

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica



VARIABILIDAD DEL PERFIL POLIFENÓLICO Y NUTRICIONAL DE *Zea mays* L. (MAÍZ MORADO) PROVENIENTE DE DOS ZONAS GEOGRÁFICAS DE LA REGIÓN AREQUIPA

Tesis presentada por la Bachiller:

Rios Gonzales, Brigitte Anyela

Para optar por el Título Profesional de:

Ingeniera Biotecnóloga

Asesora:

Dra. Gálvez Ranilla, Lena

Arequipa – Perú

2021

DICTAMEN APROBATORIO

UNIVERSIDAD CATOLICA SANTA MARIA
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas
y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica

Expediente N°. 20170000046993

N° Trámite en Fac. 363-2017

Fecha Recep. Fac. 20-10-2017

FORMATO UNICO PARA TRAMITACIÓN DE TÍTULO PROFESIONAL

DE: **RIOS GONZALES, Briggitte Anyela**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO BIOTECNOLOGO

"VARIABILIDAD DEL PERFIL POLIFENOLICO Y NUTRICIONAL DEL MAIZ MORADO
CULTIVADO EN DOS ZONAS GEOGRAFICAS DE LA REGION AREQUIPA"

DICTAMINADORES: **Dr. Jaime Cárdenas García** 2) **Mgter. Roxana Bardales Alvarez**

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, el Abogado Dictaminador del Plan de Tesis informa que, hechas las observaciones y subsanadas las correcciones, sugerimos que el título debe cambiar a: "VARIABILIDAD DEL PERFIL POLIFENOLICO Y NUTRICIONAL DEL Zea mays L. (MAIZ MORADO) PROVENIENTE DE DOS ZONAS GEOGRAFICAS DE LA REGION AREQUIPA", después de lo cual consideramos se encuentra APTO para continuar con el trámite de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.
Atentamente

FIRMAS:

(Devolver antes de 8 días hábiles)

FECHA

ASESOR: **Dra. Lena Gálvez Ranilla**

DICTAMEN ASESORÍA:

Aprobado luego de corregir observaciones.

FIRMA

FECHA

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

1) **Dr. Jaime Cárdenas García**

3) **Mgter. José Miguel Carpio Carpio**

2) **Mgter. Roxana Bardales Álvarez**

DICTAMEN FINAL:

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por la recurrente, luego de lo cual y habiéndose cumplido con las correcciones respectivas, consideramos que el presente Trabajo de Investigación se encuentra APTO para continuar con el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.
Atentamente

FIRMA

(Devolver antes de 15 días hábiles)

FECHA

JURADOS: PRESIDENTE

VOCAL

SECRETARIO

FECHA

HORA

LOCAL

FIRMA DEL DECANO

FECHA

DEDICATORIA

*A Dios, por Su amor, por cada uno de los
detalles a lo largo de mi vida y por ser mi
fortaleza en los momentos más duros.*

A ti todo el honor y la gloria Padre amado.



AGRADECIMIENTOS

Primero, agradecer a mis padres, por enseñarme el valor de la humildad y sencillez, por sus palabras de aliento para seguir luchando; a mi mamá, gracias por el ejemplo de sacrificio, tu amor y apoyo incondicional a través de estos años me ayudaron siempre a salir adelante, a mi papá, gracias por enseñarme a ser valiente y paciente aun cuando las cosas se pongan difíciles.

Segundo, dar mi más sincero agradecimiento a la Dra. Lena Gálvez, por sus conocimientos compartidos y sus consejos, no solo para la realización del proyecto sino también para la vida. Gracias por todo el apoyo brindado, la paciencia, la dedicación y el esfuerzo en la realización de la tesis.

Tercero, agradecer a mis hermanos, Vanessa y Miguel, por su confianza puesta en mí para poder culminar este proyecto y la complicidad de juntos llegar a cumplir nuestros sueños.

Agradecer también a mi madrina Marcela, sus consejos, su preocupación y su alegría en cada uno de mis pasos fueron guía desde mi infancia hasta ahora.

Por último, agradezco a mis hermanas incondicionales Gabriela y Luzmery por sus palabras de aliento, su confianza en mi capacidad y su amistad sincera. Gracias por formar parte de esos detallitos que el Señor tiene conmigo.

Esta tesis se realizó como parte del proyecto “**VARIABILIDAD DE LAS PROPIEDADES BIOACTIVAS *IN VITRO* Y NUTRICIONALES POR EFECTO DE LA LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DEL CULTIVO DE MAÍZ MORADO (RAZA KCULLI) DE LA REGIÓN DE AREQUIPA Y EVALUACIÓN PRELIMINAR DE SU POTENCIAL SOBRE LA REGENERACIÓN CELULAR**” con el financiamiento del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Católica de Santa María mediante el formato fondos internos concursables. Proyecto fondo para la Investigación con la **Resolución N°24957 –R-2017.**



RESUMEN

El presente estudio tuvo por objetivo determinar la variabilidad en el contenido y perfil de polifenoles y la composición nutricional del maíz morado de la variedad Canteño cultivado en las zonas geográficas de Iray (menor altitud) y Chuquibamba (mayor altitud) (provincia de Condesuyos) en la región Arequipa. Se analizaron los contenidos fenólicos y antocianinas totales por espectrofotometría y los perfiles de fenólicos por UHPLC-DAD en las fracciones fenólicas libres y ligadas a la fibra dietética del marlo y del grano.

Adicionalmente, se evaluó la composición químico proximal del grano y las características físicas (marlo, grano y mazorca) de las muestras de ambas zonas geográficas. Las muestras procedentes de Iray presentaron un mayor diámetro de mazorca y peso de 100 granos que las de Chuquibamba, mientras que los resultados de la composición químico proximal de grano fueron similares en las muestras procedentes de ambas zonas, aunque los valores de ceniza y fibra cruda fueron superiores en las muestras de Chuquibamba. El marlo presentó mayores concentraciones de compuestos fenólicos que el grano y los compuestos fenólicos libres (principalmente como antocianinas totales) fueron la fracción fenólica mayoritaria en el marlo y en el grano respecto a los compuestos fenólicos libres (libre + ligada). El análisis por UHPLC-DAD confirmó la presencia de antocianinas y derivados de quercetina en la fracción fenólica libre de marlo y grano del maíz morado de ambas procedencias, mientras que en la fracción ligada se detectaron sólo ácidos fenólicos, como el ácido ferúlico y el *p*-cumárico que fueron los compuestos mayoritarios en el grano y marlo, respectivamente. El maíz morado cultivado en Chuquibamba presentó los mayores valores de compuestos fenólicos totales (libre + ligada) en el marlo y grano (1896.8 y 260 mg/100g bs, respectivamente), de antocianinas en el marlo (982.9 mg/100g bs), y de ácido ferúlico (153.4 mg/100g bs) en el grano de maíz. Adicionalmente, los caracteres físicos como diámetro de mazorca y peso de 100 granos se correlacionaron inversamente con los contenidos de fenólicos y flavonoides indicando que el maíz de Chuquibamba presenta un menor peso de grano (relevante al rendimiento) a pesar de sus altos contenidos de polifenoles. Esta investigación constituye la base teórica para estudios aplicados que permitan la mejora de la cadena productiva del maíz morado en Arequipa para diferentes usos.

Palabras Claves: maíz morado, marlo, grano, fracción fenólica libre, fracción fenólica ligada, antocianinas, ácidos fenólicos.

ABSTRACT

The objective of current study was to determine the variability in the phenolic contents and profiles, and in the nutritional composition of purple corn (Canteño variety) grown in the geographical zones of Iray (lowland) and Chuquibamba (highland) (Condesuyos province) from Arequipa region. The total phenolic and anthocyanin contents were analyzed in the free and dietary fiber-linked phenolic fraction (bound phenolics) from purple corn grain and cob by using spectrophotometric and UHPLC-DAD methods.

In addition, the grain proximal composition and physical characteristics (cob, grain and ear) were evaluated in samples from both places. Purple corn from Iray showed higher ear diameter and weight of 100 kernels than Chuquibamba samples whereas the proximal composition was similar in grains from both zones. However, crude fiber and ash contents were higher in purple corn from Chuquibamba.

Purple corn cob had the highest concentrations of phenolic compounds than grain, and the free phenolic compounds (mainly anthocyanins) were the major fraction in cob and grain in relation to the total phenolic contents (free+bound).

Anthocyanins and quercetin derivatives were detected by UHPLC in the free phenolic fraction (cob and grain) whereas phenolic acids such as ferulic and p-coumaric acid were the major phenolics in the bound phenolic fraction of grain and cob, respectively. Purple corn grown in Chuquibamba showed the highest total phenolic contents (free+bound) in cob and grain (1896.8 and 260.6 mg/100 g bs, respectively), and the highest anthocyanin (982.9 mg/100 g bs) and ferulic acid (153.4 mg/100 g bs) levels in the cob and corn kernel, respectively. Further, physical characteristics such as ear diameter and weight of 100 kernels negatively correlated with the phenolic and flavonoid contents indicating that purple corn from Chuquibamba had lower yield in spite of its higher phenolic contents. This research is the chemical base for future applied studies targeting the improvement of the purple corn productive chain for diverse applications in the Arequipa region.

Keywords: purple corn, cob, kernel, free phenolic fraction, bound phenolic fraction, anthocyanins, phenolic acids.

