02e	0.51 ± 0.03c
RRC	0.21 ± 0.01d	1.34 ± 0.04cde	3.88 ± 0.01cd	0.54 ± 0.01c
AM	0.24 ± 0.01cd	1.47 ± 0.07bcde	3.39 ± 0.03f	0.54 ± 0.02c
TRB	0.36 ± 0.02b	2.53 ± 0.09a	4.49 ± 0.06a	0.30 ± 0.01d

Different letters in columns indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Values are reported as mean ± standard deviation ( $n = 3$ )



Our values were similar to Na concentrations ranging from 21.00 to 42.11 mg/100 g in maize genotypes reported by Shah et al. [31], Sokrab et al. [34] and Obinna-Echem et al. [32].

The P content in maize genotypes varied from 334.40 to 719.99 mg/100 g. In purple maize, the lowest value was in MMB (334.40 mg/100 g), and the highest was in MRE (568.41 mg/100 g). In pinto maize, the lowest value was in PCA (549.82 mg/100 g), and the highest was in PLSI (719.99 mg/100 g). The P content for red, yellow and white maize was 619.71, 596.15 and 416.35 mg/100 g, respectively. Analysis of variance found significant differences ( $p < 0.05$ ) in P content among maize genotypes. Our results were higher than the range, from 210.0 to 310 mg/100 g, reported by Shah et al. [31], Sokrab et al. [34] and Suri and Tanumihardjo [33]. However, these results agree with reports by Salinas-Moreno et al. [27] and Bello-Pérez et al. [9], who mentioned that genetic information in each genotype has an important effect on the chemical composition of maize grain. Among maize genotypes, significant differences in S content ( $p < 0.05$ ) were found.

The S content values were higher than those reported by Klikocka et al. [35] of 1.2 mg/100 g in cereals. The S values varied between 1.91 and 2.18 mg/100 g. In purple maize, the lowest value was recorded in MPP (1.91 mg/100 g), and the highest was in MTE (2.15 mg/100 g). In pinto maize, the lowest was content was found in PLSI (2.01 mg/100 g), and the highest was in PTE (2.11 mg/100 g). Values for red, yellow and white were 2.21, 2.18 and 2.18 mg/100 g, respectively.

### 3.4.2 Microelements

The Cu content among pigmented maize genotypes varied from 0.20 to 0.53 mg/100 g (Table 6). In purple genotypes, the lowest Cu content was recorded in MPP (0.20 mg/100 g), and the highest was in MLSI (0.53 mg/100 g). In pinto maize, the lowest content was in PTE (0.25 mg/100 g), and the highest was in PLSI (0.49 mg/100 g). The values for red, yellow and white maize were 0.21, 0.24 and 0.36 mg/100 g, respectively. The values showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among maize genotypes. Our results for Cu content agree with values reported by Sokrab et al. [34], Obinna-Echem et al. [32] and Prasanthi et al. [36] from 0.11 to 0.79 mg/100 g in different maize genotypes.

Pigmented maize genotypes showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among Fe content. Our results varied from 0.77 to 2.53 mg/100 g. In purple maize, the lowest content was recorded in MPP (0.77 mg/100 g), and the highest was in MLSI (2.03 mg/100 g). In pinto maize, the lowest content was in PLSI (1.32 mg/100 g), and the highest was in PTE (2.20 mg/100 g). Results were similar to the reported average content of 2 mg/100 g of Sokrab et al. [34] and Suri and Tanumihardjo [33] who reported 1.34, 1.47 and 2.53 mg/100 g in red, yellow and white maize genotypes, respectively.

The Zn content values in maize genotypes varied from 2.80 to 4.50 mg/100 g. In purple maize, the lowest value was in MLSA (2.80 mg/100 g), and the highest was in MLSI (4.50 mg/100 g). In pinto maize, the lowest content was found in PCA (2.83 mg/100 g), and the highest was in PLSI (3.92 mg/100 g). Red, yellow and white maize

**Table 6** Microelements content of pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico

Genotype	Microelement (mg/100 g)			
	Cu	Fe	Zn	Mn
MPN	0.25 ± 0.03cd	1.91 ± 0.57abcd	3.75 ± 0.03de	0.48 ± 0.02c
MMB	0.23 ± 0.01cd	1.70 ± 0.11bcd	3.66 ± 0.08e	0.48 ± 0.01c
MLSI	0.53 ± 0.04a	2.03 ± 0.28abc	4.50 ± 0.01a	0.67 ± 0.01a
MLSA	0.29 ± 0.01bcd	1.55 ± 0.16bcde	2.80 ± 0.01i	0.54 ± 0.01c
MLSO	0.23 ± 0.02cd	1.16 ± 0.01de	2.84 ± 0.01ghi	0.52 ± 0.05c
MLAS	0.31 ± 0.01bc	1.49 ± 0.21bcde	3.00 ± 0.04g	0.47 ± 0.03c
MPP	0.20 ± 0.02d	0.77 ± 0.09e	2.97 ± 0.05gh	0.52 ± 0.01c
MRE	0.25 ± 0.01cd	1.33 ± 0.07cde	3.64 ± 0.01e	0.66 ± 0.04ab
MTE	0.22 ± 0.01cd	1.36 ± 0.09cde	4.17 ± 0.04b	0.73 ± 0.01a
PCA	0.26 ± 0.01bcd	1.57 ± 0.06bcd	2.83 ± 0.02hi	0.45 ± 0.01c
PLSI	0.49 ± 0.02a	1.32 ± 0.02cde	3.92 ± 0.04c	0.55 ± 0.01bc
PTE	0.25 ± 0.04cd	2.20 ± 0.19ab	3.67 ± 0.02e	0.51 ± 0.03c
RRC	0.21 ± 0.01d	1.34 ± 0.04cde	3.88 ± 0.01cd	0.54 ± 0.01c
AM	0.24 ± 0.01cd	1.47 ± 0.07bcde	3.39 ± 0.03f	0.54 ± 0.02c
TRB	0.36 ± 0.02b	2.53 ± 0.09a	4.49 ± 0.06a	0.30 ± 0.01d

Different letters in columns indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Values are reported as mean ± standard deviation ( $n = 3$ )

105.75 mgCE/100 g in total extracts. In yellow maize, values were 10.50 in free extracts, 48.75 in bound extracts and 59.25 mgCE/100 g in total extracts. Finally, in white maize, the total flavonoids content was 8.25 in free extracts, 15.75 in bound extracts and 24.00 mgCE/100 g in total extracts. Analysis of variance showed significant differences among genotypes.

The content of total flavonoids in free extracts was similar to those obtained by Žilić et al. [42] between 24.86 and 33.75 mgCE/100 g. Additionally, our results agree with Taylor et al. [40], González-Muñoz et al. [43] and Acosta-Estrada et al. [41] who reported that phenolic compounds in cereals are bound together to some cell wall structures or form complexes with carbohydrates. Thus, an aggressive hydrolysis process is required for identification; such a method was employed in this research for bound phenolic compound extraction.

The condensed tannins content varied from 33.70 to 158.55 mgCE/100 g in free form (Table 8). Free form values for purple maize varied from 39.00 to 158.55, in pinto maize from 33.70 to 37.67 and in red maize at 67.67. Condensed tannins were not identified in pinto maize genotypes PLSI, AM and TRB or in bound extracts from all varieties.

Analysis of variance of condensed tannins content from free extracts showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among maize genotypes. The recorded condensed tannins content coincided with the results of Khattab et al. [44], Kaur et al. [45] and Taylor et al. [40] who reported a concentration of

75.00 to 153.00 mgCE/100 g for pigmented cereals. These authors also indicated that condensed tannins are present as a high percentage of total flavonoids. The high condensed tannins content in our results can be explained by Vermerris and Nicholson [46], who mentioned that when vanillin assay is used to determine them, the results could be affected by the presence of monomeric flavonols, which could increase results.

Total anthocyanins showed values in maize genotypes that varied from 1.38 to 74.52 mgC3GE/100 g (Table 8). For purple maize, values varied from 22.01 (MMB) to 74.52 (MLSO). In pinto maize, the values varied from 8.21 (PLSI) to 31.18 (PCA). Anthocyanins content in red maize was 24.69; in yellow maize, it was 2.94; and white maize contained 1.38 mgC3GE/100 g. Analysis of variance showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among maize genotypes.

The highest total anthocyanins concentration was found in purple maize with values from 22.01 to 74.52, while the lowest concentrations were found in yellow maize, with 2.94 and white maize with 1.38 mgC3GE/100 g. Our results were similar to those reported by Yang and Zhai [21], Salinas-Moreno et al. [22, 47], Mendoza-Diaz et al. [48] and Serna-Saldívar et al. [8]. These authors found anthocyanins contents ranging from 9.75 to 90.40 mgC3GE/100 g of dry matter in pigmented maize.

Yellow maize contained 2.94 mgC3GE/100 g of anthocyanins; this value was higher than those reported by Mendoza-Diaz et al. [48] and Serna-Saldívar et al. [8], who found values between 0.57 and 1.74 mgC3GE/100 g in yellow maize. The anthocyanins content in white maize (1.38 mgC3GE/100 g) agreed with Serna-Saldívar et al. [8], who found 1.3 mgC3GE/100 g but differed from the results by Mendoza-Díaz et al. [48] who did not detect anthocyanins in white maize.

**Table 8** Condensed tannins and total anthocyanins content of pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico

Genotype	Condensed tannins (mgCE/100 g)		Total	Total anthocyanins (mgC3GE/100 g)
	Free	Bound		
MPN	129.88 ± 7.48b	ND	129.88	42.08 ± 1.03d
MMB	70.32 ± 4.36de	ND	70.32	22.01 ± 0.18h
MLSI	39.00 ± 1.24fg	ND	39.00	21.79 ± 0.24h
MLSA	122.38 ± 11.85b	ND	122.38	61.89 ± 0.30b
MLSO	158.55 ± 1.87a	ND	158.55	74.52 ± 0.67a
MLAS	84.44 ± 4.36cd	ND	84.44	33.25 ± 0.79e
MPP	127.23 ± 3.74b	ND	127.23	61.54 ± 0.18b
MRE	57.52 ± 3.74ef	ND	57.52	43.51 ± 0.12d
MTE	98.55 ± 4.36c	ND	98.55	52.85 ± 0.85c
PCA	33.70 ± 4.99g	ND	33.70	31.18 ± 0.30f
PLSI	ND	ND	–	8.21 ± 0.12j
PTE	37.67 ± 3.11g	ND	37.67	14.92 ± 0.55i
RRC	67.67 ± 3.11de	ND	67.67	24.69 ± 0.67g
AM	ND	ND	–	2.94 ± 0.12k
TRB	ND	ND	–	1.38 ± 0.12k

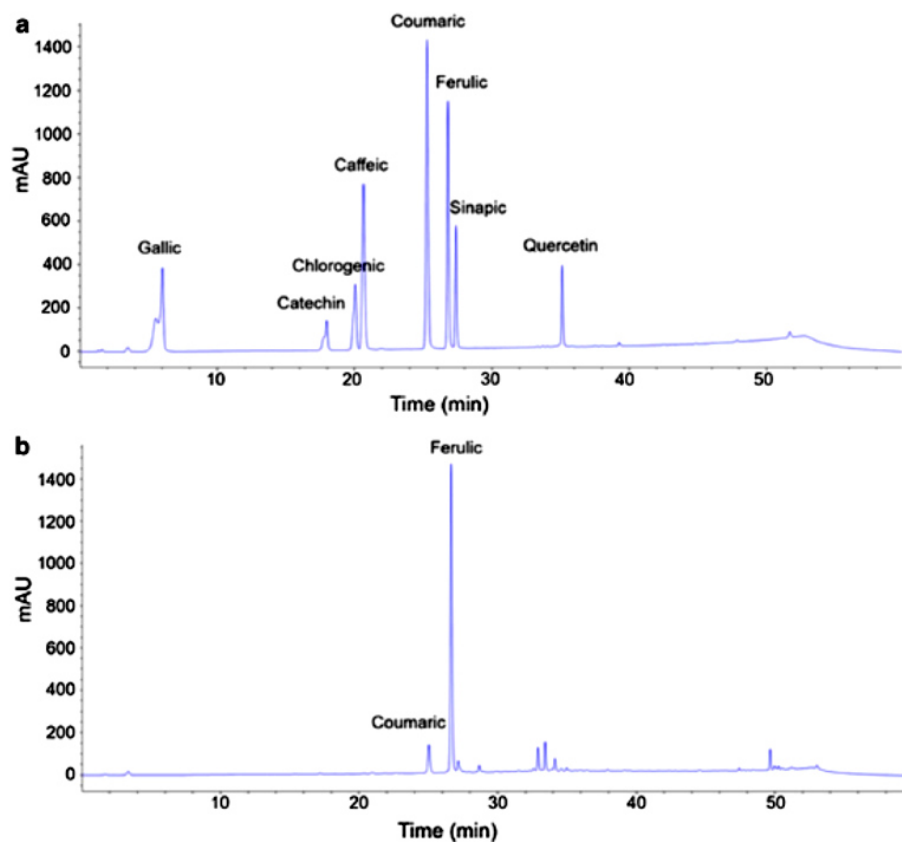
Different letters in columns indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Values are reported as mean ± standard deviation ( $n = 3$ )

### 3.6 Phenolics by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Analysis

Standards used for the HPLC calibration curves had the following retention times (RT) and coefficient of determination ( $R^2$ ): gallic acid, 5.50 and 5.98,  $R^2 = 0.99$ ; catechin, 17.75 and 17.95,  $R^2 = 0.99$ ; chlorogenic acid, 20.03,  $R^2 = 0.99$ ; caffeic acid, 20.63,  $R^2 = 0.99$ ; coumaric acid, 25.26,  $R^2 = 0.98$ ; ferulic acid, 26.78,  $R^2 = 0.99$ ; sinapic acid, 27.37,  $R^2 = 0.99$ ; quercetin, 35.11,  $R^2 = 0.99$  (Fig. 1).

