

Actividad antioxidante de cinco variedades de maíz cultivadas en Campeche, México

[Activity Antioxidant of Maize Extracts from Campeche, Mexico]

RMJ MEX-ÁLVAREZ, NJ BOLÍVAR-FERNÁNDEZ, PM GARMA-QUEN, JA TUT-HEREDIA & KI ROMERO-GUILLÉN

Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche
Contactos / Contacts: RMJ MEX-ÁLVAREZ - E-mail address: rmj_alvarez81@hotmail.com

Abstract

We studied the antioxidant capacity of five varieties of corn grown in Hopelchén, Mexico by the techniques of DPPH, DMPD, oxidation rate, ferric ion reduction and peroxide, the purple variety had the highest antioxidant activity except in test DMPD the red variety which had a better capacity to reduce, in general, the white varieties (native and hybrid) showed similar activity and yellow corn had the lowest activity of all. It also determines the concentration of phenolic compounds and anthocyanins that are present in the corn kernels in a range of 3.39 to 1558 mg of polyphenols and 0.847 to 410 mg of anthocyanins per 100 g of flour. The content of antioxidants in maize varieties can consider it as a functional food by providing exogenous antioxidants to consumers with a consequent protective effects.

Keywords: *Zea mays*, antioxidants, anthocyanins, polyphenols

Resumen

Se estudió la capacidad antioxidante de cinco variedades de maíz cultivadas en Hopelchén, México por las técnicas de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), DMPD (N, N,- dimetil-p-fenilendiamina), índice de oxidación, reducción del ion férrico y del peróxido. La variedad morada presentó la mayor actividad antioxidante; excepto en el ensayo de DMPD, en el cual la variedad roja tuvo una mejor capacidad reductora. En general, las variedades blancas (criolla e híbrida) mostraron una actividad similar y, la variedad amarillo tuvo la menor actividad de todas. También se determinó la concentración de compuestos fenólicos y antocianínicos que están presentes en las diferentes variedades de maíz en un rango de 3.39 a 1558 mg de polifenoles y de 0.847 a 410 mg de antocianinas por cada 100 g de harina. El contenido de antioxidantes en las variedades de maíz permite considerarlo como alimento funcional al aportar antioxidantes exógenos a su consumidor con sus consecuentes efectos protectores.

Palabras Clave: *Zea mays*, antioxidante, antocianinas, polifenoles

Recibido | Received: 27 de Noviembre de 2012

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 27 de Febrero de 2013

Publicado en línea | Published online: 30 de Noviembre de 2012.

Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: RMJ Mex-Álvarez, NJ Bolívar-Fernández, PM Garma-Quen, JA Tut-Heredia, KI Romero-Guillén. 2013. Actividad antioxidante de cinco variedades de maíz cultivadas en Campeche, México. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 12(6): 558 – 571.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos contienen componentes aprovechables denominados nutrientes que se encuentran distribuidos heterogéneamente y poseen diferentes actividades biológicas dependiendo de su naturaleza química. Los antioxidantes son un grupo de nutrientes indispensables que se encuentran en determinados alimentos y actúan protegiendo al organismo de sustancias oxidantes como los radicales libres o las especies reactivas de oxígeno que desencadenan procesos patológicos y de envejecimiento prematuro (Benítez Zequeira, 2006; Ramos Ibarra *et al.*, 2006; Aubad *et al.*, 2007; Muñiz Rodríguez, 2009).

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

Estudios epidemiológicos demuestran que el consumo de frutos y vegetales reducen el riesgo de padecer enfermedades crónicas degenerativas o minimizan sus efectos; esto se asocia a los compuestos polifenólicos, flavonoides, taninos y antocianidinas que exhiben una fuerte actividad antioxidante y en algunos casos presentan una capacidad de quelación con iones metálicos. Los metabolitos antioxidantes presentes en alimentos pueden reducir trombosis, activar macrófagos e inhibir la tendencia a la peroxidación (Robles Sánchez *et al.*, 2007; Zapata *et al.*, 2007; Rojas-Barquera *et al.*, 2008; García-Álvarez y Sánchez-Tovar, 2009).

Recientemente, se ha considerado que los pigmentos de los granos de maíz (*Zea mays* L.) además de su uso como colorantes naturales poseen actividad antioxidante por ello su interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana debido a las propiedades benéficas de sus metabolitos secundarios; además de los carotenoides, las antocianidinas están presentes en cantidades apreciables en las variedades pigmentadas de maíz

confiriéndoles actividad antioxidante y convierte al maíz como un producto potencial para el suministro de colorantes y antioxidantes naturales (Arroyo *et al.*, 2007; Arroyo *et al.*, 2008; Ruiz Torres *et al.*, 2008; Cabrera-Soto *et al.*, 2009; Gorriti-Gutiérrez *et al.*, 2009; Kravic *et al.*, 2009; Hu y Xu, 2011; Zilic *et al.*, 2012).

Esto ha despertado el interés en el estudio de los pigmentos del maíz; pero su contenido de metabolitos secundarios varía entre otras causas de acuerdo a la variedad, en cuestión, de la especie; la diversidad genética de maíz es muy basta y la mayoría de ella se ha originado en América y se estima que es aproximadamente superior a 260 razas. Las variedades nativas son de interés porque su manutención representa la defensa de la agrobiodiversidad y la posibilidad de obtener un desarrollo sustentable porque son valoradas y conservadas por las poblaciones indígenas que promueven la diversidad de fenotipos de maíz y las emplean para usos distintos de acuerdo a sus características tales como el tamaño, el color y la forma (Matsumura *et al.*, 1994; Arroyo *et al.*, 2008; Cabrera-Soto *et al.*, 2009; Kravic *et al.*, 2009; Ranilla *et al.*, 2009; Cuevas-Montilla *et al.*, 2011).

En México, como en el resto de Latinoamérica, el maíz representa un elemento cultural indispensable de vigencia universal y un ingrediente insustituible y principal en la dieta de los mexicanos constituyendo un alimento básico de la población que lo consume en diversas formas (tortillas, tamales, bebidas). Asimismo, la población oriunda le atribuye al maíz diversas propiedades medicinales en el tratamiento de enfermedades renales, infecciones y tratamiento del cáncer (Arroyo *et al.*, 2007; Salinas-Moreno *et al.*, 2007; Gutiérrez Zavala *et al.*, 2007; Reynoso-Camacho *et al.*, 2007; Cabrera-Soto *et al.*, 2009; Gorriti-Gutiérrez *et al.*, 2009; López-Martínez *et al.*, 2011).