ÍNDICE

DICTAMEN APROBATORIO	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	vi
ABSTRACT.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ABREVIATURAS	xv
INTRODUCCIÓN.....	xvi
OBJETIVOS	xviii
Objetivo General	xviii
Objetivos Específicos	xviii
HIPÓTESIS	xix
CAPÍTULO I	1
1. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1. MAÍZ MORADO (Zea mays L.).....	1
1.1.1. Clasificación taxonómica.....	1
1.1.2. Composición química.....	1
1.1.3. Diversidad genética del maíz peruano y situación en Arequipa	2
1.1.4. Origen y Distribución	3
1.1.5. Aplicaciones y usos del maíz morado.....	4
1.1.6. Producción agrícola del maíz morado y exportación.....	5
1.2. COMPUESTOS FENÓLICOS.....	6
1.2.1. Clasificación de compuestos fenólicos	6
1.2.2. Metabolismo de los compuestos fenólicos en el tracto digestivo humano	11
1.3. ANTECEDENTES DEL POTENCIAL BIOACTIVO DEL MAÍZ MORADO	12
1.3.1. Compuestos fenólicos antioxidantes del maíz morado	12
1.3.2. Propiedades bioactivas del maíz morado	13
CAPÍTULO II	15
2. MATERIALES Y MÉTODOS	15
2.1. Lugar de ejecución.....	15
2.2. Muestras.....	15
2.3. Materiales, equipos y reactivos.....	18

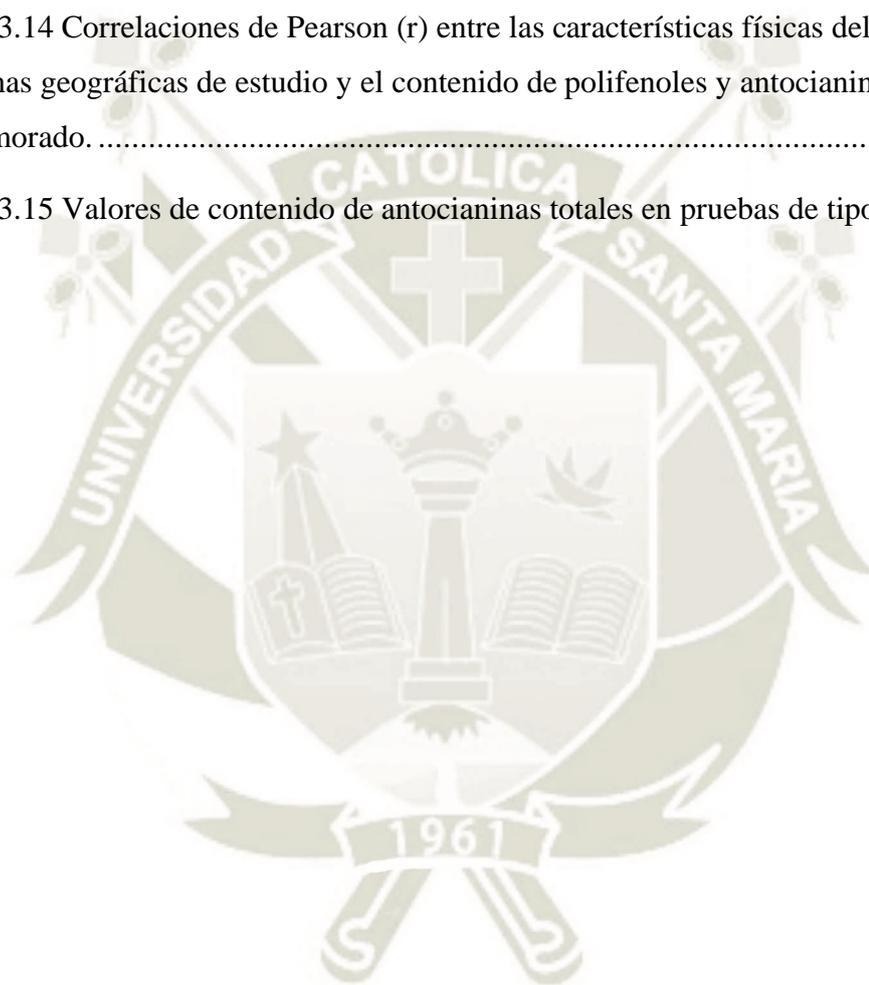
2.3.1.	Materiales	18
2.3.2.	Equipos	19
2.3.3.	Reactivos	19
2.3.4.	Estándares de compuestos fenólicos.....	20
2.4.	Metodología experimental.....	20
2.4.1.	Limpieza, selección y secado de las muestras	20
2.4.2.	Molienda.....	21
2.4.3.	Extracción de los compuestos fenólicos	23
2.4.4.	Selección del método de extracción de antocianinas	24
2.4.5.	Extracción de antocianinas de muestras de marlo y grano	25
2.4.6.	Purificación de antocianinas	26
2.5.	Métodos de análisis.....	26
2.5.1.	Medición de parámetros físicos.....	26
2.5.2.	Determinación de humedad.....	26
2.5.3.	Análisis químico proximal de granos	27
2.5.4.	Determinación de compuestos fenólicos totales	27
2.5.5.	Determinación de antocianinas totales.....	27
2.5.6.	Determinación del perfil de compuestos fenólicos por análisis UHPLC-DAD.....	28
2.6.	Diseño experimental	29
2.7.	Análisis estadístico	30
CAPITULO III.....		31
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
3.1.	Análisis de humedad	31
3.2.	Características físicas de las muestras de mazorca, marlo y granos del maíz morado procedente de dos zonas geográficas	31
3.3.	Análisis químico proximal de los granos del maíz morado procedente de dos zonas geográficas.	34
3.4.	Contenido de compuestos fenólicos totales y antocianinas totales en el maíz morado procedente de dos zonas geográficas	35
3.5.	Perfil de compuestos fenólicos determinado por UHPLC-DAD	41
3.6.	Influencia de las características físicas del maíz morado sobre el contenido de polifenoles y antocianinas totales	60
CONCLUSIONES.....		63
RECOMENDACIONES.....		65
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		66
ANEXOS		75
Anexo 1: Fotos de los procesos utilizados en la metodología de la investigación.....		75

Anexo 2: Información recolectada de las zonas de cultivo evaluadas, por parte de los agricultores, sobre manejo de su cultivo de maíz morado.....	79
Anexo 3: Condiciones climáticas de las zonas de recolección durante la época de siembra.....	80
Anexo 4: Curva estándar de ácido gálico para la cuantificación por espectrofotometría de compuestos fenólicos	81
Anexo 5: Curva de compuestos standard para la cuantificación de compuestos fenólicos por UHPLC-DAD82	
Anexo 6: Análisis estadístico para evaluar los parámetros físico-químicos de las muestras de marlo cosechadas de la zona de Iray y Chuquibamba	83
Anexo 7: Análisis estadístico para evaluar los parámetros físico-químicos de las muestras de grano cosechadas de la las zonas de Iray y Chuquibamba.....	84
Anexo 8: Evaluación de metodologías según Jing & Giusti, Jing et al, y Lao et al para la extracción de antocianinas totales.....	87
Anexo 9: Análisis estadístico para evaluación de metodologías según Jing & Giusti (I), Jing et al (II), y Lao et al (III) para la extracción de antocianinas totales.....	88
Anexo 10: Análisis estadístico para evaluar el contenido de antocianinas totales en muestras de marlo y grano de las zonas de Iray y Chuquibamba	89
Anexo 11: Análisis estadístico para identificar diferencias significativas entre las muestras de marlo del distrito de Iray y el distrito de Chuquibamba de acuerdo al contenido de fenoles totales en su fracción fenólica libre, ligada y total.....	90
Anexo 12: Análisis estadístico para identificar diferencias significativas entre las muestras de grano del distrito de Iray y el distrito de Chuquibamba de acuerdo al contenido de fenoles totales en su fracción libre, ligada y total.....	91
Anexo 13: Análisis estadístico para identificar diferencias significativas entre las muestras de marlo del distrito de Iray y el distrito de Chuquibamba de acuerdo al perfil fenólico por UHPLC-DAD.....	92
Anexo 14: Análisis estadístico para identificar diferencias significativas entre las muestras de grano del distrito de Iray y el distrito de Chuquibamba de acuerdo al perfil fenólico por UHPLC-DAD.....	95
Anexo 15: Análisis estadístico para evaluar correlaciones en muestras de marlo, de las zonas estudiadas (Iray- Chuquibamba)	97
Anexo 16: Análisis estadístico para evaluar correlaciones en muestras de grano, de las zonas estudiadas (Iray- Chuquibamba).....	98

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Composición química de las partes principales del grano de maíz ⁽⁴⁾	2
Tabla 1.2 Clasificación de compuestos fenólicos en plantas.	7
Tabla 2.1 Localización geográfica de las muestras de maíz morado evaluadas	16
Tabla 2.3 Diseño experimental para la caracterización de compuestos fenólicos del maíz morado de la región de Arequipa.....	29
Tabla 3.1 Contenido de humedad de muestras de marlo y grano por zona geográfica	31
Tabla 3.2 Características físicas de las muestras de mazorca, marlo y grano de maíz morado por zona geográfica	32
Tabla 3.3 Resultados del análisis químico proximal en base húmeda de muestras de grano de maíz morado por zona geográfica	34
Tabla 3.4 Contenido de fenólicos totales (mg EAG/100g bs) y antocianinas totales (mg C3G/100g bs).....	37
Tabla 3.5 Tiempos de retención y longitud de onda de máxima absorción de los picos de antocianinas detectados a 525 nm en la fracción fenólica libre (Figura 2.4) en el grano de maíz morado.	43
Tabla 3.6 Tiempos de retención, longitud de onda de máxima absorción e identificación de los picos detectados en la fracción fenólica ligada (Figura 3.1) en el grano de maíz morado.	45
Tabla 3.7 Contenido de compuestos fenólicos detectados por UHPLC-DAD (mg/100 g bs) en el grano de maíz morado de dos zonas geográficas de la región de Arequipa	47
Tabla 3.8 Tiempos de retención y longitud de onda de máxima absorción de los picos de antocianinas detectados a 525 nm en la fracción fenólica libre (figura 3.2) del marlo de maíz morado.	50
Tabla 3.9 Tiempos de retención, longitud de onda de máxima absorción e identificación de los picos detectados a 320nm en la fracción fenólica ligada (Figura 13) en el marlo de maíz morado.....	52
Tabla 3.10 Contenido de compuestos fenólicos detectados por UHPLC-DAD (mg/100 g bs) en el marlo de maíz morado procedente de dos zonas geográficas de Arequipa.....	54

Tabla 3.11 Coeficientes de correlaciones de Pearson (r) entre las variables evaluadas	55
Tabla 3.12 Compuestos fenólicos (mg/100g bs) detectados por cromatografía líquida en el grano y marlo de maíz morado según diferentes estudios	57
Tabla 3.13 Correlaciones de Pearson (r) entre las características físicas del maíz morado de las zonas geográficas de estudio y el contenido de polifenoles y antocianinas en el grano de maíz morado	61
Tabla 3.14 Correlaciones de Pearson (r) entre las características físicas del maíz morado de las zonas geográficas de estudio y el contenido de polifenoles y antocianinas en el marlo de maíz morado	62
Tabla 3.15 Valores de contenido de antocianinas totales en pruebas de tipo de extracción	87