The phenolic compounds were not identified in free phenolic extracts, while coumaric and ferulic acids were the only phenolics identified in bound extracts being in higher amount the latter one in all the genotypes. However, the retention times of these compounds in bound extracts were 25.01 min and 26.63 min, respectively, and it was necessary to compare their UV spectrum (200–400 nm) against UV

**Fig. 1** HPLC analysis of phenolic compounds analysis of the pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico. **a** standards, **b** sample extracts



spectrum of the standards of each compound to corroborate their identity.

The analysis of variance of the concentration of coumaric acid showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among genotypes with values that varied from 5.57 to 15.52 mg/100 g (Table 9). In purple maize, the lowest concentration was in MLSI (5.57 mg/100 g), and the highest was in MLSA (11.70 mg/100 g). In pinto maize, the lowest concentration was detected in PLSI (9.00 mg/100 g), and the highest was in PCA (14.85 mg/100 g). The concentrations for red, yellow and white maize were 12.27, 15.52 and 12.32 mg/100 g, respectively.

The concentration of ferulic acid among genotypes also showed significant differences ( $p < 0.05$ ) with values that varied from 99.48 to 164.90 mg/100 g (Table 9). In purple maize, the lowest value was in MMB (99.48 mg/100 g), and the highest was in MPP (144.86 mg/100 g). Pinto maize values ranged from the lowest (PTE, 130.05 mg/100 g) to the highest (PCA, 164.90 mg/100 g). Ferulic acid concentration in red, yellow and white maize was 144.78, 162.51 and 135.64 mg/100 g, respectively. The remaining phenolic compounds were not identified in none of the genotypes.

The results for coumaric acid and ferulic acid agreed with those of Cuevas-Montilla et al. [49] and Salinas-Moreno

**Table 9** Coumaric acid and ferulic acid content of pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico

Genotype	Phenolic compound (mg/100 g)		Total
	Coumaric	Ferulic	
MPN	6.73 ± 0.97fg	103.34 ± 15.48de	110.07
MMB	10.38 ± 1.24bcd	99.48 ± 6.85e	109.86
MLSI	5.57 ± 0.24g	118.72 ± 3.23cde	124.29
MLSA	11.70 ± 0.69bc	129.57 ± 8.63cd	141.27
MLSO	9.51 ± 0.48cde	124.30 ± 5.92cde	133.81
MLAS	10.69 ± 0.40bcd	132.99 ± 8.97c	143.68
MPP	10.82 ± 0.35bcd	144.86 ± 3.05abc	155.68
MRE	9.46 ± 1.02cde	143.32 ± 12.73abc	152.78
MTE	8.03 ± 0.16ef	140.30 ± 4.77abc	148.33
PCA	14.85 ± 0.51a	164.90 ± 0.80a	179.75
PLSI	9.00 ± 0.73def	131.56 ± 7.62cd	140.56
PTE	11.12 ± 1.19bcd	130.05 ± 8.69cd	141.17
RRC	12.27 ± 0.64b	144.78 ± 15.10abc	157.05
AM	15.52 ± 0.72a	162.51 ± 10.22ab	178.03
TRB	12.32 ± 8.7b	135.64 ± 15.04bc	147.96

Different letters in columns indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Values are reported as mean ± standard deviation ( $n = 3$ )

et al. [50] who reported coumaric and ferulic acids as dominant in pigmented maize; however, our results differ in the average concentration of the coumaric acid (316.30 mg/100 g) but agree with the reported average concentrations of ferulic acid at 136.65 mg/100 g. These authors also report that the extraction method is important, because this class of compounds is linked to carbohydrates in the cell walls, and an efficient alkaline hydrolysis is necessary for their extraction and quantification.

Additionally, Santos et al. [18] also mentioned that availability of phenolic compounds is influenced by the genetic composition of the sample, storage period and extraction method. Analysis of the cumulative concentrations of coumaric and ferulic acid in maize genotypes produced values from 109.86 to 179.75 mg/100 g; concentrations for total phenolic compounds content obtained by the Folin-Ciocalteu method varied from 349.31 to 485.71 mgGAE/100 g. Coumaric and ferulic acid concentration represent from 27.55 to 43.47% of the total phenols content. Thus, quantification of anthocyanins by HPLC is advisable to a better identification and quantification of the phenolic compounds present in pigmented maize samples.

### 3.7 Antioxidant Capacity

#### 3.7.1 DPPH

DPPH results for the maize genotypes varied from 470 to 749.10 in free extracts, 749.10 to 1136.10 in bound extracts and 1127.70 to 1865.70  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extracts and IC50 values from 31 to 52 mg/mL (Table 10). For purple

maize, DPPH values varied from 470.10 to 749.10 in free extracts, from 768.60 to 1136.10 in bound extracts and from 1286.70 to 1865.70  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extracts. Pinto maize DPPH readings varied from 497.10 to 626.10 in free extract, 501.60 to 836.10 in bound extract and 1127.70 to 1444.20  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract.

For red maize, DPPH readings were 623.10 in free extract, 749.10 in the bound extract and 1372.20  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract. DPPH readings in yellow maize were 581.10 in free extract, 956.10 in the bound extract and 1537.20  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract. White maize had DPPH readings of 620.10 in free extract, 987.60 in the bound extract and 1607.70  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract. Analysis of variance performed independently for each extract found significant differences ( $p < 0.05$ ) among genotypes.

Our results for free total phenolics were superior to those reported by González-Muñoz et al. [43] with 31.9 to 171.1  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  but were similar for bound total phenolics in the range between 471.10 and 923.00  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$ . Antioxidant activity was higher in bound total phenolics than in free total phenolics, and different authors [38, 43, 51] attributed this behavior to a higher concentration of total phenolics in the bound form because they make up the walls of the cellular structure that provide a chemical barrier to cellular oxidation.

#### 3.7.2 ABTS

ABTS results for each type of extract showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) among genotypes with values ranging between 687.90 and 940.65 in free extract samples, from

**Table 10** DPPH and ABTS antioxidant capacity of pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico

Genotype	DPPH ( $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$ ) and IC50 (mg/mL)				ABTS ( $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$ ) and IC50 (mg/mL)			
	Free	Bound	Total	IC50	Free	Bound	Total	IC50
MPN	594.60 $\pm$ 6.36cde	824.10 $\pm$ 46.66fgh	1418.70	41	800.40 $\pm$ 4.24cde	2727.00 $\pm$ 190.91bc	3527.40	12
MMB	470.10 $\pm$ 8.48f	816.60 $\pm$ 31.81fgh	1286.70	46	720.15 $\pm$ 35.00def	2719.50 $\pm$ 74.24bc	3439.65	13
MLSI	543.60 $\pm$ 19.09def	1050.60 $\pm$ 19.09abc	1594.20	37	687.90 $\pm$ 16.97f	3060.75 $\pm$ 68.94abc	3748.65	11
MLSA	729.60 $\pm$ 19.09a	1136.10 $\pm$ 12.72a	1865.70	31	918.15 $\pm$ 15.90a	3345.75 $\pm$ 217.43a	4263.90	10
MLSO	749.10 $\pm$ 16.97a	1091.10 $\pm$ 33.94ab	1840.20	32	908.40 $\pm$ 6.36ab	3053.25 $\pm$ 68.94abc	3961.65	11
MLAS	642.60 $\pm$ 14.84bc	909.60 $\pm$ 14.84def	1552.20	38	809.40 $\pm$ 4.24bcd	2704.50 $\pm$ 31.81c	3513.90	12
MPP	693.60 $\pm$ 19.09ab	768.60 $\pm$ 10.60gh	1462.20	40	935.40 $\pm$ 12.72a	2655.75 $\pm$ 58.33c	3591.15	12
MRE	522.60 $\pm$ 19.09ef	1022.10 $\pm$ 4.24bc	1544.70	38	770.40 $\pm$ 14.84def	3087.00 $\pm$ 137.88abc	3857.40	11
MTE	627.60 $\pm$ 31.819bc	861.60 $\pm$ 31.81efg	1489.20	39	940.65 $\pm$ 60.45a	3177.00 $\pm$ 137.88ab	4117.65	10
PCA	608.10 $\pm$ 8.48cd	836.10 $\pm$ 42.42fgh	1444.20	41	800.40 $\pm$ 8.48cde	2963.25 $\pm$ 5.30abc	3763.65	11
PLSI	626.10 $\pm$ 33.94bc	501.60 $\pm$ 19.09i	1127.70	52	688.65 $\pm$ 24.39f	2138.25 $\pm$ 100.76d	2826.90	15
PTE	497.10 $\pm$ 8.48f	773.10 $\pm$ 25.45gh	1270.20	46	704.40 $\pm$ 23.33ef	2978.25 $\pm$ 143.18abc	3682.65	12
RRC	623.10 $\pm$ 25.45bc	749.10 $\pm$ 21.21h	1372.20	43	877.65 $\pm$ 7.42abc	2708.25 $\pm$ 143.18c	3585.90	12
AM	581.10 $\pm$ 8.48cde	956.10 $\pm$ 16.97cde	1537.20	38	769.65 $\pm$ 45.60def	3263.25 $\pm$ 37.12a	4032.90	11
TRB	620.10 $\pm$ 4.24bc	987.60 $\pm$ 10.60cd	1607.70	37	719.40 $\pm$ 16.97def	3034.50 $\pm$ 106.06abc	3753.90	11

Different letters in columns indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Values are reported as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ )

2138.25 to 3345.75 in bound extracts and from 2826.90 to 4263.90  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extracts and IC50 values from 10 to 15 mg/mL (Table 10). In purple maize, the values varied from 687.90 to 935.40 in free extracts, 2655.75 to 3345.75 in bound extracts and 3439.65 to 4263.90  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extracts. In pinto maize, values ranged from 688.65 to 800.40 in free extracts, from 2138.25 to 2978.25 in bound extracts and 2826.90 to 3763.65  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extracts.

Red maize had ABTS readings of 877.65 in free extract, 2708.25 in bound extract and 3585.90  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract. Yellow maize ABTS results were 769.65 in free extract, 3263.25 in bound extract and 4032.90  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract. White maize had ABTS readings of 719.40 in free extract, 3034.50 in bound extract and 3753.90  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract. The results reported by González-Muñoz et al. [43] with 76.9 to 343.8  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in free extract and 1095.7 to 1696.4  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in bound extracts were lower than our results.

However, the results agreed with Serna-Saldívar et al. [8], Taylor et al. [40], Acosta-Estrada et al. [41] where bound total phenolics had greater antioxidant activity than free total phenolics. López-Martínez et al. [51] mentioned that this greater antioxidant capacity in bound extracts is due to ferulic acid.

### 3.7.3 FRAP

FRAP readings in maize genotypes varied from 283.06 to 512.47 in free extracts, from 447.88 to 952.59 in bound extracts and from 730.94 to 1340.65  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in

total antioxidant capacity (Table 11). In purple maize, the values varied from 317.91 to 512.47 in free extracts, 553.76 to 856.41 in bound extracts and 898.59 to 1340.65  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extracts. Pinto maize had values ranging from 283.06 to 350.56 in free extracts, 447.88 to 665.82 in bound extracts and 730.94 to 989.03  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extracts. For red maize, FRAP readings were 351.00 in free extract, 648.18 in bound extract and 999.18  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract. Yellow maize had FRAP readings of 328.94 in free extract, 952.59 in bound extract and 1281.53  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract. White maize FRAP readings were 349.68 in free extract, 777.00 in bound extract and 1126.68  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract. Analysis of variance performed independently for the free and bound extracts showed significant differences ( $p < 0.05$ ) among maize genotypes.