A pesar del interés por las propiedades bioactivas de los maíces se han reportado pocos estudios sobre la actividad antioxidante de las diferentes variedades que constituyen la biodiversidad del maíz (Ranilla *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2010; Hu y Xu, 2011; Zilic *et al.*, 2012), por lo cual hace falta estudiar extensivamente la capacidad antioxidante, especialmente, de las variedades nativas de maíz mexicano pues el contenido de metabolitos secundarios y su bioactividad depende tanto de factores intrínsecos como la genética de la planta y de

factores extrínsecos como las condiciones ambientales del cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos Químicos

El radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) se adquirió de Sigma Chemical Co. Los demás reactivos empleados en el trabajo se adquirieron de Merck.

Equipo

Las técnicas cuantitativas en las que se midieron densidad óptica (absorbancia) se realizaron en un espectrofotómetro Jenway modelo Genova.

Obtención y extracción de las muestras

Se realizó un taller en el municipio de Hopelchén del estado de Campeche sobre maíces criollos y su variedad donde se trabajó con campesinos tradicionales y posteriormente se levantaron encuestas para determinar la valoración de las dimensiones socioeconómicas y la variedad de maíz que cultivan. Como resultado de esa labor se obtuvieron los especímenes de maíces cultivados en la región: la mayoría de los campesinos cultivan variedades criollas de colores blanco (tsac tux) y amarillo (nuuc naal) o híbrido blanco (Pronase 124) y fue más difícil conseguir las variedades roja (chac chop) y morada (x malay). El material biológico obtenido, en mayo de 2009, se transportó al herbario de la Universidad Autónoma de Campeche para su identificación taxonómica, corroborando que eran *Zea mays* L; asimismo, las mazorcas colectadas se desgranaron manualmente y luego se molieron los granos y se conservaron las harinas a -20 °C hasta su extracción.

Se tomaron cinco gramos de harina y se maceraron con 25 mL de etanol acuoso al 70% durante 24 horas a temperatura ambiente, posteriormente se filtraron los homogenizados a través de papel filtro Whatman N° 4 y el material residual se volvió a extraer del mismo modo. Finalmente, los extractos fueron concentrados en un rotavapor (Buchi) equipado con baño María a 40 °C para remoción del etanol y posteriormente se liofilizó

a 13.3 Pa por 72 h (Labconco). Los extractos se conservaron en refrigeración a 4 °C en viales ámbar hasta su evaluación.

Determinación de Fenoles Totales

Se tomó una alícuota de 0.70 mL de muestra y se adicionó a 7.0 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu (10%), se dejó en reposo por tres minutos y después se mezcló con 7.0 mL de Na₂CO₃ 7.5%, se dejó reposar la mezcla por dos horas a temperatura ambiente y en la oscuridad. Finalmente se midieron las absorbancias a 760 nm en un espectrofotómetro UV-Vis. Se usó ácido gálico como estándar a concentraciones de 40, 80, 120, 160 y 200 ppm, la concentración de fenoles totales se expresan como equivalentes en miligramos de ácido gálico por gramo de muestra (Cabrera-Soto *et al.*, 2009; López Martínez y García Galindo, 2009).

Análisis de las Antocianidinas

Se utilizó la técnica por diferencia de pH, que cuantifica las antocianidinas por la medición de absorbancia de los extractos del maíz a pH 1.0 con un sistema tampón: ácido clorhídrico/ cloruro de potasio (0.025 M) y otro de ácido acético/ acetato sódico de pH 4.5 (0.4 M); el extracto se preparó por homogenización, en frascos ámbar, de aproximadamente 1.0000 g de harina de maíz con 5.0 mL de una solución de HCl 0.225 N en etanol acuoso al 95%, con agitación constante por 24 horas a 4 °C; posteriormente, se centrifugaron los extractos a 3000 rpm por 5.0 min, el sobrenadante se colectó para su medición (Rodríguez-Saona y Wrolstad, 2001; Cuevas-Montilla *et al.*, 2008).

Se tomó 0.20 mL de una muestra diluida (para conseguir una absorbancia en el rango de 0.100 - 1.200 a 510 nm) se añadió 1.80 mL de la correspondiente disolución tampón y se midió la absorbancia frente a un blanco a 510 y 700 nm. Los resultados se expresan como mg de cianidina-3-glicósido por cada 100 g de harina de maíz de acuerdo a los cálculos realizados.

Se calcula la absorbancia final a partir de:

$$A = (A_{\max \text{ vis}} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{\max \text{ vis}} - A_{700})_{\text{pH } 4.5} \quad [1]$$

Donde $A_{\max \text{ vis}}$ es la absorbancia en el pico máximo de absorción, $(A_{700})_{\text{pH}=1.0}$ es la absorbancia a 700 nm a pH de 1.0 y $(A_{700})_{\text{pH}=4.5}$ es la absorbancia a 700 nm a pH=4.5 respectivamente.

$$\text{Antocianos monoméricos (mg/100 g)} = (A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 100) / \epsilon \quad [2]$$

Donde A es la absorbancia final calculada en la fórmula [1], PM es el peso molecular de la cianidina 3-glucósido, FD es el factor de dilución, ϵ es el coeficiente de absorptividad molar de la cianidina 3-glucósido.

Actividad neutralizante de radicales libres

En este ensayo, se evalúa la capacidad que tiene un posible antioxidante para neutralizar un radical; el 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) es un radical estable que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe radiación a 517 nm. En el ensayo se determina la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante una vez que se ha añadido el posible antioxidante, de forma que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH debida a la

La concentración de pigmentos monoméricos en el extracto se expresa en cianidina 3-glucósido.

cesión de electrones de la especie antioxidante (Molyneux, 2004; Ruiz Torres *et al.*, 2008; López Martínez y García Galindo, 2009).

Primero se realiza una recta de calibrado a partir de una disolución de DPPH 0.1 mM en metanol. A partir de esta disolución, se prepararon cinco disoluciones de un volumen de 10 mL de concentraciones 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 y 0.1 mM, el disolvente se uso como blanco de lectura.