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Producción de maíz morado en Perú según el año 2014-2017 (16).....	5
Figura 1.2 Estructura química de ácidos hidroxibenzoicos (23)	7
Figura 1.1.3. Estructura química de ácidos hidroxicinámicos(23)	8
Figura 1.4. Estructura de una molécula de flavonoide (23)	9
Figura 1.5. Estructura de antocianidinas (23).....	9
Figura 1.6. Estructura de cianidina-3-glucósido (23)	10
Figura 2.1. Muestras de mazorcas de maíz morado recolectadas de la provincia de Condesuyos.....	17
Figura 2.2 Muestras de mazorcas de maíz morado seco recolectadas de la provincia de Castilla.....	18
Figura 2.3. Flujograma de procesos para la extracción de la fracción fenólica libre y ligada de muestras de marlo.....	21
Figura 2.4 Flujograma de procesos para la extracción de la fracción fenólica libre y ligada de muestras de grano.....	22
Figura 3.1 Perfil cromatográfico a 525nm de la fracción fenólica libre (extractos de antocianinas) del grano de maíz morado procedente de dos zonas geográficas de la región Arequipa . La zona de Corire se incluyó con fines comparativos.	42
Figura 3.2 Perfil cromatográfico a 320nm de la fracción fenólica ligada del grano de maíz morado procedente de dos zonas geográficas de la región Arequipa.	44
Figura 3.3 Perfil cromatográfico a 525nm de la fracción fenólica libre (extractos de antocianinas) del marlo de maíz morado procedente de dos zonas geográficas de la región de Arequipa. La zona de Corire se incluyó con fines comparativos.....	49
Figura 3.4 Perfil cromatográfico a 320nm de la fracción fenólica ligada del marlo de maíz morado procedente de dos zonas geográficas de la región Arequipa. La zona de Corire se incluyó con fines comparativos.	51
Figura 4.1 Proceso de molienda y tamizado (500um) de muestras de marlo.....	75
Figura 4.2 Proceso de extracción de antocianinas de muestras de marlo y grano según método de Lao et al(63)	75

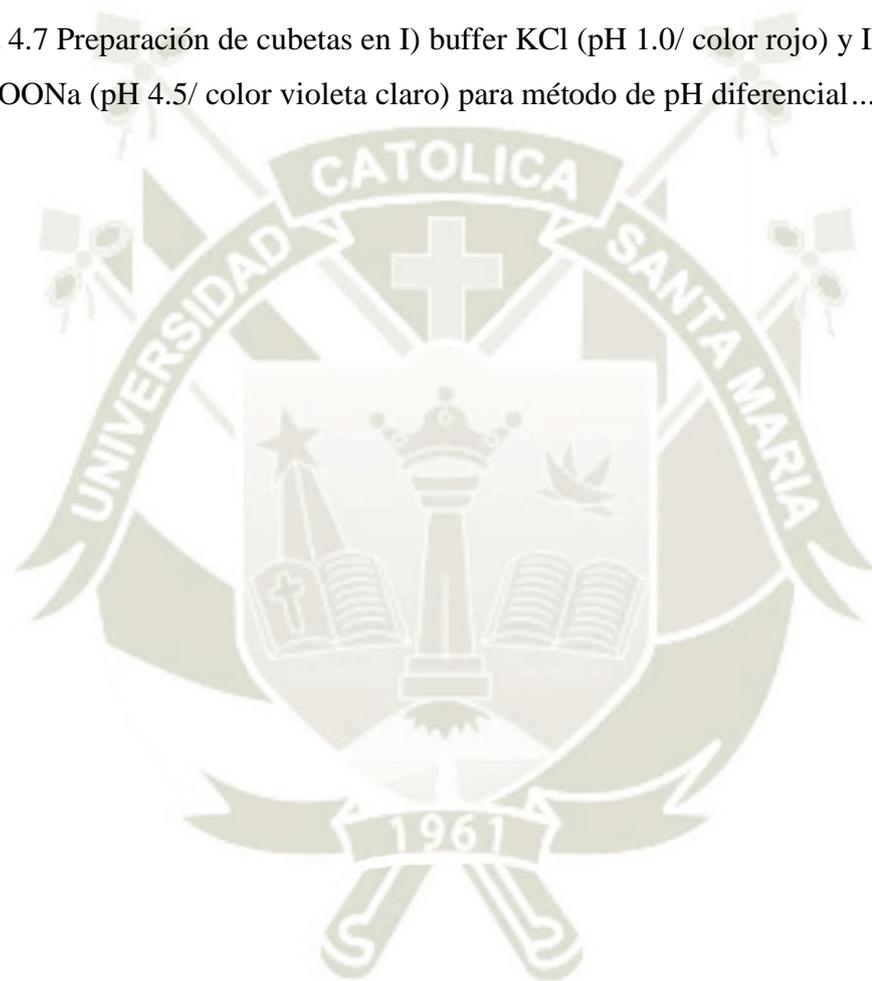
Figura 4.3 A) Aplicación del extracto de antocianinas en columna SPE C18 B) Lavado de columna C) Elución de muestra en balón para rotaevaporación76

Figura 4.4 Concentración de antocianinas purificadas en rotavapor Buchi76

Figura 4.5 Muestra de marlo A: Medición de diámetro; B: Peso de marlo77

Figura 4.6 Preparación de muestra despues de extracción para medición de contenido de antocianinas totales empleando el método de pH diferencial77

Figura 4.7 Preparación de cubetas en I) buffer KCl (pH 1.0/ color rojo) y II) buffer CH₃COONa (pH 4.5/ color violeta claro) para método de pH diferencial.....78



ABREVIATURAS

FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
INIA	Instituto de Innovación Agraria
AHB	Ácidos hidroxibenzoicos
AHC	Ácidos hidroxicinámicos
ECNT	Enfermedades crónicas no transmisibles
NTP	Normas Técnicas Peruanas
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EC3G	Equivalentes de cianidina-3-glucósido
ANOVA	Análisis de varianza
CHOS	Carbohidratos totales
bs	Base seca

INTRODUCCIÓN

La población en el Perú y el mundo está aumentando su consumo de alimentos ricos en grasas saturadas, azúcares y sal, como los alimentos procesados, en reemplazo de alimentos nativos mejor balanceados nutricionalmente como granos integrales, frutas y verduras.

La mala alimentación y otros factores, como el sedentarismo, están ocasionando el aumento de la prevalencia de enfermedades de larga duración cuya evolución es generalmente lenta, conocidas mayormente como enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT). Las principales ECNT son la diabetes tipo 2, las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, las enfermedades respiratorias crónicas y la enfermedad renal. Estas enfermedades representan una verdadera epidemia que va en aumento debido al envejecimiento de la población y los modos de vida actuales que acentúan los factores ya mencionados.

El maíz es un cereal mundialmente conocido por sus variados usos en la preparación de bebidas y postres, pero no solo es un ingrediente culinario importante, también es una fuente rica de vitamina B, antocianinas, ácidos fenólicos y proteínas, aunque esto depende de la variedad de maíz y de los factores agroclimáticos asociados a su cultivo. En los últimos años se ha incrementado la demanda en la producción y venta de maíz morado, así como también las investigaciones acerca de este recurso biológico debido a las múltiples aplicaciones que tiene no solo en el aspecto culinario (uso en bebidas y repostería) sino también en otros rubros como farmacéutico, productos de belleza, alimentario, entre otros. El interés se debe a que el maíz morado es una fuente importante de polifenoles, antioxidantes como las antocianinas, característica que agrega valor a este tipo de cultivo de maíz. Los polifenoles son compuestos que se han asociado a una serie de propiedades funcionales relevantes para la salud las cuales se relacionan con la modulación del estrés oxidativo a través de diferentes mecanismos contribuyendo a la disminución de los factores de riesgo de las ECNT previniendo daños tisulares oxidativos, por ejemplo, que son vinculados a enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes.

La alta diversidad genética del maíz en el Perú está representada por aproximadamente 50-55 razas dentro de las cuales se tiene a la raza *Kculli* que agrupa a todas las variedades de maíz morado. La gran diversidad de climas en el Perú implica la adaptación del cultivo de maíz morado en diferentes zonas geográficas lo cual podría tener potenciales efectos sobre su composición nutricional, perfil y contenido de compuestos fenólicos antioxidantes, entre otras características fenotípicas de este recurso. Sin embargo, esto aún no se ha investigado de forma integral en el Perú.

La presente investigación tiene por objetivo determinar la variabilidad en el perfil y contenido de compuestos fenólicos antioxidantes del maíz morado cultivado en dos zonas geográficas de la región de Arequipa las cuales se asocian a diferentes condiciones climáticas. Esta investigación permitirá generar información científica importante que podría contribuir a futuro a la mejora de la cadena productiva de este cereal y ser destinado no sólo para la alimentación del consumidor local, sino también al mercado internacional.



OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la variabilidad en el contenido y perfil de polifenoles además de la composición nutricional del maíz morado cultivado en dos zonas geográficas de la región Arequipa.

Objetivos Específicos

Evaluar el efecto de la zona geográfica de cultivo de maíz morado procedente de dos zonas geográficas de la región Arequipa sobre sus características físicas (mazorca, marlo y granos), contenido de polifenoles y antocianinas totales (grano y marlo) en sus fracciones fenólicas libre y ligada a la fibra dietética.

Determinar la composición químico proximal de los granos de maíz morado procedente de dos zonas geográficas de cultivo.

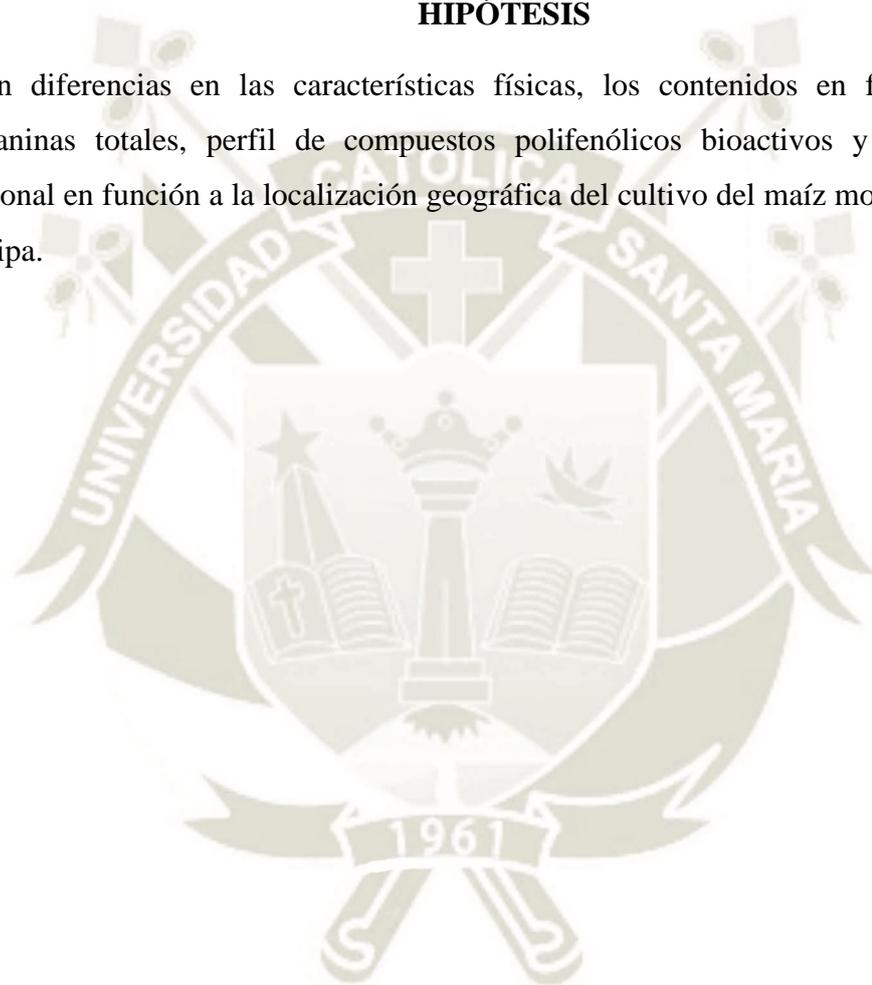
Determinar la variabilidad del perfil de compuestos polifenólicos de los granos y marlos de las muestras por UHPLC-DAD (Cromatografía Líquida de Ultra Alto Rendimiento con Detección de Arreglo de Diodos) en la fracción fenólica libre y ligada a la fibra dietética del maíz morado procedente de dos zonas de cultivo.