The results from free extracts were similar than values reported by Oboh et al. [39] who obtained 533  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  (ascorbic acid equivalents) in a white maize and also were in the range of those reported by Capocchi et al. [52] who reported 246 and 328  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in yellow and red maize genotypes, respectively. Regarding to bound phenolics, our data were lower than those obtained by Rodríguez et al. [53] who reported content of 1096, 1292, 957, 893 and 957  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in black, purple, pink, yellow and white maize genotypes, respectively. However, the results agreed with data by Žilić et al. [42] and González-Muñoz et al. [43] with the fact that they also reported greater antioxidant activity in bound extracts than in free extracts from maize.

**Table 11** FRAP and ORAC antioxidant capacity of pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico

Genotype	FRAP ( $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$ )			ORAC ( $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$ )		
	Free	Bound	Total	Free	Bound	Total
MPN	358.50 $\pm$ 9.36cde	564.35 $\pm$ 22.46e	922.85	3290.20 $\pm$ 22.30bc	1097.0 $\pm$ 28.3bcdef	4387.20
MMB	317.91 $\pm$ 9.36fg	639.35 $\pm$ 33.69de	957.26	3267.00 $\pm$ 142.00bc	1032.30 $\pm$ 23.9def	4299.30
MLSI	345.71 $\pm$ 9.98def	718.76 $\pm$ 21.21cd	1064.47	3161.40 $\pm$ 51.90bcd	1155.50 $\pm$ 52.0bcdef	4316.90
MLSA	496.59 $\pm$ 12.48a	708.18 $\pm$ 8.73cd	1204.76	4400.70 $\pm$ 75.10a	1191.90 $\pm$ 65.0abcde	5592.60
MLSO	512.47 $\pm$ 11.23a	828.18 $\pm$ 26.20b	1340.65	3141.60 $\pm$ 83.00bcde	1021.72 $\pm$ 12.07ef	4163.30
MLAS	344.82 $\pm$ 9.98def	553.76 $\pm$ 39.93e	898.59	3336.20 $\pm$ 74.10b	1389.20 $\pm$ 26.7a	4725.40
MPP	433.06 $\pm$ 7.49b	556.41 $\pm$ 13.73e	989.47	2953.10 $\pm$ 25.10defg	983.30 $\pm$ 42.7f	3936.40
MRE	375.71 $\pm$ 6.24cd	856.41 $\pm$ 33.69ab	1232.12	3381.04 $\pm$ 2.70b	1250.20 $\pm$ 79.0abc	4631.20
MTE	394.68 $\pm$ 10.61c	797.29 $\pm$ 24.96bc	1191.97	2874.0 $\pm$ 20.50efg	1044.55 $\pm$ 13.5def	3918.50
PCA	350.56 $\pm$ 8.11def	638.47 $\pm$ 19.97de	989.03	2960.07 $\pm$ 6.20defg	1293.70 $\pm$ 124.0ab	4253.70
PLSI	283.06 $\pm$ 6.24g	447.88 $\pm$ 14.97f	730.94	2494.50 $\pm$ 44.60h	990.30 $\pm$ 47.8f	3484.80
PTE	288.79 $\pm$ 9.36g	665.82 $\pm$ 36.19d	954.62	2854.01 $\pm$ 9.00fg	1227.10 $\pm$ 17.0abcd	4081.10
RRC	351.00 $\pm$ 11.23def	648.18 $\pm$ 3.74de	999.18	2871.40 $\pm$ 94.80efg	1080.60 $\pm$ 30.0cdef	3952.00
AM	328.94 $\pm$ 2.50ef	952.59 $\pm$ 29.95a	1281.53	3059.10 $\pm$ 71.90cdef	1157.40 $\pm$ 16.3bcdef	4216.50
TRB	349.68 $\pm$ 6.86def	777.00 $\pm$ 18.72bc	1126.68	2752.80 $\pm$ 110.70gh	1191.0 $\pm$ 36.1abcde	3943.80

Different letters in columns indicate statistical difference ( $p < 0.05$ ). Values are reported as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ )

**Table 12** Linear correlations between the anthocyanins content of color parameters, phenolic compounds and antioxidant

	Antho- cyanins	L* grain	C* grain	h grain	L* flour	C* flour	h flour	Phenols free	Phenols bound	Flavo- noids free	Flavo- noids bound	Con- densed tannins	DPPH free	DPPH bound	ABTS free	ABTS bound	FRAP free	FRAP bound	ORAC free	
L* grain	-0.48**																			
C* grain	-0.54**	0.59**																		
h grain	0.47**	0.50**	0.26																	
L* flour	-0.75**	-0.49**	0.53**	-0.06																
C* flour	-0.59**	-0.34	0.80**	-0.18	0.566**															
h flour	-0.78**	-0.60**	0.27	-0.14	0.738**	0.536**														
Phenols free	0.61**	-0.21	-0.13	0.24	-0.439*	0.044	-0.369*													
Phenols bound	0.39*	0.09	-0.23	0.54**	-0.127	0.049	0.005	0.459*												
Flavonoids free	0.83**	-0.59**	-0.58**	0.23	-0.751**	-0.605**	-0.692**	0.444*	0.219											
Flavonoids bound	0.01	-0.03	-0.15	0.23	-0.085	0.072	0.116	0.250	0.493**	-0.138										
Condensed tannins	0.92**	-0.53**	-0.35	0.38*	-0.701**	-0.538**	-0.894**	0.502**	0.156	0.786**	-0.133									
DPPH free	0.60**	-0.01	-0.31	0.43**	-0.244	-0.155	-0.373*	.674**	0.358	0.385*	-0.062	0.536**								
DPPH bound	0.37*	0.06	-0.09	0.26	-0.101	-0.004	-0.199	.229	0.649**	0.384*	-0.176	0.293	.228							
ABTS free	0.80**	-0.30	-0.20	0.49**	-0.568**	-0.269	-0.610**	.808**	0.471**	0.533**	0.268	0.742**	.731**	.237						
ABTS bound	0.22	0.116	-0.08	0.34	0.044	0.179	.078	.301	0.713**	0.192	0.146	0.104	.065	.815**	.253					
FRAP free	0.87**	-0.18	-0.31	0.50**	-0.0493**	-0.338	-0.602**	.660**	0.573**	0.729**	-0.029	0.773**	.761**	.619**	.778**	.427*				
FRAP bound	0.04	0.31	0.12	0.42**	-0.166	0.410*	0.191	.134	0.777**	-0.040	0.350	-0.086	-.048	.692**	.117	.800**	.287			
ORAC free	0.49*	-0.46**	-0.11	-0.11	-0.467**	-0.154	-0.448**	0.430**	0.200	0.642**	-0.300	0.480**	0.230	0.649**	0.312	0.487**	0.558**	0.160		
ORAC bound	-0.138	0.13	-0.28	-0.28	0.131	0.079	0.199	-0.030	0.052	-0.240	-0.164	-0.244	-0.103	0.288	-0.140	0.300	-0.121	0.077	0.243	

\*Significant ( $p < 0.05$ ); \*\*significant ( $p < 0.01$ )



### 3.7.4 ORAC

Independent analysis of variance for the antioxidant capacity determined by the ORAC method for free and bound extracts of maize genotypes showed significant differences ( $p < 0.05$ ) with values of 2494.50 to 4400.70 in free extracts, 983.30 to 1389.20 in bound extracts and 3484.80 to 5592.60  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extracts (Table 11). In purple maize, values varied from 29.53.10 to 4400.70 in free extracts, 983.30 to 1389.20 in bound extracts and 3918.50 to 5592.60  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extracts. In pinto maize, values varied from 2494.50 to 2960.07 in free extracts, 990.30 to 1293.70 in bound extracts and 3484.80 4253.70  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extracts. For red maize, values were 2871.40 in free extract, 1080.60 in bound extract and 3952.00  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract. In yellow maize, readings were 3059.10 in free extract, 1157.40 in bound extract and 4216.5  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract. White maize ORAC readings were 2752.80 in free extract, 1191.00 in bound extract and 3943.80  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  in total extract. These results are higher than those reported by Urias-Lugo et al. [11] with 2032  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$  and Urias-Orona et al. [19] with 1456  $\mu\text{molTE}/100\text{ g}$ .

In addition, a variation value in antioxidant capacity in genotypes was observed. For instance, the MLSO was the genotype with the highest anthocyanin content, but also showed the lowest DPPH, ABTS and ORAC compared with the MLSA genotype. This effect is described by Žilić et al. [42] and Urias-Lugo et al. [54], who mentioned that the antioxidant capacity of anthocyanins is related to the structure and acylation pattern, because the number of hydroxyl groups and their position in the molecule modulates their antioxidant capacity.

## 4 Correlations

The anthocyanins content had a negative significant correlation versus  $L^*$ ,  $C^*$  and  $h$  values in the grain and flour, with correlation coefficients of  $-0.48$ ,  $-0.54$  and  $0.47$  in grain and  $-0.75$ ,  $-0.59$  and  $-0.78$  in flour, respectively (Table 12). These results indicate that color correlates with anthocyanin content: as  $L^*$ ,  $C^*$  and  $h$  values decrease, anthocyanin content increases. On the other hand, significant positive correlations coefficients between anthocyanins versus free phenols, free flavonoids, condensed tannins, free DPPH, free ABTS, free FRAP and free ORAC with values of 0.61, 0.83, 0.92, 0.60, 0.80, 0.87 and 0.49, respectively. Furthermore, in color values of grain, negative significant correlation in  $L^*$  versus condensed tannins and ORAC, also negative significant correlation in  $C^*$  versus flavonoids and a positive significant correlation in  $h$  versus DPPH, ABTS and FRAP.

## 5 Conclusions

The  $L^*$  and  $C^*$  values of the color parameter were higher in light-colored maize genotypes, and a significant correlation was found between the values  $L^*$ ,  $C^*$  and  $h$ , phenolic, antioxidant capacity and anthocyanin content. In proximal and mineral analyses, the results varied among maize genotypes that exhibit the genetic diversity of the materials collected in the northeast of Mexico. Total phenols values were higher in bound extracts. The total flavonoids content varied among genotypes. Condensed tannins were only detected in free extracts. However, higher concentrations of flavonoids, anthocyanins and condensed tannins were detected in pigmented maize, and a correlation was found among these three variables. Phenolic acids (coumaric and ferulic) were quantified by HPLC–DAD. These acids were the main compounds found in the bound extracts of pigmented maize. However, these acids only represent 27.55 to 43.47% of the total phenolic compounds detected by the Folin–Ciocalteu method. All maize genotypes showed antioxidant activity in free and bound extracts. Higher antioxidant activity was detected in bound extracts by DPPH, ABTS and FRAP methods, while in the antioxidant activity measured by ORAC, the highest antioxidant activities were found in free extracts. We also verified the existence of a vast genetic diversity in Mexico that could be employed as a source for improved genotypes with greater nutraceutical value.

**Acknowledgements** Pablo Alan Rodríguez-Salinas acknowledges to Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the doctorate scholarship 429040. Thanks to Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica 2015 of Universidad Autónoma de Nuevo León (PAICYT-UANL) for the Projects CT255-15 and CT252-15 awarded to Guillermo Niño-Medina and Francisco Zavala-García, respectively. Authors also thank Dr. Juan Manuel Hernández-Casillas for helping in classification of the maize genotypes races. Francisco Zavala-García and Guillermo Niño-Medina contributed equally to this work.