Para la determinación de la actividad antioxidante se mezclaron 2.0 mL de la disolución de DPPH 0.1 mM y 0.050 mL del extracto a una concentración de 100 ppm, se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro a 517 nm. Se ensayó diversas diluciones de extracto para determinar el porcentaje de inhibición de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{inhibición} = \frac{\text{Absorbancia}_{\text{sin extracto}} - \text{Absorbancia}_{\text{con extracto}}}{\text{Absorbancia}_{\text{sin extracto}}} * 100 \quad [3]$$

Para determinar la concentración del extracto que reduce la mitad de la concentración de DPPH al 50% a los 30 minutos, se graficó el porcentaje de inhibición de DPPH contra la concentración y se calculó la IC50% a partir de la ecuación de la recta.

Método DMPD

Se añadió 1.0 mL de la disolución de dimetilfenilendiamina (DMPD) 100 mM a 100 mL de disolución tamponada con ácido acético/ acetato de sodio 0.1 M (pH 5,25). Tras la adición de 0,2 mL de una disolución de cloruro férrico 0.05 M (concentración final de 0,1 mM) se forman radicales cationes coloreados (DMPD•). Una alícuota de 1.00mL de esta disolución se traslada a una cubeta midiéndose su absorbancia, comprendida entre 0,90 ($\pm 0,1$), a 506 nm. Se añade 50 μL de una disolución patrón de antioxidante o de muestras diluidas y

transcurridos diez minutos (a 25 °C) se hace otra medida de absorbancia a 506 nm. La disolución tamponada de acetato se utiliza como blanco de referencia. Los resultados se expresan en actividad equivalente a vitamina C (VCEAC) expresada en mg/L o mg/100 g (Kuskoski *et al.*, 2006).

Índice de Oxidación

Se tomó 0.50 mL del extracto hidroetanólico a 1000 ppm, 0.5 mL de agua destilada y 1.0 mL de ácido sulfúrico al 20%, se mezcló y se mantuvo la mezcla en un rango de temperatura entre 18 y 20° C. Posteriormente, se adicionó 50 μL de solución de permanganato de potasio (0.1 N), estandarizada frente a oxalato de sodio, simultáneamente se puso en marcha un cronómetro, que permitió estimar el tiempo en el cual la solución ácida de permanganato es reducida a iones manganeso (Mn^{2+}), con el registro

del tiempo de la desaparición del color. (Salamanca-Grosso *et al.*, 2007).

Este índice se define como el tiempo de decoloración, medido en segundos, de una solución de permanganato de potasio 0.1 N por acción de los compuestos oxidantes del propóleo. Para ello, se trituró la muestra con alcohol de 96°, luego se llevó a 100 mL con agua destilada y se filtró. Se tomó una alícuota del filtrado, se acidificó con ácido sulfúrico al 20% y se añadió una gota de permanganato de potasio 0.1 N. Se midió con cronómetro el tiempo de decoloración.

Poder Reductor del Hierro III

Se diluyó una alícuota de 0.100 mL del extracto crudo con metanol hasta 1 mL, se mezcló con 2.50 mL de buffer fosfato 0.2 M (pH 6.6) y 2.5 mL de ferricianuro de potasio al 1%, se incubó a 50° C por 20 minutos, luego se adicionó 2.5mL de ácido tricloroacético 10%, la mezcla resultante se centrifugó a 548g por 10 min; se tomó una alícuota del sobrenadante de 2.5 mL y se diluyó en una

cantidad igual de agua destilada, inmediatamente se agregó 0.50mL de cloruro férrico 0.1%; finalmente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 700 nm. Se utilizó como control ácido ascórbico a concentración de 10 µg/mL. El poder reductor de los extractos guarda una relación directa con el valor de la absorbancia (Bahr-Vlacárcel y Basulto-Lemus, 2004; Martínez-Vásquez, 2007; Murillo *et al.*, 2007).

Capacidad Reductora del peróxido

Se preparó una solución de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 10 mM en buffer fosfato (pH 7.4), se determinó la concentración inicial a 230 nm, utilizando una absorptividad molar de 81 cm⁻¹. mol⁻¹ L. Se le adicionó 1.8 mL de la solución tamponada de peróxido a 3.0 mL de la muestras a 1ppm. La absorbancia del H₂O₂ remanente se determinó después de 10 min contra un blanco de reactivos (Ortiz *et al.*, 2009). La actividad inhibitoria del peróxido fue estimada utilizando la siguiente ecuación:

$$\%CDP = \frac{A_M}{A_C} * 100 \quad [4]$$

Donde: %CDP = capacidad reductora de peróxido, A_M = absorbancia de la mezcla reaccionante, A₀ = absorbancia del control.

Análisis estadístico

Cada ensayo se realizó por triplicado y se determinaron su media y su desviación estándar. Los datos fueron procesados estadísticamente con el programa statgraphics® versión 5.1, empleando el análisis de varianza de una vía con un nivel de confianza del 95%, las diferencias significativas (p <

0.05) entre ellas fueron separadas por el método de Fischer (LSD).

RESULTADOS

La variedad de maíz morado presentó la mayor cantidad de fenoles totales (1445 mg de ácido gálico por 100 g de harina), seguido por la variedad de maíz rojo (354 mg de ácido gálico por 100 g de harina); mientras que las variedades amarillo, blanco híbrido y blanco criollo contienen una cantidad mucho menor de fenoles totales respecto a las variedades pigmentadas (Figura 1).

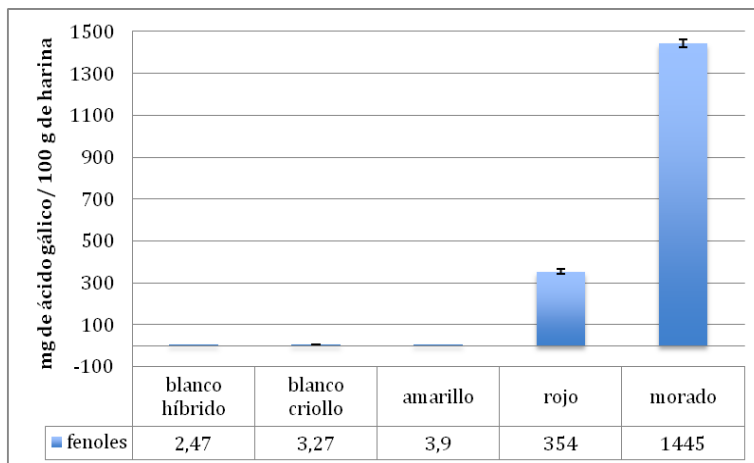


Figura 1
Contenido de Fenoles Totales en las variedades de maíz.