Analizar la influencia de las características físicas del maíz morado proveniente de dos zonas geográficas sobre el contenido de polifenoles y antocianinas totales en sus fracciones fenólicas libre y ligada a la fibra dietética.

Evaluar estadísticamente los datos para determinar el efecto de la zona geográfica de cultivo sobre las variables evaluadas (características físicas, fenólicos totales, perfil por UHPLC, composición químico proximal).

HIPÓTESIS

Existen diferencias en las características físicas, los contenidos en fenólicos totales, antocianinas totales, perfil de compuestos polifenólicos bioactivos y la composición nutricional en función a la localización geográfica del cultivo del maíz morado en la región Arequipa.



CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. MAÍZ MORADO (*Zea mays* L.)

En el mundo existen diversos tipos de maíz, que generalmente se diferencian por presentar diferentes colores tales como: rojo, morado, azul, amarillo, naranja, entre otras propiedades.

El maíz morado es un maíz de tipo amiláceo que tiene pigmentos de antocianina distribuidos en la planta; se caracteriza por presentar mazorcas con marlo fuertemente pigmentadas de color morado tanto externamente como en su interior y sus granos tienen el pericarpio de color morado ⁽¹⁾. Expresa uno de los tonos morados más profundos del reino vegetal, debido a su color púrpura tan fuerte, los pigmentos de maíz morado se han usado durante mucho tiempo para colorear alimentos y bebidas ⁽²⁾. En el Perú, la gente consume un postre y una bebida típica hechos a base de este cereal denominada mazamorra y chicha morada respectivamente ⁽³⁾. Ciertas variedades de maíz morado como las procedentes de México, sólo presentan pigmentación en sus granos más no en los marlos al contrario de las variedades procedentes de las zonas de los Andes.

1.1.1. Clasificación taxonómica

Se clasifica de la siguiente manera según la FAO (1993)

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Liliopsida
Orden	:	Poales
Familia	:	Poaceae
Tribu	:	Andropogoneae
Especie	:	<i>Zea</i>
Nombre científico	:	<i>Zea mays</i>
Nombre común	:	Maíz morado

Fuente: Huaman C. (2017) ⁽⁵⁾.

1.1.2. Composición química

Las partes principales del grano desemejan en su composición química, tal como se aprecia en la Tabla 1.1, no obstante su composición dependerá de su variedad,

estado de madurez, condiciones de cultivo, condiciones agroclimáticas, y su procedencia ⁽⁴⁾⁽⁵⁾.

Tabla 1.1 Composición química de las partes principales del grano de maíz ⁽⁴⁾

COMPONENTES (% BASE SECA)	Pericarpio	Endospermo	Germen
Proteínas	3.7	8.0	18.4
Extracto etéreo	1.0	0.8	33.2
Fibra cruda	86.7	2.7	8.8
Cenizas	0.8	0.3	10.5
Almidón	7.3	87.6	8.3
Azúcar	0.34	0.62	10.8

Fuente: FAO (1993) ⁽⁴⁾.

1.1.3. Diversidad genética del maíz peruano y situación en Arequipa

La preservación de la diversidad genética del maíz peruano es de gran importancia en la investigación y en su utilización para el mejoramiento genético de este cultivo. En cuanto al crecimiento del maíz en el Perú, la diversidad de las condiciones ecológicas seguido de la mutación; la hibridación y una selección planificada por los agricultores locales, ha resultado en la presencia de al menos 50-55 razas y múltiples variantes genéticas dentro de cada una debido a esta diversidad, el Perú es considerado como un centro primario de domesticación del maíz ⁽⁷⁾. La diversidad genética del maíz en el Perú está clasificada en razas ⁽⁸⁾.

Una raza se define como una población que tiene rasgos morfológicos y fisiológicos comunes, y por consiguiente genes comunes que determinan estas características ⁽⁸⁾. El desempeño de los agricultores durante el período pre-inca tuvo un rol importante en relación con la producción y el mantenimiento de las semillas. No obstante, en la actualidad aún en las zonas alto andinas, los agricultores continúan con la tradición de conservar los recursos genéticos; seleccionando y plantando las semillas a partir de sus variedades, además de ser los principales consumidores de su producto. Este sistema de evolución continua, en la que han influido varios factores, dando como resultado las razas. Entre los factores de influencia más relevantes se tiene: la práctica generalizada de los agricultores de guardar semillas de una temporada para la siguiente; la selección del grano que mantiene la integridad de una variedad; el intercambio

de semilla entre agricultores y por último la introducción de semillas de otras zonas produciéndose la hibridación, aclimatación y selección⁽⁷⁾.

De acuerdo al proceso evolutivo del maíz en el Perú, se ha podido establecer cinco grupos de razas: primitivas, razas derivadas de las primitivas, de reciente derivación, razas introducidas y razas incipientes, además se tiene en consideración otro grupo compuesto por las razas imperfectamente definidas⁽⁷⁾.

Una raza ancestral o primitiva es la *Kculli*, la cual incluye todas las variedades de maíz morado, tiene una área de cultivo localizada principalmente en las partes altas de la sierra (2500 a 3900 m.s.n.m.)⁽³⁾. El maíz morado (*Zea mays* L.), se ha cultivado y consumido ampliamente en toda la región andina de América del Sur, principalmente en Perú, Ecuador, Bolivia y Argentina⁽⁶⁾.

En el Perú, las variedades nativas derivadas de la raza primitiva *Kculli* son cinco, tales como Morado Canteño, Morado Caráz, Morado Arequipeño, Morado Cusco y Negro de Junín⁽⁹⁾. Existen variedades mejoradas por el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) como las siguientes:

- (a) INIA 615 (Negro Canaán): Se desarrolló a partir de 36 colecciones de cultivares locales de la raza *Kculli* colectadas el año 1990 en las provincias de Huanta, Huamanga y San Miguel, mejoradas por selección recurrente de medios hermanos durante 9 ciclos⁽¹⁰⁾.
- (b) INIA 601 (Negro): Se originó en 1990, se formó con 256 progenies, 108 de la variedad Morado de Caráz y 148 progenies de la variedad local Negro de Parubamba⁽¹¹⁾.

Además existen variedades mejoradas obtenidas por la Universidad Agraria La Molina denominadas como PMV-581 y PMV-582⁽¹⁾.

1.1.4. Origen y Distribución

El maíz se originó en las tierras altas de México entre 7000 y 10000 años atrás⁽¹²⁾. La evidencia paleoetnobotánica más antigua de su domesticación se encuentra en un sitio arqueológico llamado "Nac Neish", ubicado en la parte sur del estado de Tamaulipas, México⁽¹²⁾.

El ecosistema donde se desarrollaron los primeros tipos de maíz fue estacional (inviernos secos alternados con veranos lluviosos) y una altura de más de 1500

msnm; estas características también describen el área principal ocupada por los parientes más cercanos del maíz, el Teocintle (*Zea mays L. ssp. Mexicana*) y el género *Tripsacum* (*Z. mexicana Schrader Kuntze*)⁽¹³⁾. Se hace completamente cierta la afirmación acerca del origen del maíz morado, la cual describe que su cultivo en el Perú es muy remoto y se lleva haciendo desde épocas precolombinas ⁽²⁾.

Hoy en día, el maíz es el cereal y cultivo productivo más importante del mundo. El éxito se debe a su adaptación a diferentes ecosistemas desde las costas a las montañas y al desarrollo de híbridos biotecnológicos de alta producción capaces de producir en condiciones comerciales de hasta 16 toneladas por hectárea. El maíz es un cultivo con una notable variabilidad genética; por lo tanto, muchos genotipos especializados están disponibles ⁽¹²⁾. Sin embargo, las variedades nativas de maíz morado peruano podrían contener genes asociados a una mejor adaptación al cambio climático, concentrando una mayor cantidad de antocianinas, lo cual aún está siendo investigado.

1.1.5. Aplicaciones y usos del maíz morado

El maíz morado se puede usar íntegramente para dar numerosos productos, además del grano. Sin embargo, es posible resumir sus usos a tres fines fundamentales:

1. Como alimento humano básico.
2. Como forraje para ganado.
3. Como materia prima para la fabricación de numerosos productos industriales.

En forma de alimento humano es usado para la preparación de mazamoras, chicha morada, e incluso como harina para preparación de pan y postres, tanto en la industria alimentaria como a nivel doméstico.

Respecto a la cantidad de antocianinas, pigmento responsable del color morado de este tipo de maíz, la mayor concentración de este compuesto fenólico no se encuentra en el grano (parte comestible), sino en el marlo, parte del maíz no comestible. Este pigmento ya ha sido aislado del maíz morado y es reconocido comercialmente por la Unión Europea con el Código E-163 y, también, con el

mismo Código, por la Legislación Japonesa teniendo una variedad de aplicaciones en la industria farmacéutica y alimentaria ⁽¹⁵⁾.

Los colorantes naturales, como las antocianinas, presentan una demanda considerable en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica para reemplazar a los colorantes sintéticos, debido a su naturaleza química, inocuidad y funcionalidad⁽¹⁴⁾.

1.1.6. Producción agrícola del maíz morado y exportación

La producción nacional del maíz morado ha ido en aumento desde el año 2014, siendo las zonas de mayor cultivo: Lima, Ancash, Arequipa, Huánuco, Ayacucho y Cajamarca.