## References

1. Kato, T.A.; Mapes, C.; Mera, L.M.; Serratos, J.A.; Bye, R.A.: Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México (2009)
2. Escalante-Aburto, A.; Ramírez-Wong, B.; Torres-Chávez, P.I.; Barrón-Hoyos, J.M.; Figueroa-Cárdenas, J.D.; López-Cervantes, J.: The nixtamalization process and its effect on anthocyanin content of pigmented maize, a review. *Rev. Fitotec. Mex.* **36**, 429–437 (2013)
3. Karakaya, S.: Bioavailability of phenolic compounds. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **44**, 453–464 (2004)
4. Naczki, M.; Shahidi, F.: Extraction and analysis of phenolics in foods. *J. Chromatogr. A* **1054**, 95–111 (2004)

5. Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémesy, C.; Jiménez, L.: Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* **79**, 727–747 (2004)
6. Vitaglione, P.; Napolitano, A.; Fogliano, V.: Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trends Food Sci. Technol.* **19**, 451–463 (2008)
7. Zhao, Z.; Egashira, Y.; Sanada, H.: Phenolic antioxidants richly contained in corn bran are slightly bioavailable in rats. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 5030–5035 (2005)
8. Serna-Saldivar, S.O.; Gutiérrez-Urbe, J.A.; Mora-Rochin, S.; García-Lara, S.: Nutraceutical potential of native maize and changes during traditional and extrusion processing. *Rev. Fitotec. Mex.* **36**(S3A), 295–304 (2013)
9. Bello-Pérez, L.A.; Camelo-Méndez, G.A.; Agama-Acevedo, E.; Utrilla-Coello, R.G.: Nutraceutical aspects of pigmented maize: digestibility of carbohydrates and anthocyanins. *Agrociencia* **50**, 1041–1063 (2016)
10. Urias-Lugo, D.A.; Heredia, J.B.; Valdez-Torres, J.B.; Muiy-Rangel, M.D.; Serna-Saldivar, S.O.; García-Lara, S.: Physical properties and chemical characterization of macro and micro nutrients of elite blue maize hybrids (*Zea mays* L.). *Cereal Res. Commun.* **43**, 295–306 (2015)
11. Urias-Lugo, D.A.; Heredia, J.B.; Serna-Saldivar, S.O.; Muiy-Rangel, M.D.; Valdez-Torres, J.B.: Total phenolics, total anthocyanins and antioxidant capacity of native and elite blue maize hybrids (*Zea mays* L.). *CYTAJ. Food.* **13**, 336–339 (2015)
12. Commission Internationale De L'ecclairage (CIE): Cie 15: Technical Report: Colorimetry, 3rd edn. CIE Publicaciones, Vienna (2004)
13. ColorHexa: Color Encyclopedia: Information and Conversion. Computer Software. [www.colorhexa.com](http://www.colorhexa.com) (2019). Accessed 15 Jan 2019
14. Association of Official Analytical Chemist (AOAC): Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th edn. AOAC, Maryland (1998)
15. Niño-Medina, G.; Muiy-Rangel, M.; Urias-Orona, V.: Chickpea (*Cicer arietinum*) and soybean (*Glycine max*) hulls: byproducts with potential use as a source of high value-added food products. *Waste Biomass Valor.* **8**, 1199–1203 (2017)
16. López-Contreras, J.J.; Zavala-García, F.; Urias-Orona, V.; Martínez-Ávila, G.C.C.; Rojas, R.; Niño-Medina, G.: Chromatic, phenolic and antioxidant properties of *Sorghum bicolor* genotypes. *Not. Bot. Horti. Agrobot.* **43**, 366–370 (2015)
17. Abdel-Aal, E.S.; Hucl, P.: A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chem.* **76**, 350–354 (1999)
18. Santos, J.; Oliveira, M.B.P.P.; Ibañez, E.; Herrero, M.: Phenolic profile evolution of different ready-to-eat baby-leaf vegetables during storage. *J. Chromatogr. A* **1327**, 118–131 (2014)
19. Urias-Orona, V.; Heredia, J.B.; Muiy-Rangel, D.; Niño-Medina, G.: Phenolic acids with antioxidant activity in maize bran and wheat bran. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* **3**, 43–50 (2016)
20. Minitab 18.0.: Statistical software, computer software. Minitab, State College. [www.minitab.com](http://www.minitab.com) (2018). Accessed 26 Oct 2018
21. Yang, Z.; Zhai, W.: Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **11**, 169–176 (2010)
22. Salinas-Moreno, Y.; Pérez-Alonso, J.J.; Vázquez-Carrillo, G.; Aragón-Cuevas, F.; Velázquez-Cardelas, G.A.: Anthocyanins and antioxidant activity in maize grains (*Zea mays* L.) of chalqueño, elotes cónicos and bolita races. *Agrociencia* **46**, 693–706 (2012)
23. Moreira, R.; Chenlo, F.; Arufe, S.; Rubinos, S.N.: Physicochemical characterization of white, yellow and purple maize flours and rheological characterization of their doughs. *J. Food Sci. Technol.* **53**, 7954–7963 (2015)
24. Bolade, M.K.; Adeyemi, I.A.: Functionality enhancement of composite cassava flour in the production of maize tuwo (a non-fermented maize-based food dumpling). *Food Bioproc. Tech.* **5**, 1340–1348 (2012)
25. Camelo-Méndez, G.A.; Agama-Acevedo, E.; Tovar, J.; Bello-Pérez, L.A.: Functional study of raw and cooked blue maize flour: starch digestibility, total phenolic content and antioxidant activity. *J. Cereal Sci.* **76**, 179–185 (2017)
26. Vázquez-Carrillo, M.; Pérez-Camarillo, J.P.; Hernández-Casillas, J.M.; Marrufo-Díaz, M.; Martínez-Ruiz, E.: Quality of grain and tortilla made with local maize landraces from the high valleys and the valley of mezquital, Mexico. *Rev. Fitotec. Mex.* **33**(S4), 49–56 (2010)
27. Salinas-Moreno, Y.; Aragón-Cuevas, F.; Ybarra-Moncada, C.; Aguilar-Villarreal, J.; Altunlar-López, B.; Sosa-Montes, E.: Physical characterization and chemical composition of maize races with blue/purple grain from tropical and subtropical regions of Oaxaca. *Rev. Fitotec. Mex.* **36**, 23–31 (2013)
28. Sumczynski, D.; Bubelova, Z.; Sneyd, J.; Erb-Weber, S.; Mlcek, J.: Total phenolics, flavonoids, antioxidant activity, crude fibre and digestibility in non-traditional wheat flakes and muesli. *Food Chem.* **174**, 319–325 (2015)
29. Nuss, E.T.; Tanumihardjo, S.A.: Maize: a paramount staple crop in the context of global nutrition. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **9**, 417–436 (2010)
30. Kahrman, F.; Egesel, C.Ö.; Egesel, B.: A comparative study on changes and relationships of kernel biochemical components in different types of maize. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **92**, 1451–1459 (2015)
31. Shah, H.U.; Simpson, T.J.; Alam, S.; Khattak, K.F.; Perveen, S.: Mould incidence and mycotoxin contamination in maize kernels from Swat Valley, north west frontier province of Pakistan. *Food Chem. Toxicol.* **48**, 1111–1116 (2010)
32. Obinna-Echem, P.C.; Beal, J.; Kuri, V.: Effect of processing method on the mineral content of Nigerian fermented maize infant complementary food-Akamu. *LWT Food Sci. Technol.* **61**, 145–151 (2015)
33. Suri, D.J.; Tanumihardjo, S.A.: Effects of different processing methods on the micronutrient and phytochemical contents of maize: from A to Z. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **15**, 912–926 (2016)
34. Sokrab, A.M.; Mohamed Ahmed, I.A.; Babiker, E.E.: Effect of fermentation on antinutrients, and total and extractable minerals of high and low phytate corn genotypes. *J. Food Sci. Technol.* **51**, 2608–2615 (2014)
35. Klikocka, H.; Cybulska, M.; Barczak, B.; Narolski, B.; Szostak, B.; Kobiałka, A.; Nowak, A.; Wójcik, E.: The effect of sulphur and nitrogen fertilization on grain yield and technological quality of spring wheat. *Plant Soil Environ.* **62**, 230–236 (2016)
36. Prasanthi, P.S.; Naveena, N.; Rao, M.V.; Bhaskarachary, K.: Compositional variability of nutrients and phytochemicals in corn after processing. *J. Food Sci. Technol.* **54**, 1080–1090 (2017)
37. Lao, F.; Sigurdson, G.T.; Giusti, M.M.: Health benefits of purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **16**, 234–246 (2017)
38. Salinas-Moreno, Y.; Lopez-Reynoso, J.D.; González-Flores, G.B.; Vázquez-Carrillo, G.: Phenolic compounds of maize grain and their relationship with darkening in dough and tortilla. *Agrociencia* **41**, 295–305 (2007)
39. Oboh, G.; Ademiluyi, A.O.; Akindahunsi, A.A.: The effect of roasting on the nutritional and antioxidant properties of yellow and white maize varieties. *Int. J. Sci. Technol.* **45**, 1236–1242 (2010)
40. Taylor, J.R.N.; Dlamini, B.C.; Kruger, J.: 125th anniversary a review: the science of the tropical cereals sorghum, maize and rice in relation to lager beer brewing. *J. Inst. Brew.* **119**, 1–14 (2013)



41. Acosta-Estrada, B.A.; Gutiérrez-Urbe, J.A.; Serna-Saldívar, S.O.: Bound phenolics in foods, a review. *Food Chem.* **152**, 46–55 (2014)
42. Žilić, S.; Serpen, A.; Akilhoğlu, G.; Gökmen, V.; Vančetović, J.: Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *J. Agric. Food Chem.* **60**, 1224–1231 (2012)
43. González-Muñoz, A.; Quesille-Villalobos, A.M.; Fuentealba, C.; Shetty, K.; Gálvez Ranilla, L.: Potential of Chilean native corn (*Zea mays* L.) accessions as natural sources of phenolic antioxidants and in vitro bioactivity for hyperglycemia and hypertension management. *J. Agric. Food Chem.* **61**, 10995–11007 (2013)
44. Khattab, R.; Goldberg, E.; Lin, L.; Thiyam, U.: Quantitative analysis and free-radical-scavenging activity of chlorophyll, phytic acid, and condensed tannins in canola. *Food Chem.* **122**, 1266–1272 (2010)
45. Kaur, K.D.; Jha, A.; Sabikhi, L.; Singh, A.K.: Significance of coarse cereals in health and nutrition: a review. *J. Food Sci. Technol.* **51**, 1429–1441 (2014)
46. Vermerris, W.; Nicholson, R.: Isolation and identification of phenolic compounds. In: Vermerris, W., Nicholson, R. (eds.) *Phenolic Compound Biochemistry*, pp. 151–196. Springer, Dordrecht (2008)
47. Salinas-Moreno, Y.; Cruz-Chávez, F.J.; Diaz-Ortiz, S.A.; Castillo-González, F.: Pigmented maize grains from Chiapas, physical characteristics, anthocyanin content and nutraceutical value. *Rev. Fitotec. Mex.* **35**, 33–41 (2012)
48. Mendoza-Díaz, S.; Ortiz-Valerio, M.C.; Castaño-Tostado, E.; Figueroa-Cárdenas, J.D.; Reynoso-Camacho, R.; Ramos-Gómez, M.; Campos-Vega, R.; Loarca-Piña, G.: Antioxidant capacity and antimutagenic activity of anthocyanin and carotenoid extracts from nixtamalized pigmented creole maize races (*Zea mays* L.). *Plant Foods Hum. Nutr.* **67**, 442–449 (2012)
49. Cuevas-Montilla, E.; Hillebrand, S.; Antezana, A.; Winterhalter, P.: Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* **59**, 7068–7074 (2011)
50. Salinas-Moreno, Y.; Martínez-Bustos, F.; Soto-Hernández, M.; Ortega-Paczka, R.; Arellano-Vázquez, J.L.: Effect of alkaline cooking process on anthocyanins in pigmented maize grain. *Agrociencia* **37**, 617–628 (2003)
51. Lopez-Martinez, L.X.; Oliart-Ros, R.M.; Valerio-Alfaro, G.; Lee, C.H.; Parkin, K.L.; Garcia, H.S.: Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT Food Sci. Technol.* **42**, 1187–1192 (2009)
52. Capocchi, A.; Bottega, S.; Spanò, C.; Fontanini, D.: Phytochemicals and antioxidant capacity in four Italian traditional maize (*Zea mays* L.) varieties. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **68**, 515–524 (2017)
53. Rodríguez, V.M.; Soengas, P.; Landa, A.; Ordas, A.; Revilla, P.: Effects of selection for color intensity on antioxidant capacity in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* **193**, 339–345 (2013)
54. Urias-Lugo, D.A.; Heredia, J.B.; Muy-Rangel, M.D.; Valdez-Torres, J.B.; Serna-Saldívar, S.O.; Gutiérrez-Urbe, J.A.: Anthocyanins and phenolic acids of hybrid and native blue maize (*Zea mays* L.) extracts and their antiproliferative activity in mammary (MCF7), liver (HepG2), colon (Caco2 and HT29) and prostate (PC3) cancer cells. *Plant Foods Hum. Nutr.* **70**, 193–199 (2015)



## THERMAL PROCESSING EFFECTS ON THE MICROBIOLOGICAL, PHYSICO-CHEMICAL, MINERAL, AND NUTRACEUTICAL PROPERTIES OF A ROASTED PURPLE MAIZE BEVERAGE

PABLO A. RODRÍGUEZ-SALINAS<sup>1</sup>, DOLORES MUY-RANGEL<sup>2</sup>, VANIA URÍAS-ORONA<sup>3</sup>, FRANCISCO ZAVALA-GARCÍA<sup>1</sup>, ÁNGELA SUÁREZ-JACOBO<sup>4</sup>, JOSÉ B. HEREDIA<sup>2</sup>, WERNER RUBIO-CARRASCO<sup>2</sup>, GUILLERMO NIÑO-MEDINA<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Laboratorio de Química y Bioquímica, Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda El Canadá, C.P. 66050. General Escobedo, Nuevo León, México

<sup>2</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), A.C., Coordinación Culiacán. Carretera Culiacán a El Dorado km 5.5, C.P. 80110. Col. Campo el Diez, Culiacán, Sinaloa, México

<sup>3</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Salud Pública y Nutrición, Laboratorio de Química de los Alimentos. Av. Dr. Eduardo Aguirre Pequeño y Yuridia, Col. Mitrás Centro, C.P. 64460. Monterrey, Nuevo León, México

<sup>4</sup>Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), A.C., Unidad Noreste. Parque de Investigación e Innovación Tecnológica (PIIT), C.P. 66629. Apodaca, Nuevo León, México

\*corresponding author: [guillermo.ninomd@uanl.edu.mx](mailto:guillermo.ninomd@uanl.edu.mx)

Manuscript received: January 2019

### Abstract

Thermal processing treatment of a roasted purple maize beverage was shown to be effective for reducing the microbiological growth since, after thermal treatment, microbial development was not detected. Physicochemical parameters, soluble solids, pH, and titratable acidity were not affected by the treatment, while  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ , and  $h$  chromatic parameters showed statistical differences. However, the visual aspects were not affected by the different thermal processing treatments. In terms of mineral content, the main effects were observed on Na, Mn, Cu and Zn concentrations. The thermal processing treatments resulted in higher contents of total phenols, total flavonoids, and total anthocyanins, while condensed tannins were not detected following any of the treatments. HPLC analysis detected ferulic acid in all treatments. On the other hand, chlorogenic acid was detected only in the control, while caffeic acid was detected in all thermal treatments, which means that caffeic acid is released from chlorogenic acid by thermal processing. The DPPH and FRAP antioxidant capacity levels were higher following thermal processing treatment, while the ABTS assay showed a contrasting behaviour.