Igualmente, las variedades de maíz morado y rojo fueron los que presentaron una mayor cantidad de antocianidinas (410 y 111 mg de antocianidina/100g de harina respectivamente),

mientras que las variedades de maíz blanco y amarillo presentaron una cantidad muy inferior con relación a los maíces anteriores (Figura 2).

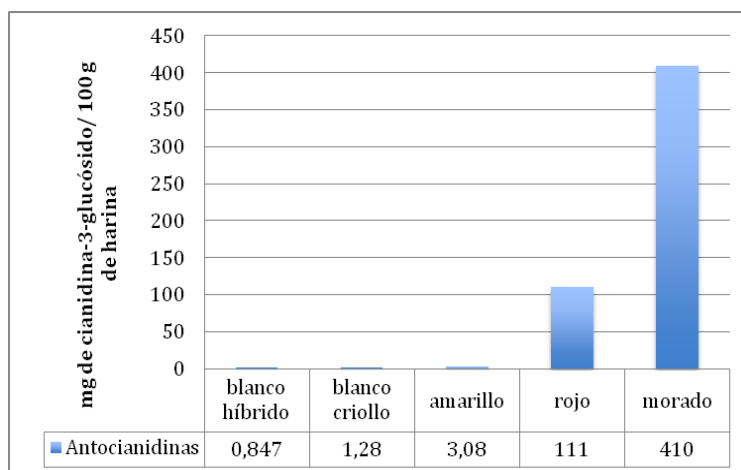


Figura 2
Cantidad de antocianidinas presentes en las harinas de las variedades de maíz.

Los valores obtenidos en la cuantificación de antocianidinas podrían explicar la mayor actividad antioxidante observada en los extractos de los maíces rojo y morado; para la actividad antirradicalaria, se observó que la variedad de maíz morado posee mayor

capacidad de neutralización de radicales (ARA) porque presenta una menor concentración efectiva 50% (17.3 ppm) seguido por la variedad de maíz rojo (28.8 ppm).

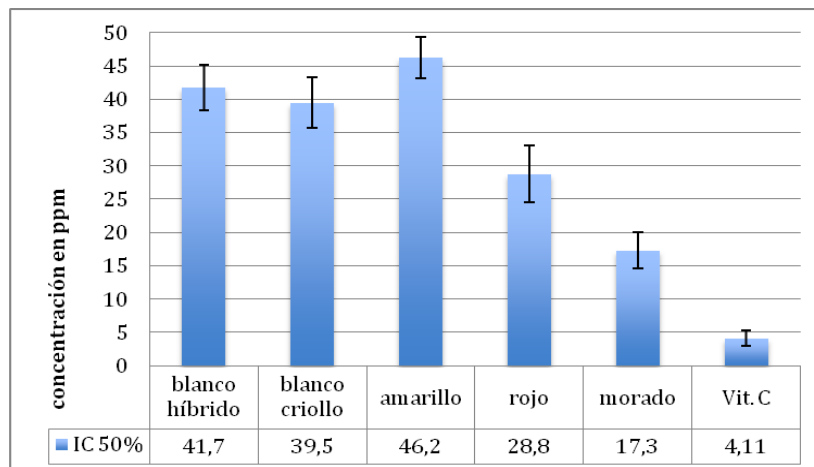


Figura 3
Concentración media inhibitoria de radical DPPH de los extractos hidroetanólicos de maíz

Los resultados de la actividad antioxidante medida por el ensayo de DMP se expresan en referencia a la actividad de vitamina C (VCEAC), por ello un valor mayor indica una mayor capacidad antioxidante. En este ensayo se observó cambios en las tendencias antioxidantes obtenidas en las pruebas anteriores, así

la variedad de maíz rojo presentó una mayor actividad antioxidante (335.63 VCEAC) respecto las variedades de maíz morado (293.86) y de maíz amarillo tuvo una ligera capacidad inhibitoria de radical catiónico mayor comparada con la variedad de maíz blanco criollo. (Figura 4)

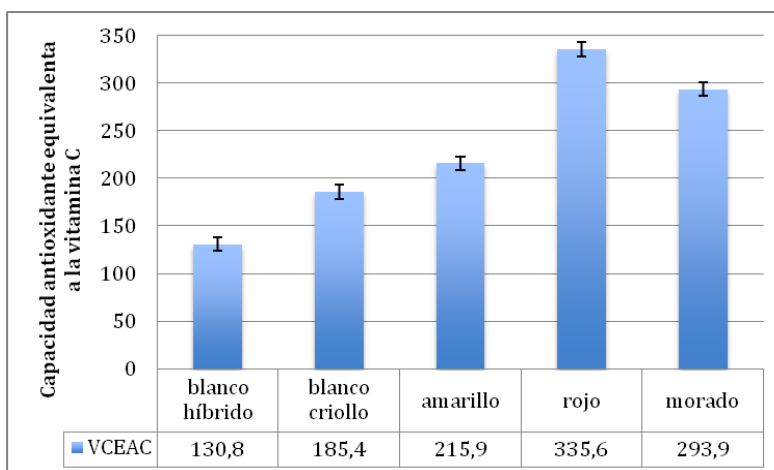


Figura 4
Inhibición del radical catiónico DMPD por las variedades de maíz

El índice de oxidación se reporta en segundos, que es el tiempo que tardaron en decolorar la solución de permanganato los compuestos presentes en el extracto de maíz, un tiempo menor es indicativo de una mayor capacidad reductora de la solución de

permanganato. El extracto de maíz morado exhibió un poder reductor muy alto (14.61) comparado con el resto de las variedades, seguido del maíz criollo blanco (30.88s), las variedades de maíces amarillo y rojo tuvieron actividades reductoras similares y

ligeramente mayores a la variedad de maíz blanco híbrido (Figura 5).