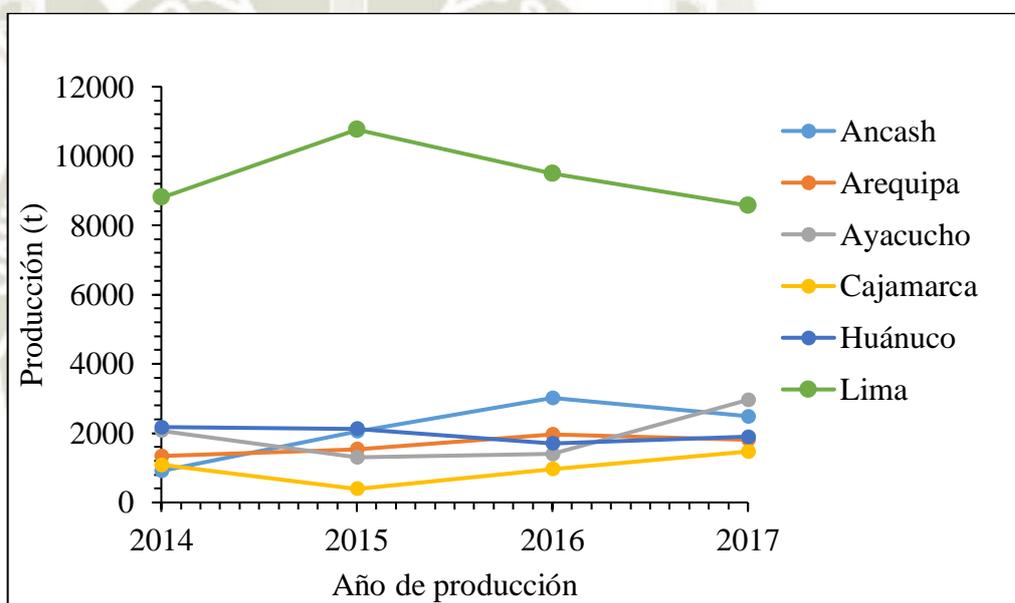


Figura 1.1 Producción de maíz morado en Perú según el año 2014-2017

Fuente: Sifuentes E, Albuja E, Contreras S, León C, Moreyra J, (2016) ⁽¹⁶⁾.

Como se observa en la Figura 1.1, Arequipa es el quinto departamento con mayor producción de maíz morado en el año 2017, con una producción de 1809 toneladas, siendo las provincias de Castilla, Arequipa e Islay las que contribuyen con dicho resultado. Condesuyos y Caravelí son las provincias con menor producción, con un resultado de 48.71 y 54.70 toneladas respectivamente ⁽¹⁶⁾.

El maíz morado se exporta a EE.UU. y Europa, principalmente para su uso como colorante natural en la industria de alimentos y bebidas. A nivel de subproductos, el principal es el marlo, insumo que es utilizado en las industrias de colorantes

naturales, alimentos y en el sector farmacéutico, por su alto contenido de antocianina.

En 2017, Perú exportó 869.453 kilogramos de maíz morado por \$ 1 249 206 siendo Estados Unidos el principal comprador con \$762 000, y en segundo lugar se encuentra España con \$ 182 000, seguido de Ecuador \$134 000, Japón con \$127 206 y Chile con \$ 44 000⁽¹⁷⁾.

1.2. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos son un grupo de metabolitos secundarios más ampliamente distribuidos en las plantas. Se derivan de las vías de las pentosas fosfato, shikimato y fenilpropanoide en las plantas ⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾.

Tales compuestos desempeñan un papel importante en el crecimiento y la reproducción de las plantas, brindando protección contra patógenos y depredadores. Además, contribuyen al color y las características sensoriales de los vegetales y frutas. En general, los metabolitos secundarios también actúan como compuestos señal, que atraen a los polinizadores o animales para la dispersión de semillas, además, protegen a la planta de los oxidantes y la radiación ultravioleta⁽¹⁹⁾.

Su estructura comprende un anillo aromático, que contiene uno o más sustituyentes hidroxilo. Pueden ir desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos altamente polimerizados. La mayoría de los compuestos fenólicos ocurren naturalmente como conjugados con mono y polisacáridos, asociados con uno o más grupos fenólicos. Además, también pueden estar unidos a ésteres y ésteres metílicos. Debido a la diversidad de su estructura, existe una amplia gama de compuestos fenólicos que se encuentran en la naturaleza ⁽²⁰⁾.

1.2.1. Clasificación de compuestos fenólicos

La variación de la naturaleza de los fenólicos va desde moléculas simples, como los ácidos fenólicos, hasta compuestos con estructuras complejas como los taninos⁽²⁰⁾. En la tabla 1.2 se muestran los tipos de compuestos fenólicos de las plantas:

Tabla 1.2 Clasificación de compuestos fenólicos en plantas.

ESTRUCTURA	CLASE
C ₆	Fenoles simples, benzoquinonas
C ₆ -C ₁	Ácidos hidroxibenzoicos
C ₆ -C ₂	Acetofenona, ácido fenilacético
C ₆ -C ₃	Ácido hidroxicinámico, fenilpropanoides
C ₆ -C ₄	Naftoquinonas
C ₆ -C ₁ -C ₆	Xantonas
C ₆ -C ₂ -C ₆	Estilbenos, antraquinonas
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoides, isoflavonoides
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanos, neolignanos
(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoides
(C ₆ -C ₃) _n	Ligninas
(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Taninos condensados (proantocianidinas)

Fuente: Morandi M, Silva V, Maróstica M⁽²⁰⁾.

Las clases de compuestos fenólicos más importantes que se encuentran en la dieta humana son los ácidos fenólicos, los flavonoides y los taninos.

1.2.1.1. Ácidos fenólicos

Químicamente, los ácidos fenólicos tienen al menos un anillo aromático donde al menos un hidrógeno está sustituido con un grupo hidroxilo⁽²¹⁾.

Existen dos clases de ácidos fenólicos: ácidos hidroxibenzoicos (AHB) y ácidos hidroxicinámicos (AHC), que se derivan del ácido benzoico y cinámico, respectivamente. Se sintetizan a través de la ruta del ácido shiquímico, en la que la sustancia precursora es l-fenilalanina o l-tirosina⁽²²⁾.

Los ácidos hidroxibenzoicos, son compuestos que presentan un grupo carboxílico y grupos hidroxilo en un anillo aromático⁽²³⁾. (Figura 1.2). Entre los AHB se tienen al ácido salicílico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido protocatéquico, ácido gantésico, ácido vanílico, ácido gálico, ácido elágico y ácido hexahidroxidifénico.

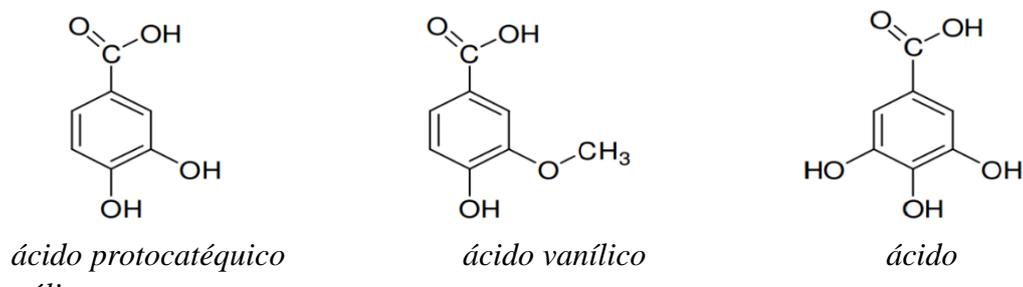


Figura 1.2 Estructura química de ácidos hidroxibenzoicos

Fuente: Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., Bravo, J., (2014)⁽²³⁾.

Están presentes en los alimentos vegetales como conjugados, mientras que pueden estar libres en algunas frutas (por ejemplo, ácido gálico en caquis) o pueden liberarse en el procesamiento de frutas o vegetales ⁽²⁴⁾.

Los AHC se caracterizan por la presencia del grupo dicarboxílico en reemplazo del grupo carboxilo presente en los ácidos hidroxibenzoicos. Rara vez se encuentran en forma libre, pero los alimentos procesados pueden tener formas libres de procesos de esterilización, congelación o fermentación ⁽²⁵⁾.

Los AHC más comunes son el ácido clorogénico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico. (Figura 1.3).

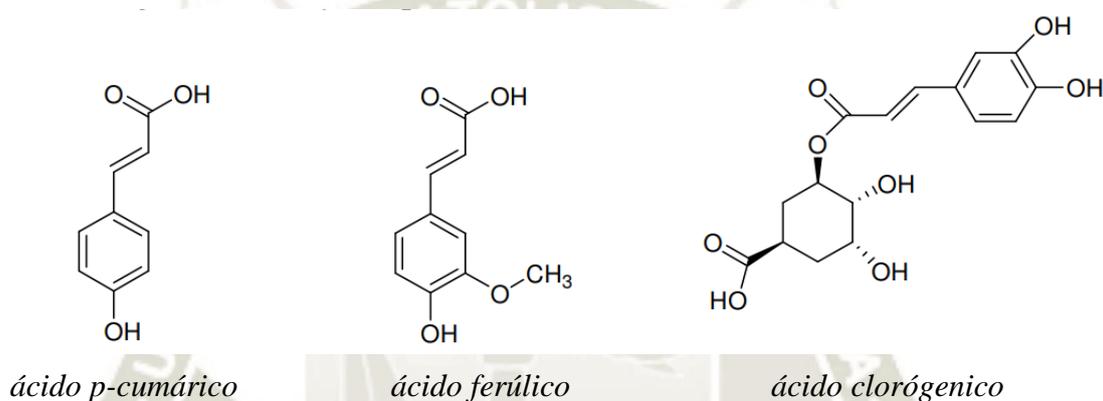


Figura 1.3. Estructura química de ácidos hidroxicinámicos

Fuente: Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., Bravo, J., (2014) ⁽²³⁾.

1.2.1.2. Flavonoides

El mayor grupo de compuestos fenólicos está constituido por los flavonoides. Comprenden más de 6000 compuestos dentro de más de 8000 compuestos fenólicos que se encuentran en alimentos vegetales. Son de bajo peso molecular, caracterizados por un esqueleto de 15 carbonos, dispuesto como C6-C3-C6, con diferentes sustituciones, lo que da lugar a diferentes subclases. (Figura 1.4) ⁽²⁶⁾.

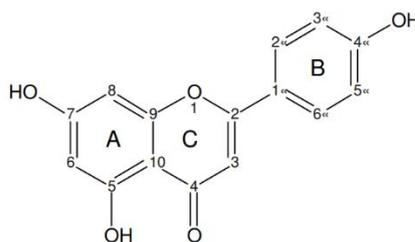


Figura 1.4. Estructura de una molécula de flavonoide

Fuente: Peñarrieta, J., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J., Bravo, J., (2014)⁽²³⁾.