### Rezumat

Procesarea termică a băuturilor pe bază de porumb este cunoscută a fi eficientă din punct de vedere microbiologic. Parametrii fizico-chimici, pH-ul și aciditatea nu au fost afectate de procesul tehnologic, în timp ce parametrii cromatici ai  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  și  $h$  au prezentat diferențe statistice. Cu toate acestea, aspectele vizuale nu au fost afectate de diferite tratamente termice de procesare. În ceea ce privește conținutul mineral, efectele principale au fost observate pentru Na, Mn, Cu și Zn. Tratamentul termic a condus la creșterea fenolului, a flavonoidelor și a antocianinilor totali, în timp ce taninurile condensate nu au fost detectate. Analiza HPLC a identificat acidul ferulic. Pe de altă parte, acidul clorogenic a fost detectat numai în probele martor, în timp ce acidul cafeic a fost identificat în toate probele analizate, ceea ce relevă că acidul clorhidric este eliberat din acid clorogenic prin procesare termică. Nivelurile antioxidante DPPH și FRAP au fost mai mari după tratamentul termic, în timp ce analiza ABTS a prezentat un comportament contrastant.

**Keywords:** thermal processing, maize beverage, nutraceutical properties, physicochemical parameters, mineral content

### Introduction

Beverages are by far the most active functional food category because of their convenience and ability to meet consumer demands in terms of container contents, size, shape, and appearance, as well as their ease of distribution and storage, including refrigerated and shelf-stable products. In addition, they are excellent delivery matrices for nutrients and bioactive compounds [8]. Cereals and their ingredients have been accepted as functional foods as they provide several health-promoting components such as dietary fibre, proteins,

minerals and antioxidants. Cereals are now employed in the preparation of foods that are similar in appearance to conventional foods. These foods are used in the normal diet but have an added advantage of aiding physiological functions along with providing nutrition [10].

Maize (*Zea mays* L.) is one of the most commonly consumed cereals in the world, and Mexico is the centre of origin, domestication, and diversification of this crop. Because of this, it is important for the diet, society, culture, and economy of this country [15].

Some Mexican maize types are native genotypes that produce yellow, black, purple, blue, red, and orange grains. Due to their contents of phenolic compounds and their antioxidant capacity levels, they have been suggested to have nutraceutical properties [11].

Also, the outer tissues of cereals are rich in phenolic acids [38], and in particular, the bran of maize has been shown to be one of the most abundant sources of ferulic acid [40]. In addition, pigmented maize genotypes are rich in flavonoid compounds, especially anthocyanins [34] which give them their particular pigmentation and have beneficial effects on human health [4]. In Mexico, there are diverse native pigmented maize genotypes, and generally, they are grown for self-supply of the rural communities where they are produced; thus, their nutritional and nutraceutical properties are unknown. The aim of this work was to evaluate the thermal processing effect on the microbiological, physicochemical, mineral and nutraceutical properties of a roasted purple maize beverage.

## Materials and Methods

### Beverage formulation

Maize grains of "Morado La Soledad" purple genotype were roasted at 145°C for 30 min. After that, the roasted grains were milled and sieved to obtain a flour with particle size < 0.5 mm (using standard mesh size 35). In the first step of the beverage formulation, two phases were prepared separately. In phase one, maize flour was mixed with sugar, cinnamon, stevia, xanthan gum and carboxymethyl cellulose. In phase two, water and vanilla extract were mixed. The beverage was obtained by mixing vigorously the two phases for 5 min and finally submitted to thermal treatments. The composition of the maize beverage is shown in Table I.

**Table I**  
Maize beverage formulation

Ingredient	%
Water	94.83
Maize flour	2.37
Sugar	1.90
Vanilla extract	0.47
Cinnamon	0.14
Stevia	0.14
Xanthan gum	0.09
Carboxymethyl cellulose	0.05

### Thermal treatments

The treatments included a control (no thermal treatment) and three thermal processes: 63°C for 30 min, 73°C for 15 min and 85°C for 5 min. Control and thermal treatments were placed in 200 mL threaded glass bottles and sealed with aluminium bottle caps and left to cool down at room temperature. Twelve hours after their preparation the microbiological, physicochemical parameters, mineral composition and nutraceutical properties of the beverages were measured.

### Microbiological analysis

Microbiological analysis was carried out according to Suárez-Jacobo *et al.* [35] with minor modifications. Decimal dilution in peptone water solution was used for microbial counting. Aerobic mesophilic were incubated on plate count agar (PCA, Oxoid Ltd., Basingstoke, UK) incubated at 36°C for 48 h. Lactobacilli were incubated on non-acidified Man-Rogosa-Sharpe agar (MRS, Oxoid) at 37°C for 48 h with 5% CO<sub>2</sub> injection. *Enterobacteriaceae* were incubated on violet red bile glucose agar (VRBG, Oxoid) at 37°C for 24 h. Moulds and yeasts were incubated on potato dextrose agar (PDA, Oxoid) with 10% tartaric acid (Oxoid) at 25°C for 5 days. For counting of total spores, maize beverage was heated at 95°C for 5 min, cooled in ice and pours plated on plate count agar (PCA, Oxoid) and incubated for 48 h at 37°C.

### Physicochemical parameters

The soluble solids were measured placing two drops of sample in the prism of an Atago Master-M 2313 refractometer (Tokyo, Japan). For the measurement of pH and titratable acidity, 10 mL of sample was diluted with 40 mL of distilled water. The pH was read in a Corning, 440 pH meter (Woburn, USA) and after that, samples were titrated with 0.1 M NaOH to a pH of 8.2 (malic acid as predominant) according to the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [3]. For colour determination, a 1.5 mL spectrophotometric cuvette was filled with sample, and colour was determined using a CR-20 Konica Minolta Color Reader (Tokyo, Japan). Chromatic parameters were obtained using CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) and CIELCH ( $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h$ ) colour systems according to Commission Internationale De L'ecclairage (CIE) [7].  $L^*$  defines lightness (0 = black, 100 = white),  $a^*$  indicates red (positive  $a^*$ ) or green value (negative  $a^*$ ) and  $b^*$  indicates yellow (positive  $b^*$ ) or blue value (negative  $b^*$ ),  $C^*$  (chroma; saturation level of  $h$ ) and  $h$  (hue angle: 0° = red, 90° = yellow, 180° = green, 270° = blue). Colour view was obtained by online software ColorHexa colour converter using  $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$  values [6].

### Mineral content

Mineral analysis was performed based on AOAC [3] methods using an Agilent Atomic Absorption 240FS spectrometer (Santa Clara, United States). Briefly, 5 mL of 3 M HCl was added to 50 mL of sample and digested-evaporated at boiling temperature until 20 mL of sample was obtained. Afterwards, samples were filtered and used for mineral analysis. Potassium and sodium were detected by emission at wavelengths of 589.6 and 769.9 nm, respectively, while calcium, magnesium, iron, zinc, copper, and manganese were determined by absorption at wavelengths of 422.7, 285.2, 248.3, 213.9, 324.7, and 279.5 nm, respectively. The results were expressed as milligrams per liter of sample (mg/L) based on calibration curves prepared with standards of each mineral (0 to 100 mg/L for

sodium and potassium; 0 to 10 mg/L for calcium, magnesium, iron and manganese; and 0 to 5 mg/L for zinc and copper).

*Total phenols, total flavonoids, condensed tannins, and total anthocyanins*

Total phenols, total flavonoids and condensed tannins were carried out according to López-Contreras *et al.* [19], while total anthocyanins content was measured according to Abdel-Aal and Hucl [1], all the assays were performed at room temperature. The content of total phenols was determined based on the Folin-Ciocalteu reaction. Briefly, 0.2 mL of sample was placed in 2.6 mL of distilled water, oxidized with 0.2 mL of Folin-Ciocalteu reagent and after 5 min neutralized with 2 mL of 7% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> solution. The reaction was left for 90 min in darkness and finally the absorbance of the sample was measured at 750 nm. Gallic acid was used as the standard (0 to 200 mg/L) and the results were expressed as milligrams of gallic acid equivalent *per* litre of sample (mg GAE/L).

The content of total flavonoids was evaluated based on the reaction of aluminium chloride. Briefly, 0.2 mL of sample extract was placed in 3.5 mL of distilled water, followed by 0.15 mL of 5% NaNO<sub>2</sub>. After 5 min, 0.15 mL of 10% AlCl<sub>3</sub> was added and 5 min later 1.0 mL of 1 M NaOH was added. Samples were left for 15 min in darkness and finally their absorbance was measured at 510 nm. Catechin was used as standard (0 to 200 mg/L) and the results were expressed as milligrams of catechin equivalents *per* litre of sample (mg CatE/L).

The content of condensed tannins was determined based on the reaction of vanillin-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Briefly, 0.25 mL of sample extract was mixed with 0.65 mL of 1% vanillin solution and 0.65 mL of 25% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (both dissolved in methanol). The samples were incubated 15 min at 30°C in darkness and finally the absorbance was measured at 500 nm. Catechin was used as standard (0 to 200 mg/L) and the results were expressed as milligrams of catechin equivalents *per* litre of sample (mg CatE/L).

For total anthocyanins content, 200 µL of sample were mixed with 10 mL of ethanol-HCl (85:15 v/v, pH 1, 4°C) and shaken at 200 rpm for 30 min. Afterwards, the sample was centrifuged at 1000 rpm for 15 min and finally the absorbance of 3.5 mL of sample was measured at 535 nm. The content of anthocyanins was reported as milligrams of cyanidin-3-glucoside (C3G) equivalents *per* litre of sample (mg C3GE/L) using the following formula:

$C = (A/\epsilon) * (V/1000) * MW * (1/\text{weight of sample}) * 10^6$ ,  
where: C = concentration in mg C3GE/L<sup>1</sup>, A = absorbance of sample,  $\epsilon$  = molar absorptivity (mg C3GE = 26965/cm x mol), V = volume of sample, MW = molecular weight of C3G (449.2 g/mol).

*High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Analysis of Phenolics*

The content of individual phenolics by HPLC were analysed according to Santos *et al.* [32]. The phenolic compounds were identified in an Agilent 1260 Infinity chromatograph equipped with autosampler (G1329B), quaternary pump (G1311C), thermostated column compartment (G1316A) and diode array detector (G4212B) (Agilent, Santa Clara, United States). The separation was carried out in an Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 (5 µm, 100 mm x 3 mm) and the mobile phase consisted of a gradient mixture of water (1% HCl, solvent A) and methanol (1% HCl, solvent B). The gradient used was: 0 min, 95% A; 4 min, 95% A; 20 min, 73% A; 50 min, 5% A; 57 min, 99%A; 58 min, 99% A; 60 min, 95% A. The flow rate was 0.7 mL/min, the injection volume of sample used was 10 µL and all the samples were run at 25°C. The detection of the phenolic compounds was recorded at 280 nm and the spectrum of each compound was recorded by a diode array from 200 to 400 nm. Levels of phenolic compounds were calculated based on a calibration curve obtained with standards of caffeic acid, catechin, chlorogenic acid, coumaric acid, ferulic acid, gallic acid, quercetin and sinapic acid in concentrations from 0 to 160 mg/L. The results were expressed as milligrams *per* litre of sample (mg/L) of each phenolic compound.