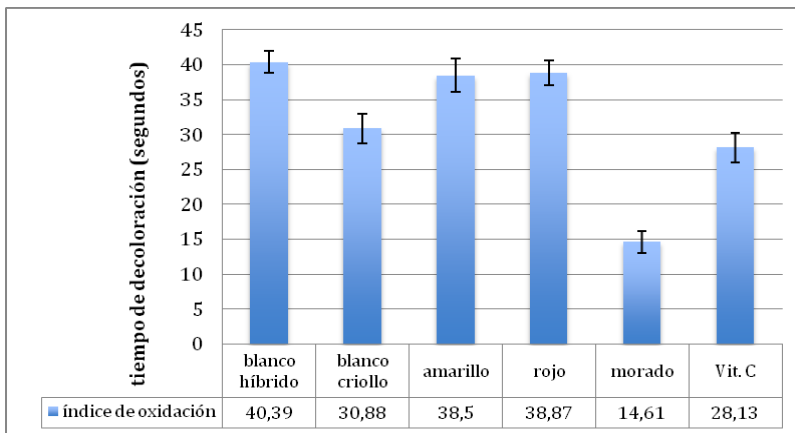


Figura 5
Índice de oxidación de los extractos hidroetanólicos de las variedades de maíz

Un comportamiento similar se observa en los resultados obtenidos por el ensayo de poder reductor del ión férrico (FRAP), pues el extracto de la variedad de maíz morado presentó la mayor absorbancia (0.243), esto indica que fue capaz de reducir más cantidad de iones férrico; sin embargo, en este ensayo se aprecia una mayor actividad

antioxidante de la variedad de maíz criollo blanco respecto a la variedad de maíz blanco híbrido (0.150 y 0.099, respectivamente) que no se podía diferenciar con significancia estadística en el ensayo anterior, el extracto de la variedad de maíz amarillo presentó menor capacidad reductora que la variedad de maíz criollo blanco (Figura 6).

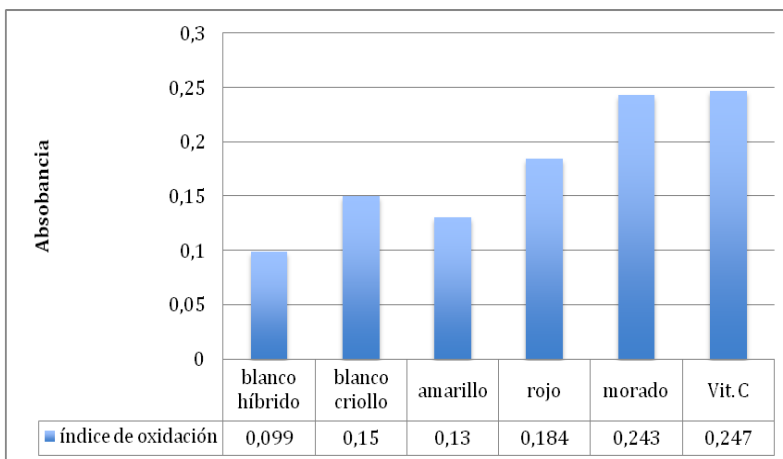


Figura 6
Poder reductor del ion férrico de los extractos hidroetanólicos de las variedades de maíz.

La capacidad reductora del peróxido de hidrógeno del extracto de la variedad de maíz morado fue mayor a las otras variedades (53.6%); en este ensayo se observa una actividad similar de las demás variedades de maíz estudiadas (Figura 7) y no existe

diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre la capacidad reductora de los extracto de las variedades de maíces rojo, blanco criollo y blanco híbrido, la variedad de maíz amarillo tuvo la menor actividad de las cinco variedades ensayadas (30.5%).

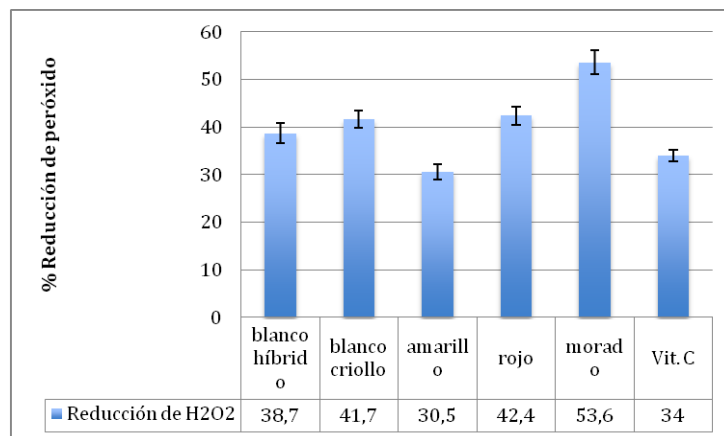


Figura 7
Capacidad reductora de las variedades de maíz.

DISCUSIÓN

Como en la mayoría de los vegetales, la cantidad y tipo de metabolitos secundarios varía por diversos factores entre los que se incluye la diversidad genética (fenotipos o variedades) y el lugar donde se cultivan (Rojas-Barquera *et al.*, 2008; Kravic *et al.*, 2009), por ello se deben realizar estudios para caracterizar las variedades autóctonas o adaptadas a determinadas regiones en especial en el caso del maíz que es patrimonio natural de México y de toda América, pues los habitantes latinoamericanos se han esmerado durante siglos en su cultivo, protección, selección y cuidado de este vegetal que constituye un elemento de identidad cultural y representa un factor de desarrollo sustentable para las regiones (Gutiérrez-Zavala *et al.*, 2007).

Un argumento de defensa y difusión del cultivo de las variedades nativas y criollas de maíz es que su diversidad representa una riqueza inestimable que se pierde con la introducción de las variedades híbridas y transgénicas, que son más agresivas al medio ambiente y no ofrecen fitoquímicos promotores, restauradores o conservadores de la salud. Las variedades nativas o criollas del maíz presentan propiedades fitoquímicas para considerarlas como Alimento Funcional, pues además

de proveer de nutrientes proporciona sustancias que permiten prevenir, curar o tratar enfermedades (Arroyo *et al.*, 2007; Arroyo *et al.*, 2008).

La actividad antioxidante de una variedad vegetal muestra su potencial para la prevención o tratamiento de las complicaciones de las enfermedades crónico degenerativas como el cáncer, diabetes o cerebrovasculares (Martínez-Vásquez, 2007; Reynoso-Camacho *et al.*, 2007; Arroyo *et al.*, 2008; García-Álvarez y Sánchez-Tovar, 2009). Los fitoquímicos más relacionados con la actividad antioxidante son los compuestos polifenólicos tales como los flavonoides o las antocianidinas, estas últimas son las más implicadas con la actividad antioxidante en las razas de maíz (Ruiz Torres *et al.*, 2008; Gorriti-Gutiérrez *et al.*, 2009). Las antocianidinas son compuestos que proporcionan colores intensos a los vegetales, especialmente azules, violetas y morados, por ello se espera que las variedades de pigmentación más intensa del maíz (morado y rojo) presenten una cantidad elevada de compuestos antocianínicos pero la eficacia de la extracción depende de la naturaleza química de las antocianidinas, si están esterificadas tenderán a disolverse mejor en medio metanólico y si están

glicosilada en medio acuoso (Jing, 2006; Cuevas Montilla *et al.*, 2008; Kim y Wampler, 2009).