La estructura química típica de los flavonoides está constituida básicamente por dos anillos aromáticos, A y B, unidos por un puente de tres carbonos, frecuentemente en forma de un anillo heterocíclico, C. Además, los anillos C son los principales responsables de las variedades de clases de flavonoides; las variaciones en sus patrones de sustitución proporcionan las principales clases de flavonoides, como flavonoles, flavonas, flavononas, flavanoles (catequinas), isoflavonas, flavanonoles y antocianidinas. Los compuestos que se originan como flavonoides se dan por las variaciones en los anillos A y B⁽²⁰⁾.

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua que pertenecen a la familia de compuestos llamados flavonoides. Son glucósidos o acilglucósidos de seis antocianidinas aglicona que se encuentran comúnmente: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina, y malvidina. La cianidina -3-glucósido es la antocianidina más frecuente en la naturaleza⁽²⁸⁾.

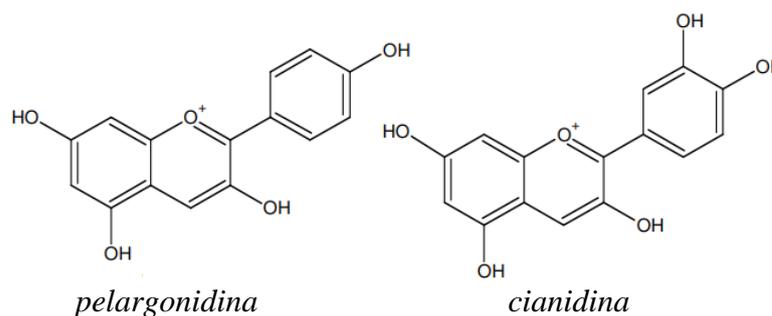


Figura 1.5. Estructura de antocianidinas

Fuente: Peñarrieta, J., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J., Bravo, J., (2014)⁽²³⁾.

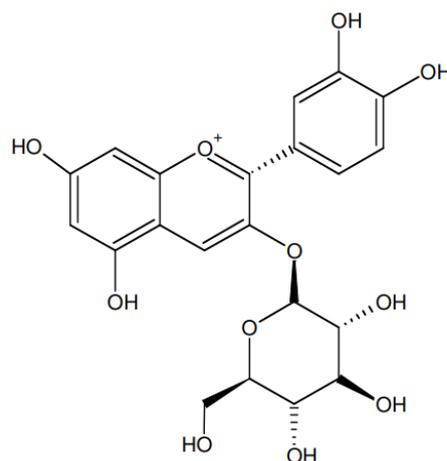


Figura 1.6. Estructura de cianidina-3-glucósido

Fuente: Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., Bravo, J, (2014)⁽²³⁾.

1.2.1.3. Actividad biológica de los compuestos fenólicos

Varios estudios epidemiológicos han demostrado una correlación inversa entre el alto consumo de frutas y verduras y la incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), como enfermedades cardiovasculares, cáncer, obesidad, diabetes, etc. Se ha sugerido que estos efectos beneficiosos del consumo de las frutas y los vegetales se deben a la presencia de diferentes fitoquímicos antioxidantes (que son metabolitos secundarios de las plantas), que eliminan las especies reactivas de oxígeno (ROS), parcialmente responsables de la incidencia de estas ECNT, neutralizando sus efectos negativos. Entre ellos, los compuestos fenólicos juegan un papel importante en estos beneficios potenciales para la salud ⁽²⁹⁾.

Hay dos mecanismos principales por los cuales los compuestos fenólicos ejercen sus propiedades antioxidantes : la inactivación de radicales libres y la transferencia de electrones, este último mecanismo es mayormente utilizado para evaluar la actividad antioxidante de compuestos fenólicos en métodos *in vitro*, sin embargo cuando se trabaja con métodos *in vivo* se evalúan también parámetros bioquímicos que no se consideran en un método *in vitro*; por tal motivo los valores son más altos en un método *in vitro* ^{(30) (31) (32)}.

Se ha demostrado con diferentes estudios *in vivo* e *in vitro* que ciertos flavonoides de diversas fuentes de alimentos tienen un papel en la regulación de la glucosa a través del aumento de los niveles de la secreción de insulina,

la reducción de apoptosis de células β , y promoción de la proliferación de células β ^{(33)(34) (35)}.

1.2.2. Metabolismo de los compuestos fenólicos en el tracto digestivo humano

Los alimentos que contienen compuestos fenólicos sufren reacciones de múltiples enzimas, después de la alteración de las propiedades físicas y químicas en el tracto digestivo, incluyendo la boca, el estómago e intestino delgado y grueso (colon) después de la ingesta⁽³⁶⁾.

Cuando los compuestos fenólicos se consumen en la dieta, se liberan de la matriz después de la masticación ⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾. La mayoría de los polifenoles permanecen relativamente estables a bajo pH experimentado en el estómago y resisten la hidrólisis ácida, lo que facilita su tránsito al intestino delgado. Solo los glucósidos de antocianina se absorben parcialmente en el estómago y el intestino delgado, sin embargo, la tasa de absorción está limitada por el tipo de azúcar unido ⁽³⁹⁾.

Los polifenoles libres que llegan al intestino delgado son hidrolizados por la enzima lactasa-floricina hidrolasa, ingresando luego al sistema de circulación sanguínea ⁽³⁸⁾⁽³⁹⁾. Sin embargo la absorción de los fenólicos ligados no ocurre en el intestino delgado porque las macromoléculas insolubles a las cuales se encuentran unidos, como la celulosa, la hemicelulosa, la proteína estructural y la pectina. Por lo tanto, alcanzan el colon (intestino grueso), donde son biotransformados por digestión enzimática y fermentación de la microbiota del colon liberándose los compuestos fenólicos unidos ⁽³⁹⁾.

Algunos estudios han reportado diversas actividades biológicas asociadas a la biotransformación de los compuestos fenólicos liberados en el intestino grueso. Los ácidos fenólicos influyen en el entorno de fermentación del colon al disminuir el pH y prevenir el crecimiento de microorganismos inductores de cáncer o de otros microorganismos patógenos, ya que muestran un potencial de eliminación de radicales mayor en comparación con los liberados en la digestión gastrointestinal ⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾.

Diferentes estudios demuestran que la microbiota colónica también puede metabolizar los compuestos fenólicos en nuevos productos, por ejemplo, el ácido

vanílico puede sufrir para producir ácido protocatéquico, el cual posee diversas actividades biológicas ⁽⁴²⁾.

1.3. ANTECEDENTES DEL POTENCIAL BIOACTIVO DEL MAÍZ MORADO

1.3.1. Compuestos fenólicos antioxidantes del maíz morado

El maíz pigmentado contiene muchos metabolitos secundarios, como los carotenoides⁽⁴³⁾, y los compuestos fenólicos⁽²³⁾⁽²⁷⁾⁽⁴⁴⁾. Los compuestos fenólicos son considerados como la fuente más importante de antioxidantes en los cereales y existen tanto en forma libre como en forma ligada a la estructura química de la fibra dietética. La mayoría de los fenólicos libres en el maíz morado son flavonoles, principalmente antocianinas, pigmentos hidrosolubles que se localizan en las vacuolas de las células vegetales, mientras que los fenólicos de la fracción ligada son principalmente ácidos fenólicos. Las formas libres de los compuestos fenólicos se pueden encontrar como ésteres, glucósidos y otros complejos mientras que los ácidos fenólicos libres son menos abundantes ⁽⁴⁵⁾.

A los componentes de la pared celular se encuentran ligados compuestos fenólicos insolubles, como el ácido p-cumárico y su ligación con la lignina ⁽⁴⁶⁾, y sólo cantidades más pequeñas se unen a los polisacáridos ⁽⁴⁷⁾. El ácido fenólico más abundante en esta fracción, es el ácido ferúlico que se encuentra ligado a los polisacáridos de la pared celular, como los arabinoxilanos o las pectinas⁽⁴⁸⁾. A través de enlaces éter, el ácido ferúlico forma conexiones entre los fragmentos de lignina, y por enlaces éster con las arabinoxilanas. Además, forma puentes diferúlico con la hemicelulosa de la pared celular, a través de heteroxilanas, dotando a las paredes celulares del pericarpio con una mayor resistencia e incrementa la tolerancia del grano a plagas de almacén ⁽⁴⁹⁾.

Se han realizado estudios en diferentes países que han demostrado la presencia de compuestos fenólicos, principalmente antocianinas en el maíz morado además de otros compuestos fenólicos como ácidos fenólicos y sus derivados. Se ha reportado la presencia de antocianinas en el marlo ⁽⁵⁰⁾⁽⁵¹⁾, grano ⁽⁵²⁾⁽⁵³⁾⁽⁵⁴⁾, pericarpio ⁽⁵¹⁾, y estigmas de la mazorca del maíz morado ⁽⁵⁵⁾.

Existen aún pocos trabajos sobre la caracterización del maíz morado de origen peruano. Se han identificado por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) diferentes compuestos fenólicos en la fracción libre como: ácido

clorogénico, ácido cafeico, rutina, ácido ferúlico, morina, quercetina, naringenina y kaempferol en los granos de las muestras de maíz morado proporcionados por el Instituto de Investigación Agraria (INIA) en Cajamarca ⁽²⁷⁾. En otra investigación se detectaron nueve compuestos fenólicos en la fracción libre como: ácido protocatequico, ácido vanílico, ácido p-cumárico, derivados de quercetina, derivados de hesperetina, derivados de ácido hidroxicinámico, cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido en un extracto de marlo de maíz morado proveniente de Lima ⁽⁵⁶⁾. Varias investigaciones han reportado que factores asociados a diferentes zonas geográficas de cultivo como la estación, la ubicación, la luz solar, las precipitaciones, la temperatura, el grado de madurez influyen en la variabilidad de compuestos fenólicos y otros bioactivos en las plantas, sin embargo, en el caso del maíz morado aún no se han realizado suficientes investigaciones al respecto ⁽⁵²⁾.

En cuanto a las antocianinas del maíz morado, se han identificado 6 principales que incluyen la cianidina-3-glucósido (C-3-G), la pelargonidina-3-glucósido (Pg-3-G), la peonidina-3-glucósido (Pn-3-G), la cianidina-3-(6''-malonilglucósido), la pelargonidina-3-(6''-malonilglucósido) y la peonidina-3-(6''-malonilglucósido); estas tres últimas derivadas del ácido malónico que se une a la molécula de carbono en la posición 6'' del resto de la glucosa, y en caso se unieran azúcares en esta posición se forma la rutinosa⁽⁶⁾⁽²³⁾. Se han identificado también antocianinas no aciladas unidas a otros compuestos fenólicos tales como ácido succínico y catequina. Algunas investigaciones reportan haber encontrado delfinidina-3-glucósido pero es raramente detectado ⁽⁶⁾⁽²³⁾.