*DPPH, ABTS, and FRAP antioxidant capacity*

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) and FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) antioxidant capacity assays were carried out according to López-Contreras *et al.* [19]. The DPPH antioxidant capacity was evaluated using a working solution of 60 µM (in 80% methanol) with the absorbance adjusted to 0.7 at 517 nm. The assay was carried out by mixing 0.2 mL of sample with 3.3 mL of the DPPH working solution at room temperature, the reaction was left for 30 min in darkness and the absorbance was determined.

The ABTS (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) antioxidant capacity was carried out using a working solution obtained by mixing one mL 7.4 mM of ABTS and one mL of 2.6 mM of K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> and allowing them to react for 12 h in darkness. After that, the absorbance of the working solution was adjusted to 0.7 at 734 nm by diluting with methanol. The ABTS assay was performed by mixing 0.2 mL of sample with 3.3 mL of ABTS working solution at room temperature, reaction was left for 30 min in darkness and the absorbance of the sample was measured. The FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) antioxidant capacity was determined using a working solution prepared by mixing 300 mM C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub> \* 3 H<sub>2</sub>O (pH 3.6), 10 mM TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine, in 40 mM HCl) and 20 mM FeCl<sub>3</sub> \* 6 H<sub>2</sub>O in 10:1:1 (V:V:V) proportion. The FRAP assay was prepared by mixing 0.2 mL of sample with 3.3 mL

of FRAP working solution, the samples were left for 30 min in darkness at 37°C and their absorbance were registered at 593 nm. Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) was used as standard (0 to 200 µmol/L) for DPPH, ABTS and FRAP assays and the results were expressed as micromoles of Trolox equivalent *per* litre of sample (µmol TE/L).

## Results and Discussion

### Microbiological analysis

The microbiological analysis of the control maize beverage (Table II) showed values of 7.31, 1.58, and 7.07 log CFU/mL for aerobic mesophiles, lactobacilli and enterobacteria, respectively. All of the thermal samples treatments used showed a total inactivation of the microorganisms detected in the control treatment obtaining a lethality equal to and/or greater than that of aerobic mesophiles, lactobacilli, and enterobacteria.

**Table II**

Microbiological analysis of maize beverage samples

Treatment	Microbial group (log CFU/mL)				
	Aerobic mesophiles	Lactobacilli	Enterobacteria	Moulds and yeasts	Spores
Control	7.31 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.58 ± 0.02 <sup>b</sup>	7.07 ± 0.04 <sup>a</sup>	ND	ND
63°C, 30 min	ND	ND	ND	ND	ND
73°C, 15 min	ND	ND	ND	ND	ND
85°C, 5 min	ND	ND	ND	ND	ND

The different letters in the columns indicate statistical difference ( $p \leq 0.05$ ,  $n = 3$ ). ND = not detected

Moulds, yeasts, and spores were not detected in any treatment. These results show that all heat treatment conditions had a lethal effect on the microorganisms in the beverage, and Suárez-Jacobo *et al.* [35] and Rico *et al.* [30] mentioned that the thermal treatment is effective for the beverage conservation due to the inactivation of pathogenic microorganisms and microorganisms responsible for the deterioration of food.

### Physicochemical parameters

The soluble solid value (Table III) in the maize beverages was statistically similar after the thermal

treatments; the only observed difference was for the treatments at 85°C and 63°C, which showed values of 2.03 and 2.23, respectively. The pH values varied from 6.21 to 6.31, and the titratable acidity value in all samples was 0.033% (Table III). Measured variables showed no difference ( $p \geq 0.05$ ) related to the thermal process applied. Our results show that the thermal processes do not significantly modify soluble solids, the pH, or the titratable acidity, as observed previously by Yusof and Chiong [39], Suárez-Jacobo *et al.*, [35] and Zulueta *et al.* [41].

**Table III**

Analysis of soluble solids, pH, and titratable acidity in maize beverage samples

Treatment	Physicochemical parameter		
	Soluble solids (%)	pH	Titratable acidity (%)
Control	2.17 ± 0.058 <sup>ab</sup>	6.29 ± 0.081 <sup>a</sup>	0.033 ± 0.001 <sup>a</sup>
63°C, 30 min	2.23 ± 0.058 <sup>a</sup>	6.22 ± 0.032 <sup>a</sup>	0.033 ± 0.001 <sup>a</sup>
73°C, 15 min	2.13 ± 0.058 <sup>ab</sup>	6.24 ± 0.006 <sup>a</sup>	0.033 ± 0.001 <sup>a</sup>
85°C, 5 min	2.03 ± 0.058 <sup>b</sup>	6.21 ± 0.036 <sup>a</sup>	0.033 ± 0.001 <sup>a</sup>

The different letters in the columns indicate statistical differences ( $p \leq 0.05$ ,  $n = 3$ ).

The chromatic variables in maize beverages showed statistical differences ( $p \leq 0.05$ ) among treatments for  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ , and  $h$ . The chromatic property values were as follows:  $L^*$ : from 33.92 to 31.10,  $a^*$ : from 2.84 to 2.44 to 2.84,  $b^*$ : from 9.00 to 7.24,  $C^*$ : from 9.42 to 7.80, and  $h$ : from 72.44 to 70.10 (Table IV). For all chromatic properties, the control showed the highest values, while the 73°C, 15 min

treatment showed the lowest values for  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , and  $C^*$  and the 85 °C, 15 min treatment showed the lowest value for  $h$ . It was observed that the values of chromatic properties decreased with the increasing temperature, which agrees with the results obtained by Cortés *et al.* [9] and Zulueta *et al.* [41], who reported changes in chromatic values in beverages after thermal processes.

**Table IV**

Chromatic properties in maize beverage samples

Treatment	Chromatic property					View
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h$	
Control	33.92 ± 0.13 <sup>a</sup>	2.84 ± 0.05 <sup>a</sup>	9.00 ± 0.07 <sup>a</sup>	9.42 ± 0.04 <sup>a</sup>	72.44 ± 0.21 <sup>a</sup>	
63 °C, 30 min	32.26 ± 0.15 <sup>b</sup>	2.44 ± 0.11 <sup>c</sup>	7.42 ± 0.08 <sup>b</sup>	7.84 ± 0.11 <sup>b</sup>	71.80 ± 0.70 <sup>a</sup>	
73 °C, 15 min	31.10 ± 0.68 <sup>c</sup>	2.58 ± 0.16 <sup>bc</sup>	7.24 ± 0.25 <sup>b</sup>	7.68 ± 0.28 <sup>b</sup>	70.40 ± 0.60 <sup>b</sup>	
85 °C, 5 min	31.20 ± 0.19 <sup>c</sup>	2.66 ± 0.09 <sup>ab</sup>	7.32 ± 0.08 <sup>b</sup>	7.80 ± 0.10 <sup>b</sup>	70.10 ± 0.41 <sup>b</sup>	

The different letters in the columns indicate statistical differences ( $p \leq 0.05$ ,  $n = 3$ ).

However, we determined that browning was not caused by enzymatic reactions, since the thermal process temperatures inactivate oxidizing enzymes such as polyphenol oxidase, as described by Rico *et al.* [30], Jang and Moon [14] and Rawson *et al.* [28]. We attribute the browning to non-enzymatic reactions such as the Maillard reaction and caramelization of the sugars in the sample, as reported by Ajandouz *et al.* [2], Tacora *et al.* [36], and Pérez-Hernández *et al.* [27].

#### Mineral content

The contents of the major minerals in the maize beverages following different thermal treatments did not show a statistical difference ( $p \geq 0.05$ ): Ca (209.65 to 189.55 mg/L), Mg (41.03 to 34.84 mg/L), K (129.60 to 97.39 mg/L), P (169.60 to 145.74 mg/L),

and S (91.73 to 83.76 mg/L). For Na, there was a statistical difference ( $p \leq 0.05$ ) and values ranged from 254.27 to 200.43 mg/L (Table V). For the minor minerals, the observed values were as follows: Mn: from 0.36 to 0.15 mg/L, Cu: from 0.34 to 0.18 mg/L and Zn: from 0.72 to 0.25 mg/L. In addition, Fe values ranged from 3.87 to 2.11 mg/L, and the thermal treatment results were not statistically different ( $p \geq 0.05$ ) (Table VI). The contents of major and minor minerals indicate that the formulated maize beverage is an excellent source of minerals, which are essential for daily intake as an important part of human nutrition. These inorganic elements are required for the regulation of metabolic, structural and biochemical functions in organisms [20, 22, 26].

**Table V**

Major mineral contents in maize beverage samples

Treatment	Major elements (mg/L)					
	Ca	Mg	K	Na	P	S
Control	209.65 ± 2.29 <sup>a</sup>	34.84 ± 0.14 <sup>a</sup>	129.60 ± 16.70 <sup>a</sup>	254.27 ± 10.41 <sup>a</sup>	169.60 ± 8.51 <sup>a</sup>	86.53 ± 1.30 <sup>a</sup>
63 °C, 30 min	189.55 ± 10.68 <sup>a</sup>	38.71 ± 5.58 <sup>a</sup>	100.52 ± 1.48 <sup>a</sup>	226.57 ± 1.02 <sup>b</sup>	145.74 ± 4.53 <sup>a</sup>	91.73 ± 0.57 <sup>a</sup>
73 °C, 15 min	206.15 ± 1.51 <sup>a</sup>	41.03 ± 0.27 <sup>a</sup>	97.89 ± 34.02 <sup>a</sup>	219.24 ± 5.24 <sup>bc</sup>	149.39 ± 7.15 <sup>a</sup>	87.41 ± 0.21 <sup>a</sup>
85 °C, 5 min	204.96 ± 6.42 <sup>a</sup>	37.58 ± 1.26 <sup>a</sup>	97.39 ± 3.49 <sup>a</sup>	200.43 ± 1.32 <sup>c</sup>	160.97 ± 16.77 <sup>a</sup>	83.76 ± 5.08 <sup>a</sup>

The different letters in the columns indicate statistical differences ( $p \leq 0.05$ ,  $n = 3$ ).

**Table VI**

Minor mineral contents in maize beverage samples

Treatment	Minor elements (mg/L)			
	Mn	Cu	Zn	Fe
Control	0.28 ± 0.021 <sup>ab</sup>	0.34 ± 0.009 <sup>a</sup>	0.72 ± 0.095 <sup>a</sup>	3.87 ± 0.22 <sup>a</sup>
63 °C, 30 min	0.15 ± 0.013 <sup>b</sup>	0.26 ± 0.006 <sup>ab</sup>	0.57 ± 0.048 <sup>a</sup>	2.96 ± 0.48 <sup>a</sup>
73 °C, 15 min	0.19 ± 0.068 <sup>b</sup>	0.18 ± 0.060 <sup>b</sup>	0.25 ± 0.029 <sup>b</sup>	3.64 ± 0.72 <sup>a</sup>
85 °C, 5 min	0.36 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.040 <sup>ab</sup>	0.56 ± 0.016 <sup>a</sup>	2.11 ± 0.34 <sup>a</sup>

The different letters in the columns indicate statistical differences ( $p \leq 0.05$ ,  $n = 3$ ).

#### Total phenols, total flavonoids, condensed tannins, and total anthocyanins

The total phenol content varied from 125.10 to 103.20 mg GAE/L with statistical differences among thermal treatments. The lowest value was obtained in the control treatment and the highest was obtained in the thermal treatment at 63 °C for 30 min. The thermal treatments at 73 °C for 15 min and 85 °C for 5 min showed values of 124.35 and 120.95 mg GAE/L,

respectively (Table VII). The increase in total phenols was explained by Krings and Berger *et al.* [17] and Oboh *et al.* [23], who mentioned that the Maillard reaction causes the formation of high molecular weight compounds, such as melanoidins, thereby increasing the detection of total phenols [27, 36], but the thermal treatments can also release bound phenolics which can increase the antioxidant capacity [31].

**Table VII**

Content of phenolic compounds in maize beverage samples

Treatment	Phenolic group (mg/L)			
	Total phenols	Total flavonoids	Condensed tannins	Total anthocyanins
Control	103.20 ± 2.14 <sup>b</sup>	53.14 ± 4.11 <sup>b</sup>	ND	1.09 ± 0.09 <sup>a</sup>
63 °C, 30 min	125.10 ± 1.95 <sup>a</sup>	62.31 ± 4.59 <sup>ab</sup>	ND	1.16 ± 0.11 <sup>a</sup>
73 °C, 15 min	124.35 ± 2.08 <sup>a</sup>	62.03 ± 2.55 <sup>ab</sup>	ND	1.25 ± 0.17 <sup>a</sup>
85 °C, 5 min	120.95 ± 4.36 <sup>a</sup>	70.36 ± 3.37 <sup>a</sup>	ND	1.32 ± 0.11 <sup>a</sup>

The different letters in the columns indicate statistical differences ( $p \leq 0.05$ ). Values are shown as mean ± standard deviation. <sup>a</sup>mg GAE/L, <sup>ab</sup>mg CatE/L, <sup>abc</sup>mg C3GE/L, ND = not detected.