En este estudio se emplearon extractos a base de etanol acuoso al 70%, que permitió extraer antocianidinas desde cantidades de 0.847 mg/100g en la variedad de maíz blanco híbrido y 1.28 mg/100g en la variedad de maíz criollo blanco hasta 111 mg/100g en la variedad roja y 410 mg/100g en la variedad de maíz morado (la presencia de antocianidinas se corroboró por el ensayo de Rosenheim); estos pigmentos contribuyen a la cantidad de fenoles totales, aunque no sean los únicos metabolitos fenólicos, la cantidad de fenoles totales fue baja en las variedades de maíces blanco híbrido (2.47 mg/100g), blanco criollo (3.27 mg/100g) y amarillo (3.90 mg/100g), las variedades de maíces rojo y morado contuvieron una mayor cantidad de metabolitos fenólicos (354 y 1445 mg/100g, respectivamente). Estos resultados pueden sugerir que las variedades con mayor contenido de compuestos fenólicos presenten una mayor actividad antioxidante, pues diversos estudios demuestran una relación entre polifenoles y capacidad antioxidante; mas no se correlacionan de manera sencilla y directa porque pueden incluirse en el extracto otros compuestos antioxidantes como los carotenos que son terpenos responsables del color en las variedades blancas y amarilla del maíz, especialmente en forma de luteína y zeaxantina (Cuevas Montilla *et al.*, 2008; Ruiz Torres *et al.*, 2008; Gorriti-Gutiérrez *et al.*, 2009; López Martínez y García Galindo, 2009). Por lo cual se hace necesario evaluar los extractos por diversos ensayos antioxidantes para tratar de dilucidar el mecanismo de acción.

Los antioxidantes pueden clasificarse en primarios si detienen la reacción en cadena radicalaria o en secundarios si regeneran antioxidantes primarios, inactivan metales reactivos, inhiben hidroperóxidos o al oxígeno singulete. La actividad inhibitoria de radicales libres se pueden evaluar por diversos métodos entre los que destacan la inhibición del radical DPPH o el método DMPD; mientras que la actividad reductora se puede evaluar por medio de la reducción del peróxido de hidrógeno, del ión metálico férrico y del ión permanganato (Martínez Vásquez, 2007). Los mecanismos de acción de los antioxidantes son diversos y su comportamiento depende del medio de reacción, así los factores que afecta la reacción y la actividad antioxidante difieren *in vivo*, en alimentos e *in vivo*, con correlaciones inciertas, por ello es prudente usar

más de un método para medir la actividad antioxidantes y obtener un perfil más confiable de actividad antioxidante que evalúe diferentes mecanismos, los modos de acción más comunes son: donación de átomos de hidrógenos y neutralización de radicales libres (ensayo DPPH y DMPD), poder reductor y donación de electrones (ion férrico y permanganato) o habilidad de quelar metales (Chanda y Dave, 2009; Badarinath *et al.*, 2010).

En el ensayo de inhibición de la actividad inhibitoria del radical DPPH se observó la tendencia esperada en las variedades de maíz morado y rojo que fueron las variedades con mayor actividad antioxidante (IC 50% = 17.3 y 28.8 mg/L, respectivamente); pero la variedad de maíz amarillo analizada tuvo una actividad un poco menor (IC 50% = 46.2mg/L) que las variedades blancas tanto criolla (39.5mg/L) como híbrida (41.7mg/L), esto indica que la actividad inhibitoria de radicales libres no sólo depende de la cantidad de compuestos fenólicos como las antocianidinas e incluso de los carotenoides.

El DPPH refleja mejor la actividad antioxidante de compuestos de menor polaridad que los compuestos antioxidantes que los evaluados en la técnica de la DMPD que tienden a ser más hidrofílicos. Los resultados de ésta última demuestran que el extracto de maíz rojo presentó la mayor actividad (335.6 VCEAC) incluso un poco mayor que la exhibida por la variedad de maíz morado (293.9) esto quizás sea porque los compuestos antioxidantes presentes en la variedad de maíz rojo sean más hidrofílicos que en la variedad de maíz morado por contener más grupos polares o contengan residuos de azúcar, el comportamiento antioxidante de las variedades amarilla, blanca criolla y blanca híbrida fueron cómo se esperaba de acuerdo al contenido de antocianidinas y que no se encontró en el ensayo del DPPH.

El índice de oxidación representa una medida de la velocidad de reducción de compuestos oxidantes, la variedad de maíz morado mostró el mayor índice de oxidación (14.6 s); sin embargo, las otras variedades tuvieron un índice de oxidación similar. Esto puede deberse a la diversidad de metabolitos secundarios implicados en la reducción del permanganato que incluyen no sólo polifenoles sino también sustancias terpénicas, entre otras, o a la disponibilidad del antioxidante o a su habilidad reductora determinada por su potencial redox o el ambiente químico del sistema; este ensayo proporciona información sobre la velocidad de la

acción neutralizante del extracto, factor importante implicado en la prevención del daño primario por agentes prooxidantes que dañan las biomoléculas dentro de una célula (Bahr Vlacárcel *et al.*, 2004; Salamanca-Grosso *et al.*, 2007).

No obstante, los resultados de la capacidad reductora del hierro férrico muestra el comportamiento general de los extractos: la variedad de maíz morado redujo la mayor cantidad de hierro (0.243) seguido del maíz rojo (0.184), mientras que la variedad de maíz amarillo presentó una capacidad reductora similar a la variedad de maíz blanco criollo (0.130 y 0.150) respectivamente.