El interés en la identificación y cuantificación de las antocianinas radica en su potencial relevante en la salud como la reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular, obesidad, diabetes, cáncer y otras enfermedades crónicas⁽⁵⁷⁾.

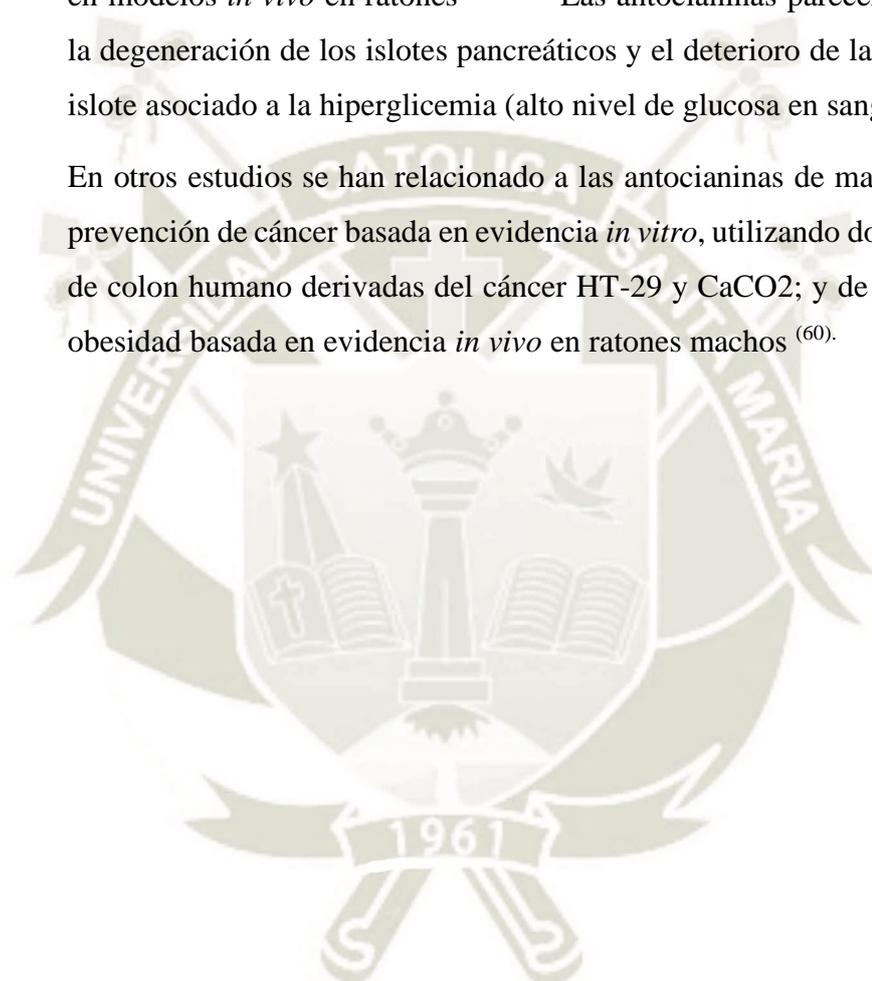
1.3.2. Propiedades bioactivas del maíz morado

En un estudio que evaluó el potencial saludable de diferentes granos nativos provenientes de Perú (kañiwa, quinua roja, kiwicha, tarwi y maíz morado), y sometidos a un proceso de cocción, se encontró que el maíz morado presentó el contenido fenólico total más alto entre los granos evaluados, una elevada

actividad antioxidante *in vitro* asociada a la eliminación de radicales libres y la mayor actividad inhibidora de la enzima glucosidasa relevante para el control de la hiperglicemia, características probablemente relacionadas con su contenido de ácido protocatéquico ⁽⁵⁷⁾ ⁽⁵⁸⁾.

Las antocianinas del maíz morado se han asociado con potenciales propiedades antidiabéticas al demostrar un efecto protector de las células beta pancreáticas en modelos *in vivo* en ratones ⁽⁵⁶⁾ ⁽⁵⁹⁾. Las antocianinas parecen proteger contra la degeneración de los islotes pancreáticos y el deterioro de las células beta del islote asociado a la hiperglicemia (alto nivel de glucosa en sangre) ⁽⁵⁶⁾ ⁽⁵⁹⁾.

En otros estudios se han relacionado a las antocianinas de maíz morado con la prevención de cáncer basada en evidencia *in vitro*, utilizando dos líneas celulares de colon humano derivadas del cáncer HT-29 y CaCO2; y de prevención de la obesidad basada en evidencia *in vivo* en ratones machos ⁽⁶⁰⁾.



CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación fue desarrollado en el Laboratorio de Ciencia de Alimentos (Pabellón F) del Vicerrectorado de Investigación, de la Universidad Católica Santa María (UCSM).

2.2. Muestras

Se evaluaron mazorcas maduras de maíz morado (*Zea mays* L.) de la región de Arequipa cultivados en dos zonas geográficas (distritos de Iray y Chuquibamba) de la provincia de Condesuyos según la Tabla 3. Se seleccionó la variedad “Canteño” la cual fue cultivada en condiciones orgánicas y se tomaron aleatoriamente entre 5-8 mazorcas de 3 fundos o campos de cultivo de cada zona geográfica seleccionada. Se consideró que las muestras procedentes de cada fundo o campo de cultivo corresponden a una réplica biológica.

Adicionalmente, sólo para efectos comparativos, se incluyó un grupo de muestras de mazorcas de maíz morado provenientes del distrito de Corire (provincia de Castilla), ya que esta es la zona de mayor producción de maíz morado a nivel de la región Arequipa ⁽¹⁶⁾; no obstante, se desconoce la variedad utilizada. En este grupo, se tomaron muestras de mazorcas maduras de 4 campos de cultivo de diferentes puntos geográficos (Tabla 2.1). En las figuras 2.1 y 2.2 se muestran fotos de las mazorcas evaluadas. Se tomó información acerca de las condiciones pre y post cosecha aplicadas al cultivo de cada muestra (Anexo 2). También se recogieron datos meteorológicos provistos por el Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (SENAMHI) de las zonas de Chuquibamba y Corire, pero no de Iray, ya que dicha institución no posee una estación de monitoreo en esta región (Anexo 3).

Tabla 2.1 Localización geográfica de las muestras de maíz morado evaluadas

PROVINCIA	DISTRITO	CÓDIGO	NOMBRE DEL ANEXO	ALTITUD (msnm)	LATITUD Y LONGITUD
Condesuyos	Iray	1	Huichara	2249	S 15°50'34.2" W 72°38'9.3"
		2	Puyara	2337	S 15°51'54.7" W 72°37'7.4"
		3	Pacaichacra	1712	S 15°53'43.2" W 72°34'10"
	Chuquibamba	4	Chiringay	2896	S 15°48'59.6" W 72°38'33.3"
		5	Huayra	2768	S 15°50'20.7" W 72°38'33.4"
		6	Huayra	2759	S 15°50'53.5" W 72°38'33.6"
Castilla*	Corire*	7	Corire	398	S 16°21'23.9" W 72°28'37.8"
		8	Toran	505	S 16°09'42.0" W 72°29'02.9"
		9	Maran	491	S 16°13'11.6" W 72°27'52.3"
		10	Querulpa	482	S 16°11'18.3" W 72°27'41.5"

Fuente: Elaboración propia

*Zona incluida para efectos comparativos

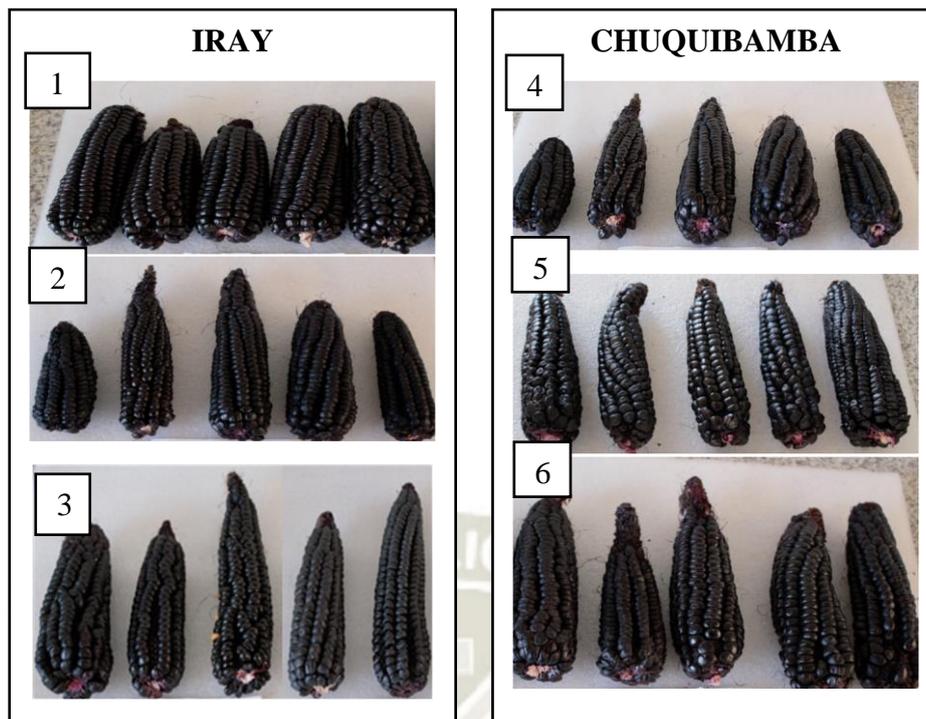


Figura 2.1. Muestras de mazorcas de maíz morado recolectadas de la provincia de Condesuyos