As for the total flavonoid concentration, values varied from 70.36 to 53.14 mg CatE/L. The lowest value was found in the beverage without thermal treatment and the highest value was found following the 85 °C, 5 min treatment. It should be noted that thermal processes had

a positive effect on total flavonoid identification in the beverage because the content increased as the temperature of thermal treatment increased (Table VII). This increment in total flavonoids could be explained by results of Caristi *et al.* [5] and Gattuso *et al.* [12]

who mentioned that flavonoids can be found in a glycosylated form, which prevents their detection by common spectrophotometric methods. Condensed tannins were not identified in any of the treatments. The total anthocyanin content ranged from 1.32 (85°C, 5 min) to 1.09 (control) mg C3GE/L, but no statistical differences were found among the treatments (Table VII). The total anthocyanins results could be attributed to the low maize flour concentration in the prepared beverage; however, despite the dilution, they were quantified at low concentrations. These results differ from those reported by Harbourne *et al.* [13] and Mishra *et al.* [21] who mentioned that anthocyanins present in beverages formulated from anthocyanin-rich products degrade faster with a greater heat treatment temperature.

#### High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Analysis of Phenolics

Regarding the phenolics analysis by HPLC, chlorogenic acid was only detected in the control treatment with a value of 37.14 mg/L. On the other hand, caffeic acid was not detected in the control treatment, but it was detected in all thermal treatments with values ranging from 33.26 (85°C, 5 min) to 27.93 (63°C, 30 min) mg/L, and statistical differences ( $p \leq 0.05$ ) were found

among treatments (Table VIII) (Figure 1). The changes in the caffeic acid content correlated with the temperature; as the temperature increased, the caffeic content also increased. From the results obtained, a relationship between the loss of chlorogenic acid in the samples and thermal treatment can be deduced, because chlorogenic acid is the result of an esterification of caffeic acid with quinic acid [24, 18], and the ester linkage can be broken by thermal treatment, as described by Variyar *et al.* [37].

This behaviour may explain why chlorogenic acid was only detected in the control sample and caffeic acid was detected in all the thermal treated samples. In addition, there was a higher concentration of caffeic acid as the temperature of the treatment increased.

Ferulic acid was detected in all treatments, with statistical differences ( $p \leq 0.05$ ) among treatments (Table VIII) (Figure 1). Values were from 40.57 (85°C, 5 min) to 34.70 (73°C, 15 min) mg/L. These results indicate that as the temperature of the sterilization process increased, it also increased the release of ferulic acid from the structure of the cell wall or other glycosylated compounds, as was previously described by Saulnier *et al.* [33] and Kim *et al.* [16].

Table VIII

Phenolic compounds determined by HPLC analysis in maize beverage samples

Treatment	Phenolic compound (mg/L)			Total
	Chlorogenic acid	Caffeic acid	Ferulic acid	
Control	37.14 ± 3.77 <sup>a</sup>	ND	36.46 ± 0.55 <sup>b</sup>	73.60
63°C, 30 min	ND	27.93 ± 1.98 <sup>b</sup>	35.72 ± 2.05 <sup>b</sup>	63.65
73°C, 15 min	ND	29.38 ± 0.79 <sup>b</sup>	34.70 ± 1.95 <sup>b</sup>	64.08
85°C, 5 min	ND	33.26 ± 0.44 <sup>a</sup>	40.57 ± 0.68 <sup>a</sup>	73.83

The different letters in the columns indicate statistical differences ( $p \leq 0.05$ ,  $n = 3$ ). ND = not detected.

#### DPPH, ABTS, and FRAP antioxidant capacity

The antioxidant capacity, as determined by DPPH (Table IX), in beverages ranged from 384.78 to 312.00  $\mu\text{mol TE/L}$ , with the 85°C, 5 min treatment and the control having the highest and the lowest values, respectively, with statistical differences ( $p \leq 0.05$ ) among treatments. These outcomes may be explained by the results found by Tacora *et al.* [36] and Pérez-Hernández *et al.* [27] who mentioned that products generated in the Maillard reaction result from thermal treatment.

The antioxidant capacity results measured by ABTS assay also showed statistical differences ( $p \leq 0.05$ ) among treatments, with values that ranged from 527.91

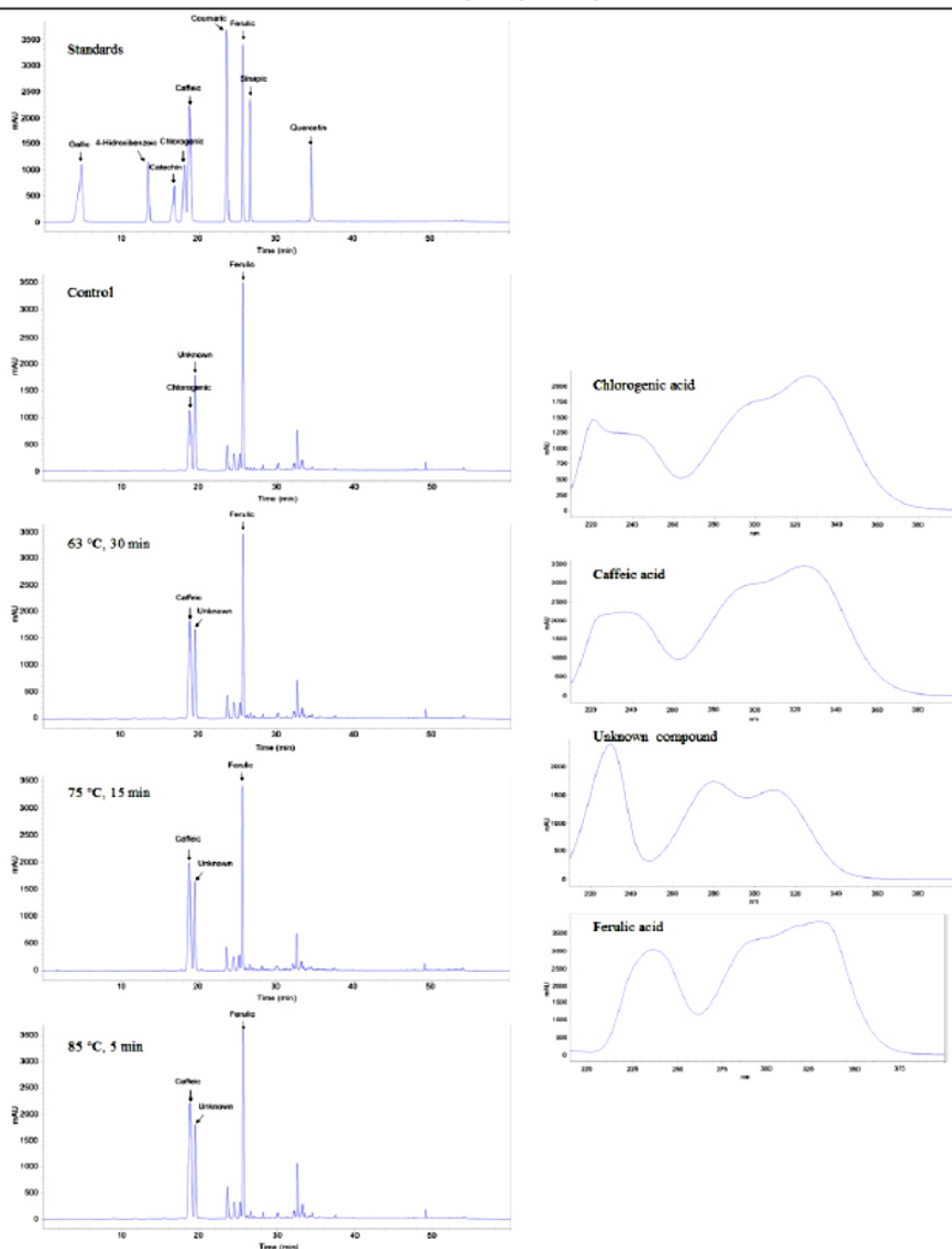
to 449.30  $\mu\text{mol TE/L}$ . The lowest value was observed in the 85°C, 5 min treatment, and the highest value was observed in the control treatment. The ABTS results for the maize beverage showed that increasing the temperature of the thermal treatment decreased the antioxidant capacity (Table IX). This change is the result of several factors that affect phenolic compounds; several authors have mentioned that phenolic compounds are easily oxidized during food preparation processes, as pH, light, metal ions, temperature, oxygen and sugar might influence the content of other compounds, including those with the ability to release electrons [14, 25, 28, 29, 30].

Table IX

Antioxidant capacity of maize beverage samples

Treatment	Antioxidant capacity ( $\mu\text{mol TE/L}$ )		
	DPPH	ABTS	FRAP
Control	312.00 ± 11.67 <sup>b</sup>	519.30 ± 5.84 <sup>a</sup>	1093.33 ± 85.20 <sup>b</sup>
63°C, 30 min	360.89 ± 10.72 <sup>a</sup>	455.97 ± 20.68 <sup>b</sup>	1478.33 ± 58.38 <sup>a</sup>
73°C, 15 min	313.11 ± 9.18 <sup>b</sup>	478.09 ± 14.29 <sup>ab</sup>	1530.00 ± 13.23 <sup>a</sup>
85°C, 5 min	384.78 ± 6.31 <sup>a</sup>	449.30 ± 12.34 <sup>b</sup>	1566.67 ± 80.36 <sup>a</sup>

The different letters in the columns indicate statistical differences ( $p \leq 0.05$ ,  $n = 3$ )



**Figure 1.**

Chromatograms and spectra of phenolic compounds identified by HPLC in maize beverage samples

Results for the FRAP antioxidant capacity showed statistical differences ( $p \leq 0.05$ ) with values that varied from 1093 to 1566.67  $\mu\text{mol TE/L}$ . Lower results were obtained in the control beverage, and higher results were obtained in the case of heat treatments (63, 73 and 85°C); an increase of ferric ion reduction occurred as the temperature increased (Table IX). The increase of the antioxidant capacity detected by the FRAP method was explained by Krings and Berger [17], Kim *et al.* [16], and Oboh *et al.* [23], who reported

that after a thermal process, the antioxidant capacity increased and  $\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}$  ferric ion reduction improved. This behaviour was attributed to the synergism of phytochemicals and the melanoidins, produced by Maillard reaction. However, in this evaluation of antioxidant capacity, the results obtained differ from those reported by Rhim [29] and Patras *et al.* [25] who stated that sugar can cause the oxidation of phenolic compounds.

## Conclusions

The results showed that the thermal treatment has no effect on the organoleptic characteristics, the concentration of soluble solids, the pH, or the titratable acidity of a roasted purple maize beverage. The thermal treatment was efficient of eliminating microorganisms that can accelerate the deterioration of the beverage. The beverage developed for this research is an excellent source of essential minerals. Additionally, it was found that its content of phenolic compounds and its antioxidant capacity increased following the heat treatment.