En general, los métodos antioxidantes empleados muestran que las variedades pigmentadas de maíz poseen una mayor capacidad antioxidante debido a una mayor presencia de compuestos fenólicos, estos resultados son similares a los datos reportados para maíces criollos de otras partes del mundo: en un estudio de granos de maíz criollo de la Región Andina, Ranilla *et al.*, (2009) estimaron su uso potencial como antidiabético y antihipertensivo, en el ensayo de DPPH la variedad morada exhibió la mayor capacidad reductora del radical libre y fue la variedad con mayor contenido de compuestos fenólicos (8mg/g de muestra); Cuevas-Montilla *et al.*, en el 2011 reportan valores de compuestos fenólicos entre 311 y 817mg de ácido gálico/ 100 g de peso seco y un rango de 1.9 a 71.7 mg de cianidina-3-glucósido/ 100 g de peso seco para maíces morado bolivianos; igualmente Zilic *et al.*, en 2012 determinaron en el Instituto Serbio de Investigación de Maíz el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y antocianidinas y la capacidad antioxidante de diez variedades pigmentadas de maíz con un intervalo de antocianidas de 2.5 a 696 mg de cianidina-3-glucósido/ 100 g de peso seco; en México, López Martínez y García Galindo (2009) realizaron la determinación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos totales y antocianidinas de extractos acuosos y metanólicos de distintas variedades de maíz mexicano, el contenido de fenoles varió entre 65 y 3400 mg /100 g de harina y las antocianidinas entre 1.5 y 2052 mg/ 100g de harina. Todos estos reportes concuerdan con los resultados obtenidos en este trabajo (fenoles totales entre 2.47 y 1445 mg/ 100 g; antocianidinas entre 0.847 y 410 mg/ 100g).

La relación observada entre el contenido de compuestos fenólicos y antocianidinas y la actividad antioxidante de los extractos hidroetanólicos de los

granos de maíz concuerdan con diversos trabajos reportados: Hu y Xu (2011), al realizar un perfil de carotenoides, antocianidinas y compuestos fenólicos y su relación con la actividad antioxidante de maíz de diferentes colores (blanco, amarillo y negro) mostraron que el maíz negro tuvo la mayor cantidad de compuestos fenólicos y la mejor actividad antioxidante, el maíz amarillo tuvo la mayor cantidad de carotenoides y el maíz blanco la menor cantidad de carotenoides, antocianidinas y polifenoles, así como la menor actividad antioxidante usando los ensayos de DPPH y poder reductor de iones férrico; Ramos-Escudero *et al.*, (2012) determinaron los contenidos de polifenoles, flavonoides y antocianidinas de maíces morados y su actividad antioxidante con DPPH, ABTS, poder reductor de hierro y ensayo de desoxirribosa, así como ensayos de actividad antioxidante de superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa total y lipoperoxidación lipídica en órganos de ratón aislados, obtuvieron un IC50% 66.3 ppm DPPH y FRAP equivalente a 26.1mM trolox, resultados menores en comparación a los obtenidos en este estudio donde el maíz morado tuvo una actividad antioxidante mayor (IC50% entre 17.3 y 41.7 ppm).

Al evaluar con otros métodos diferentes a los empleados en este trabajo, Lee *et al.*, (2010), observaron que la bioactividad de los extractos acuosos y etanólicos de granos de maíz de 18 variedades para inhibían la alfa glucosidasa y removía el óxido nítrico y superóxido, los extractos etanólicos de la variedad morada y amarilla tuvieron la mayor actividad biológica, pero no encontraron correlacionan con su concentración fenólica ni antocianidinas, ni con la naturaleza de los pigmentos entre las variedades de maíz. Por su parte, López-Martínez *et al.*, (2011) estudiaron el efecto de la nixtamalización sobre los compuestos fenólicos y actividad antioxidante de los fenotipos de maíz blanco, azul, rojo y morado contrastándolos con los resultados de los extractos preparados de granos crudos, la actividad antioxidante se determinó con los ensayos de poder reductor total, neutralización del radical peroxilo e inducción de quinona reductasa en hepatoma murino, la mayor actividad la mostraron las variedades pigmentadas.

CONCLUSIONES

La variedad criolla morada presentó la mayor actividad antioxidante y una mayor cantidad de compuestos fenólicos y de antocianidinas, a los

cuales se podían atribuir su actividad biológica y podrían servir para el mantenimiento o recuperación de la salud de sus consumidores. La presencia de fitoquímicos con actividad antioxidante en las variedades de maíz induce a pensar que es un alimento funcional y su consumo sería benéfico por su aportación de antioxidantes exógenos; por ello, se debe continuar con los estudios científicos encaminados para la caracterización del perfil de fitoquímicos de las variedades nativas y criollas de maíz de las diversas regiones de América Latina. Este trabajo pone de manifiesto el interés de las variedades nativas de maíz porque suponen una riqueza ecológica, fitoquímica, nutricional y cultural y que por tanto es necesario preservar y continuar su estudio.

REFERENCIAS

- Arroyo J, Ruez E, Rodríguez M, Chumpitaz V, Burga J, De la Cruz W, Burga J, Valencia J. 2007. Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*Zea mays* L.) en Ratas Hipercolesterolémicas. **Rev Peru Med Exp Salud Publ** 24: 157 - 162.
- Arroyo J, Ruez E, Rodríguez M, Chumpitaz V, Burga J, De la Cruz W, Burga J, Valencia J. 2008. Actividad antihipertensiva y antioxidante del extracto hidroalcohólico atomizado de maíz morado (*Zea mays* L.) en ratas. **Rev Peru Med Exp Salud Publ** 25: 195 - 199.
- Aubad P, Rojano BA, Lobo Echeverri T. 2007. Actividad antioxidante en musgos. **Scientia et Technica** 13: 23 - 26.
- Badarinath AV, Mallikarjuna Rao K, Sudhana Chetty CM, Ramkanth S, Rajan TVS, Gnanaprakash K. 2010. A review on *in-vitro* antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. **Int J Pharm Tech Res** 2: 1276 - 1285.
- Bahr Vlacárcel P, Basulto Lemus Y. 2004. El potencial reductor férrico (FRP). Un ensayo para evaluar la capacidad antioxidante en suero. **Corr Cient Méd Holguín** 8: 8 pp.
- Beltrán-Orozco MC, Oliva-Coba TO, Gallardo-Velázquez T, Osorio-Revilla G. 2009. Ascorbic acid, phenolic content, and antioxidant capacity of red, cherry, yellow and white types of pitaya. **Agrociencia** 43: 153 - 162.
- Benítez Zequeira DE. 2006. Vitaminas y oxidoreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. **Rev Cub Invest Biomed** http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol25_2_06/ibi10206.htm (Acceso 30 de Noviembre de 2013)
- Cabrera-Soto ML, Salinas-Moreno Y, Velázquez-Cardelas GA, Espinosa-Trujillo E. 2009. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. **Agrociencia** 43: 827 - 839.
- Chanda S, Dave R. 2009. *In vitro* models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. **Afr J Microbiol Res** 3: 981 - 996.
- Cuevas-Montilla E, Antezana A, Winterhalter P. 2008. **Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) boliviano**. Memorias del Encuentro Final Alfa Lagrotech, Cartagena, Colombia, 21-26 de septiembre.
- Cuevas Montilla E, Hillebrand S, Antezana A, Winterhalter P. 2011. Soluble and bound phenolic compounds in different bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivars. **J Agric Food Chem** 59: 7068 - 7074.
- Escamilla Jiménez CI, Cuevas Martínez EY, Guevara Fonseca J. 2009. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. **Rev Fac Med Unam** 52: 77 - 75.
- García-Álvarez M, Sánchez-Tovar JL. 2009. Uso de antioxidantes para prevenir enfermedad cardiovascular. Metaanálisis de ensayos clínicos. **Rev Med Inst Mex Seg Social** 47: 7 - 16.
- Gorriti-Gutiérrez A, Arroyo-Acevedo J, Negrón-Vallarte J, Jurado-Teixeira B, Purizaca-Llajaruna H, Santiago-Aquise H, Taype-Espinoza E, Quispe-Jacobo F. 2009. Antocianidinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas de maíz morado (*Zea mays* L.): método de extracción. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 8: 509 - 518.
- Gutiérrez BA. 2002. Chocolate, polifenoles y protección a la salud. **Acta Farm Bonaerense** 21: 149 - 152
- Gutiérrez Zavala A, Ledesma Rivero L, García García I, Grajales Castillejos O. 2007.

- Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. **Rev Cub Salud Pub** 33: 1 - 7.
- Hu QP, Xu JG. 2011. Profiles of carotenoids, anthocyanins, phenolics, and antioxidant activity of selected color waxy corn grains during maturation. **J Agric Food Chem** 59: 2026 - 2033
- Jing P. 2006. Purple corn anthocyanins: chemical structure, chemoprotective activity and structure/function relationships. **Dissertation in partial fulfilment of the requirements for the degree Doctor of Philosophy**. The Ohio State University, USA.
- Kim Y, Wampler DJ. 2009. Determination of anthocyanin content in purple corn cob and kernel and development of efficient separation method. **Sensus Technicial Notes** 1 - 3.
- Kravic N, Anđelković V, Hadži-Tasković-Sukalović V, Vuletić M. 2009. Antioxidant activity in seed of maize genotypes with different percentage of exotic germplasm. **Genetika** 41: 21 - 28.
- Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciênc Tecnol Aliment** 25: 726 - 732.
- Lee CH, García HS, Parkin KL. 2010. Bioactivities of kernel extracts of 18 strains of maize (*Zea mays*). **J Food Sci** 75: 667 - 672.
- López LX, García Galindo HS. 2009. Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintas variedades de maíz mexicano. **Rev Electron Nova Scientia** 2: 51 - 56.
- López-Martínez LX, Parkin KL, García HS. 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 Hum Nutr** 66: 41 - 47.
- Martínez JB. 2007. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus*. **Tesis de Licenciatura**. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Oaxaca, México.
- Matsumura Y, Andonova PP, Hayashi Y, Murakami H, Mori T. 1994. Antioxidant activities of zeins from different maize varieties against docosahexaenoic acid ethyl ester. **Cereal Chem** 71: 428 - 433.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin J Sci Technol** 26: 211 - 219
- Muñiz Rodríguez P. 2009. Contribución a la salud de los alimentos con compuestos antioxidantes. **Rev Electron Biomed** 1: 6 - 9.
- Murillo E, Lombo O, Tique M, Méndez JJ. 2007. Potencial antioxidante de *Bauhinia kalbreyeri* Harms (Fabaceae). **Inf Technol** 18: 65 - 74.
- Ortiz HF, Sánchez WF, Méndez AJ, Murillo PE. 2009. Potencial antioxidante de hojas y corteza de *Bauhinia kalbreyeri* Harms: contribución de sus flavonoides en esta actividad. **Rev Acad Colomb Cienc** 33: 183 - 192.
- Ramos ML, Batista González CM, Gómez Media BC, Zamora López AL. 2006. Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. **Investigación en Salud** 8: 7 - 15
- Ramos-Escudero F, Muñoz AM, Alvarado-Ortiz C, Yáñez JA. 2012. Purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds profile and its assessment as an agent against oxidative stress in isolated mouse organs. **J Med Food** 15: 206 - 215.
- Ranilla LG, Apostolidis E, Genovese MI, Lajolo FM, Shetty K. 2009. Evaluation of indigenous grains from the Peruvian Andean Region for antidiabetes and antihypertension potential using *in vitro* methods. **J Med Food** 12: 704 - 713.
- Reynoso-Camacho R, González-Jasso E, Salgado LM. 2007. La alimentación del mexicano y la incidencia de diabetes tipo 2. **Rev Esp Cienc Quím Biol** 10: 36 - 38.
- Robles RM, Gorinstein S, Astiazarán García H, González Aguilar G, Cruz Valenzuela R. 2007. Frutos tropicales minimamente procesados: potencial antioxidante y su impacto en la salud. **Interciencia** 32: 227 - 232.
- Rodríguez-Saona LE, Wrolstad RE. 2001. **Extraction, isolation, and purification of anthocyanins**. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, USA.

- Rojas-Barquera DR, Narváez-Cuenca EC, Restrepo-Sánchez LP. 2008. Evaluación del contenido de vitamina C, fenoles totales y actividad antioxidante en pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) de las variedades de pera, regional roja y regional blanca. **Memorias Red-Alfa Lagrotech** 49 - 60.
- Ruiz NA, Rincón Sánchez F, Hernández López VM, Figueroa Cárdenas JD, Loarca Piña MGF. 2008. Determinación de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante en granos de maíz. **Rev Fitotec Mex** 31: 29 - 31.
- Salamanca Grosso G, Correa Carvajal IL, Principal J. 2007. Perfil de flavonoides e índices de oxidación de algunos propóleos colombianos. **Zootecnia Trop** 25: 95 - 102.
- Salinas-Moreno Y, López-Reynoso JJ, González-Flores GB, Vázquez-Carrillo G. 2007. Compuestos fenólicos del grano de maíz y su relación con el oscurecimiento de masa y tortilla. **Agrociencia** 41: 295 - 305.
- Zapata LM, Gerard M, Davies C, Schwab MC. 2007. Estudio de los componentes antioxidantes y actividad antioxidante en tomates. **Ciencia Docencia Tecnología** 35: 173 - 193
- Zilic S, Serpen A, Akillioglu G, Gökmen V, Vancetovic J. 2012. Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. **J Agric Food Chem** 60: 1224 - 1231.