## References

- Abdel-Aal ESM, Hucl P, A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chem.*, 1999; 76(3): 350-354.
- Ajandouz EH, Tchiakpe LS, Dalle Ore F, Benajiba A, Puigserver A, Effects of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose-lysine model systems. *J Food Sci.*, 2001; 66(7): 926-931.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC), Official Methods of Analysis of AOAC International, 1998; Rockville, MD, USA, 16<sup>th</sup> edition.
- Bello-Pérez LA, Camelo-Méndez GA, Agama-Acevedo E, Utrilla-Coello RG, Nutraceutical aspects of pigmented maize: digestibility of carbohydrates and anthocyanins. *Agrociencia*, 2016; 50(8): 1041-1063 (available in Spanish).
- Caristi C, Bellocco E, Gargiulli C, Toscano G, Leuzzi U, Flavone-di-C-glycosides in citrus juices from Southern Italy. *Food Chem.*, 2006; 95(3): 431-437.
- ColorHexa, Color Encyclopedia: Information and Conversion: Comp. Software, 2017; www.colorhexa.com.
- Commission Internationale De L'ecclairage, Cie 15: Technical Report: Colorimetry, Commission Internationale De L'ecclairage, 2004; Vienna, Austria, 3<sup>rd</sup> edition.
- Corbo MR, Bevilacqua A, Petrucci L, Casanova FP, Sinigaglia M, Functional beverages: the emerging side of functional foods. *Compr Rev Food Sci F.*, 2014; 13(6): 1192-1206.
- Cortés C, Esteve MJ, Frigola A, Color of orange juice treated by high intensity pulsed electric fields during refrigerated storage and comparison with pasteurized juice. *Food Control*, 2008; 19(2): 151-158.
- Das A, Raychaudhuri U, Chakraborty R, Cereal based functional food of Indian subcontinent: a review. *J Food Sci Tech Mys.*, 2012; 49(6): 665-672.
- Escalante-Aburto A, Ramírez-Wong B, Torres-Chávez PI, Barrón-Hoyos JM, Figueroa-Cárdenas JD, López-Cervantes J, The nixtamalization and its effect on the anthocyanin content of pigmented maize, a review. *Rev Fitotec Mex.*, 2013; 36: 429-437 (available in Spanish).
- Gattuso G, Barreca D, Gargiulli C, Leuzzi U, Caristi C, Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules*, 2007; 12(8): 1641-1673.
- Harbourne N, Jacquier JC, Morgan DJ, Lyng JG, Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods. *Food Chem.*, 2008; 111(1): 204-208.
- Jang JH, Moon KD, Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. *Food Chem.*, 2011; 124(2): 444-449.
- Kato TA, Mapes C, Mera LM, Serratos JA, Bye RA, Origin and diversification of corn: an analytical review. National Autonomous University Mexico. National Commission for the Knowledge and Use of Biodiversity, 2009; México DF, México: 116 (available in Spanish).
- Kim KH, Tsao R, Yang R, Cui SW, Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chem.*, 2006; 95(3): 466-473.
- Krings U, Berger RG, Antioxidant activity of some roasted foods. *Food Chem.*, 2001; 72(2): 223-229.
- Lafay S, Morand C, Manach C, Besson C, Scalbert A, Absorption and metabolism of caffeic acid and chlorogenic acid in the small intestine of rats. *Brit J Nutr.*, 2006; 96(1): 39-46.
- Lopez-Contreras JJ, Zavala-Garcia F, Urias-Orona V, Martinez-Avila GCG, Rojas R, Niño-Medina G, Chromatic, phenolic and antioxidant properties of *Sorghum bicolor* genotypes. *Not Bot Horti Agrobo.*, 2015; 43(2): 366-370.
- Mir-Marqués A, Cervera ML, de la Guardia M, A preliminary approach to mineral intake in the Spanish diet established from analysis of the composition of university canteen menus. *J Food Compos Anal.*, 2012; 27(2): 160-168.
- Mishra DK, Dolan KD, Yang L, Confidence intervals for modeling anthocyanin retention in grape pomace during nonisothermal heating. *J Food Sci.*, 2008; 73(1): E9-E15.
- Obinna-Echem PC, Beal J, Kuri V, Effect of processing method on the mineral content of Nigerian fermented maize infant complementary food - Akamu. *LWT-Food Sci Technol.*, 2015; 61(1): 145-151.
- Obboh G, Ademiluyi AO, Akindahunsi AA, The effect of roasting on the nutritional and antioxidant properties of yellow and white maize varieties. *Int J Food Sci Tech.*, 2010; 45(6): 1236-1242.
- Olthof MR, Hollman PC, Katan MB, Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J Nutr.*, 2001; 131(1): 66-71.
- Patras A, Brunton NP, O'Donnell C, Tiwari BK, Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends Food Sci Tech.*, 2010; 21(1): 3-11.
- Pedro NAR, de Oliveira E, Cadore S, Study of the mineral content of chocolate flavoured beverages. *Food Chem.*, 2006; 95(1): 94-100.
- Pérez-Hernández LM, Chávez-Quiroz K, Medina-Juárez LA, Gámez-Meza N, Phenolic characterization, melanoidins, and antioxidant activity of some commercial coffees from *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. *J Mex Chem Soc.*, 2012; 56(4): 430-435.
- Rawson A, Patras A, Tiwari BK, Noci F, Koutchma T, Brunton N, Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: review of recent advances. *Food Res Int.*, 2011; 44(7): 1875-1887.

29. Rhim JW, Kinetics of thermal degradation of anthocyanin pigment solutions driven from red flower cabbage. *Food Sci Biotechnol.*, 2002; 11(4): 361-364.
30. Rico D, Martin-Diana AB, Barat JM, Barry-Ryan C, Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends Food Sci Tech.*, 2007; 18(7): 373-386.
31. Rusu ME, Gheldiu AM, Mocan A, Vlase L, Popa DS, Anti-aging potential of tree nuts with a focus on the phytochemical composition, molecular mechanisms and thermal stability of major bioactive compounds. *Food Funct.*, 2018; 9(5): 2554-2575.
32. Santos J, Oliveira MBPP, Ibáñez E, Herrero M, Phenolic profile evolution of different ready-to-eat baby-leaf vegetables during storage. *J Chromatogr A.*, 2014; 1327: 118-131.
33. Saulnier L, Marot C, Elgorriaga M, Bonnin E, Thibault JF, Thermal and enzymatic treatments for the release of free ferulic acid from maize bran. *Carbohydr Polym.*, 2001; 45(3): 269-275.
34. Sema-Saldivar SO, Gutiérrez-Urbe JA, Mora-Rochin S, García-Lara S, Nutraceutical potential of the criollo maize and changes during the traditional processing and with extrusion. *Rev Fitotec Mex.*, 2013; 36(3A): 295-304 (available in Spanish).
35. Suárez-Jacobo A, Gervilla R, Guamis B, Roig-Sagués AX, Saldo J, Effect of UHPH on indigenous microbiota of apple juice: a preliminary study of microbial shelf-life. *Int J Food Microbiol.*, 2010; 136(3): 261-267.
36. Tacora Cauna RL, Luna Mercado GI, Bravo Portocarrero R, Mayta Hanco J, Choque Yucra M, Ibáñez Quispe V, Effect of the pressure of expansion by explosion and temperature of toasting in some functional and physicochemical characteristics of two varieties of cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen). *Journal de Ciencia y Tecnología Agraria*, 2010; 2(1): 188-198, (available in Spanish).
37. Variyar PS, Ahmad R, Bhat R, Niyas Z, Sharma A, Flavoring components of raw monsooned arabica coffee and their changes during radiation processing. *J Agr Food Chem.*, 2003; 51(27): 7945-7950.
38. Vitaglione P, Napolitano A, Fogliano V, Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trends Food Sci Technol.*, 2008; 19(9): 451-463
39. Yusof S, Chiong LK, Effects of Brix, processing techniques and storage temperature on the quality of carambola fruit cordial. *Food Chem.*, 1997; 59(1): 27-32.
40. Zhao Z, Egashira Y, Sanada H, Phenolic antioxidants richly contained in corn bran are slightly bioavailable in rats. *J Agr Food Chem.*, 2005; 53(12): 5030-5035.
41. Zulueta A, Barba FJ, Esteve MJ, Frigola A, Changes in quality and nutritional parameters during refrigerated storage of an orange juice-milk beverage treated by equivalent thermal and non-thermal processes for mild pasteurization. *Food Bioprocess Tech.*, 2013; 6(8): 2018-2030.

## Anexo 2

### Actividades académicas

#### Ponencias

**“Evaluación de color y compuestos fenólicos en maíces (*Zea mays* L.) pigmentados autóctonos del sur de Nuevo León”, en el 6° Congreso Internacional de Biología, Química y Agronomía" Ciencia e innovación para la Salud", 27 – 29 septiembre en la Universidad Autónoma de Guadalajara, Jalisco.**

**“Caracterización de polifenoles, capacidad antioxidante y elaboración de bebida nutracéutica de maíces pigmentados (*Zea mays* L.) autóctonos del sur de Nuevo León”. 15 junio 2018 en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ), Apodaca, N.L., México.**

**“Caracterización nutricional, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de maíces (*Zea mays* L.) autóctonos del sur de Nuevo León”. 19 - 22 junio 2018 en el 3er Congreso Internacional de Alimentos Funcionales y Nutracéuticos, Mazatlán, Sinaloa, México.**

**“Caracterización del contenido nutricional, polifenoles, capacidad antioxidante y elaboración de bebida nutracéutica de maíces pigmentados (*Zea mays* L.) autóctonos del sur de Nuevo León”. 9 - 11 julio 2019 en las Mesas de Trabajo “Cultivos y Subproductos Agroalimentarios como Base para la Obtención de Alimentos Funcionales” En la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FAUANL), Gral. Escobedo N.L., México**



**La Universidad Autónoma de Guadalajara**  
a través del  
**Decanato de Diseño, Ciencia y Tecnología**

otorga el presente  
*Reconocimiento*

Rodríguez-Salinas P, Zavala-García F, Urias-Orona V, Muy-Rangel D, Heredia JB, Rodríguez-Romero B, y Niño-Medina G

por la presentación en formato CARTEL del trabajo titulado

**EVALUACIÓN DE COLOR Y COMPUESTOS FENÓLICOS EN MAÍCES (ZEA MAYS L) PIGMENTADOS AUTÓCTONOS DEL SUR DE NUEVO LEÓN**

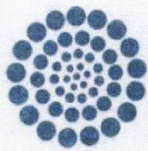
en el **6° Congreso Internacional de Biología, Química y Agronomía**

**"Ciencia e innovación para la Salud"**, llevado a cabo del 27 al 29 de septiembre.

Zapopan, Jalisco, México, 29 de septiembre de 2017.

MSc. Tomás Ornelas Salas  
Director de la Facultad de Ciencias Químicas

MVZ. Fernando Gabriel Cinco Castellanos  
Director de la Facultad de Ciencias Biológico Agropecuarias



CONACYT



CIATEJ

## RECONOCIMIENTO A:

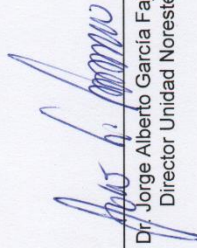
**M.C. PABLO ALAN RODRIGUEZ SALINAS**

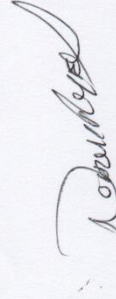
Por su participación en el Seminario con el tema:

***“Caracterización de polifenoles, capacidad antioxidante y elaboración de bebida nutracéutica de maíces pigmentados (Zea mays L.) autóctonos del sur de Nuevo León”***

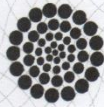
Impartido en las instalaciones de la Unidad Noreste del CIATEJ.

Apodaca, N.L., Junio del 2018

  
Dr. Jorge Alberto García Fajardo  
Director Unidad Noreste



Dra. Nohermi del Carmen Reyes Vázquez  
Investigadora  
Coordinadora de Seminario



CONACYT



Centro de Investigación  
en Alimentación y Desarrollo



El Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo  
y la Universidad Autónoma de Sinaloa, otorgan la presente

# CONSTANCIA

A:

Rodríguez-Salinas PA, Zavala-García F, Urias-Orona V, Muy-Rangel D, Heredia JB, Rodríguez-Romero BA, Niño-Medina G

Por su participación como Ponente en Cartel con el tema "Caracterización nutrimental, capacidad antioxidante y compuestos  
fenólicos de maíces (Zea mays L.) autóctonos del sur de Nuevo León " en el  
3er Congreso Internacional de Alimentos Funcionales y Nutracéuticos.

Mazatlán, Sinaloa, del 20 al 22 de junio del 2018

Dr. Gustavo A. González Aguilar  
Centro de Investigación en Alimentación  
y Desarrollo

Dr. Aarón F. González Córdova  
Centro de Investigación en Alimentación  
y Desarrollo

Dr. Jorge Milán Carrillo  
Universidad Autónoma de Sinaloa

3

Congreso Internacional  
de Alimentos Funcionales  
y Nutracéuticos





# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN FACULTAD DE AGRONOMÍA



a través de la Subdirección de Posgrado e Investigación  
otorga la presente

## CONSTANCIA

**A: M.C. Pablo Alan Rodríguez Salinas**

Por su participación con la ponencia

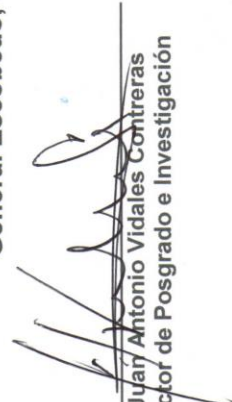
**Caracterización del Contenido Nutricional, Polifenoles, Capacidad Antioxidante y Elaboración de Bebida Nutracéutica de Maíces Pigmentados (Zea mays L.) Autóctonos del Sur de Nuevo León**

en las

**Mesas de Trabajo “Cultivos y Subproductos Agroalimentarios como Base para la Obtención de Alimentos Funcionales”**

con duración de 12 horas

**General Escobedo, Nuevo León 9, 10 y 11 Julio del 2019.**

  
Ph.D. Juary Antonio Vidales Contreras  
Subdirector de Posgrado e Investigación



Ph.D. Atejandro Sergio del Bosque González  
Director



EDUCACIÓN DE CALIDAD PARA TRANSFORMAR Y FORTALECER LOS BIENESTARES DE LA COMUNIDAD