Fuente: Elaboración propia

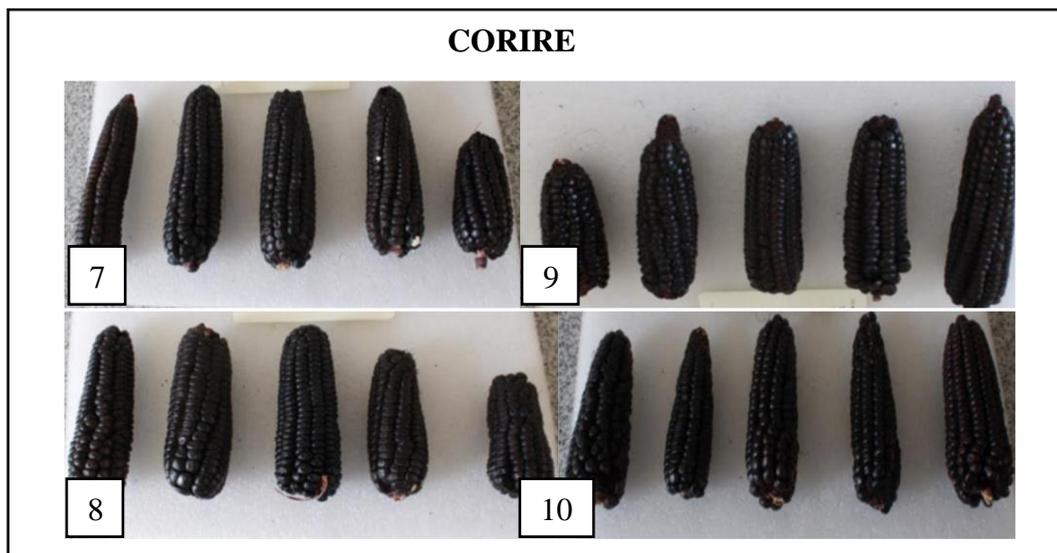


Figura 2.2 Muestras de mazorcas de maíz morado seco recolectadas de la provincia de Castilla

Fuente: Elaboración propia

2.3. Materiales, equipos y reactivos

2.3.1. Materiales

- Columnas C18 Sep Pak (55 μm de tamaño de poro, 6 mL, Phenomenex)
- Cubeta para espectrofotómetro de polipropileno desechable (3 mL).
- Embudo Buchner
- Filtros de jeringa (0.22 μm de tamaño de poro, 13 mm de diámetro, tipo GV, membrana PVDF, Millipore).
- Filtros de nylon (0.45 μm de tamaño de poro, 47 mm de diámetro, membrana nylon, Phenomenex)
- Jeringas estériles desechables.
- Materiales de vidrio: balones, fiolas, probetas, tubos de ensayo, vasos de precipitado, matraz erlenmeyer, pipetas, frascos de tapa azul, viales para UHPLC.
- Micropipetas de 2-20, 20-200, 100-1000 y 0,5-5000 μL (Brand/ Transferpette).
- Microtubos de 2 mL.
- Tamiz (500 μm , W.S Tyler)
- Tips para micropipetas de 200, 1000 y 5000 μL .
- Tubos de centrifuga de propileno de 15 y 50 mL.

- Vernier

2.3.2. Equipos

- Balanza analítica (Explorer® Analítica, OHAUS, EEUU)
- Bomba de vacío (2546, Welch, Alemania).
- Campana extractora (FHI800(P), BIOBASE, EEUU).
- Centrífuga (RH5A/RH5, RongHua, China).
- Columna analítica C18 para UHPLC (1.7 µm; 100*2,1 mm) (Kinetex, Phenomenex, EEUU)
- Pre-columna para Columna UHPLC (1.7 µm; 2.1*5 mm) (Kinetex, Phenomenex, EEUU)
- Equipo de Filtración para solventes HPLC (Phenomenex, EEUU)
- Espectrofotómetro (Shimadzu UV-1700 PharmaSpec.Japón).
- Extractor Nutribullet (Magic Bullet, EEUU)
- Molinillo de granos de café (BOSCH, EEUU)
- Molino manual (WF2541, Wolfox, EEUU).
- Potenciómetro (HI 3220, HANNA Instruments, Italia).
- Purificador de agua Milli-Q (Simplicity®, MERK, EEUU).
- Rotavapor con baño maría y bomba de vacío (Rotavapor® R-100, Buchi, Alemania).
- Selladora (PFS-300, Chen-he Machine, China)
- Set Manifold completo (60103-351, Thermo Scientific™, EEUU)
- Shaker o agitador orbital (SK-O330-Pro, SCILOGEX, EEUU)
- Sonicador (Branson Ultrasonics, Fisher Scientific, EEUU)
- UHPLC con detector de arreglo de fotodiodos (DAD) con inyector automático, bomba cuaternaria y horno para columna (Ultimate 3000, Thermo Scientific, EEUU)
- Vortex mixer (WIZARD IR Infrared Vortex Mixer, Velp Scientifica, Italia).

2.3.3. Reactivos

- Acetato de etilo P.A. (Merck)
- Acetato de sodio (Merck)
- Acetona P.A. (Merck).

- Acetonitrilo grado HPLC (Merck).
- Ácido clorhídrico P.A. (Merck).
- Ácido fórmico P.A. (Loba Chemie).
- Ácido gálico (Sigma)
- Carbonato de Sodio P.A. (Merck).
- Cloroformo P.A (Merck)
- Cloruro de potasio (Merck)
- Etanol P.A. (Merck).
- Folin – Ciocalteu 2N P.A. (Merck).
- Hidróxido de sodio P.A (Merck).
- Isopropanol grado HPLC (Merck)
- Metanol grado HPLC (Merck)
- Metanol P.A. (Merck).

2.3.4. Estándares de compuestos fenólicos

Ácidos hidroxicinámicos:

- Ácido ferúlico (Sigma - Aldrich Co., ≥ 99)
- Ácido *p*-cumárico (Sigma - Aldrich Co., $\geq 98\%$).

Flavonoides:

- Cloruro de Cianidina (Sigma - Aldrich Co., $\geq 95 \%$).
- Quercetina aglicona (Sigma - Aldrich Co., $\geq 95\%$).

2.4. Metodología experimental

En las figuras 2.3 y 2.4 se presentan los flujogramas generales de procesos correspondientes a la preparación de las muestras y la extracción de las fracciones fenólicas libres y ligadas a la fibra dietética del marlo y grano de maíz morado evaluados, respectivamente. A continuación, se describen cada una de las etapas que se siguieron para la obtención de los extractos de los compuestos fenólicos y antocianinas de los marlos y granos de maíz morado.

2.4.1. Limpieza, selección y secado de las muestras

Se eliminaron manualmente restos de tierra, pelos de la mazorca, entre otros contaminantes. Las muestras de mazorcas colectadas se encontraban húmedas, por lo que al llegar al laboratorio se secaron inmediatamente en una estufa de

aire forzado a una temperatura de 42 °C por tres días, luego fueron desgranadas y almacenadas en forma de grano y marlo en oscuridad a -20 °C hasta su análisis (61).

2.4.2. Molienda

Los marlos fueron molidos hasta obtener un fino polvo (500 μm) utilizando dos tipos de molinos, primero por un molino de grano mecánico y después con un molino eléctrico. En el caso de los granos, estos fueron molidos utilizando un molinillo de café por 2-5 min. Las muestras molidas se pasaron por un tamiz de 500 μm , luego se envasaron en empaques de polietileno de alta densidad, sellados y se almacenaron en oscuridad a -20 °C⁽⁶¹⁾.



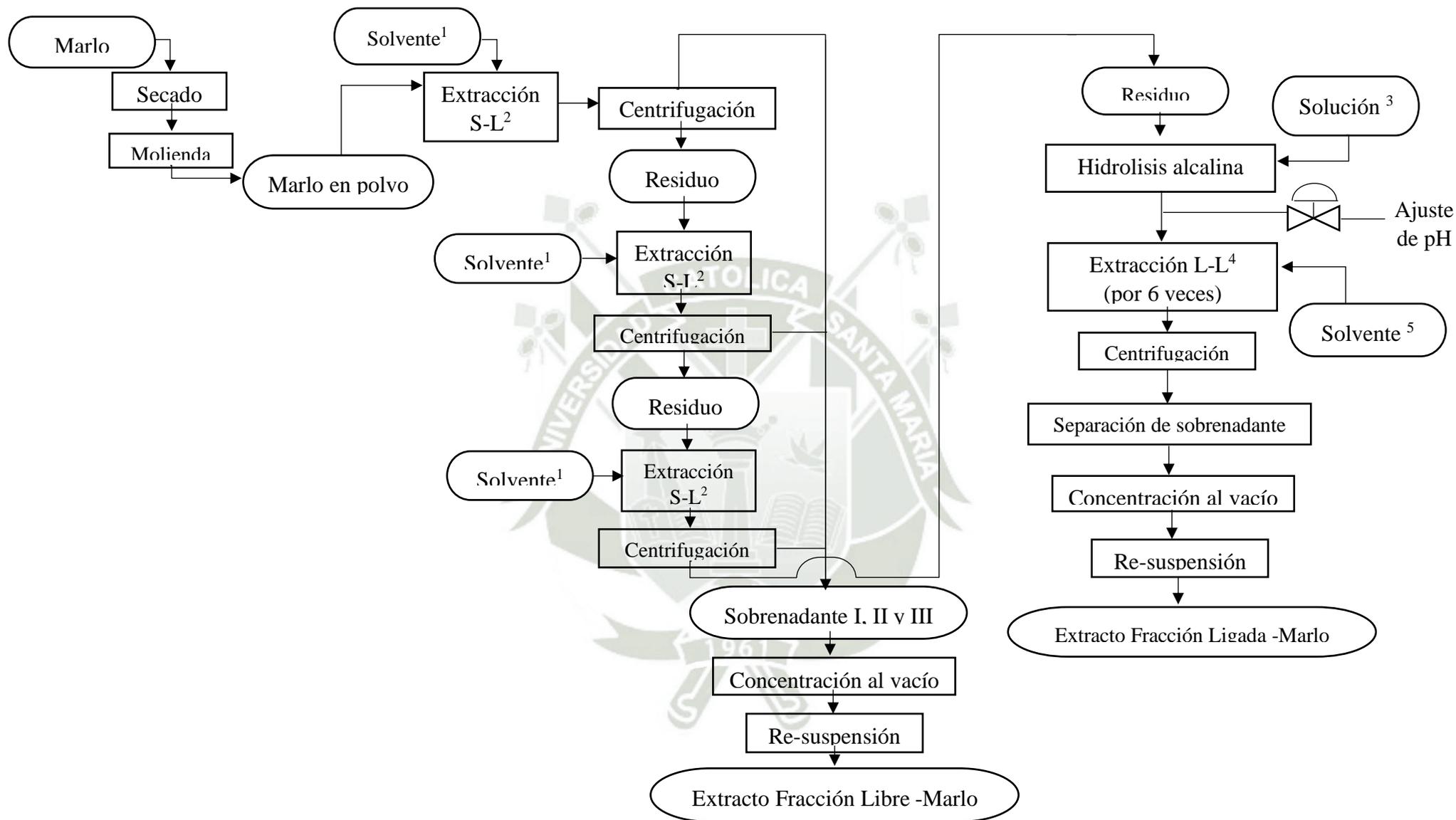


Figura 2.3. Flujograma de procesos para la extracción de la fracción fenólica libre y ligada de muestras de marlo

Fuente: Elaboración propia

¹Metanol, acetona y agua acidificada con HCl 0.1%; ²Sólido-Líquido; ³NaOH 3N; ⁴Líquido-Líquido; ⁵Etilacetato

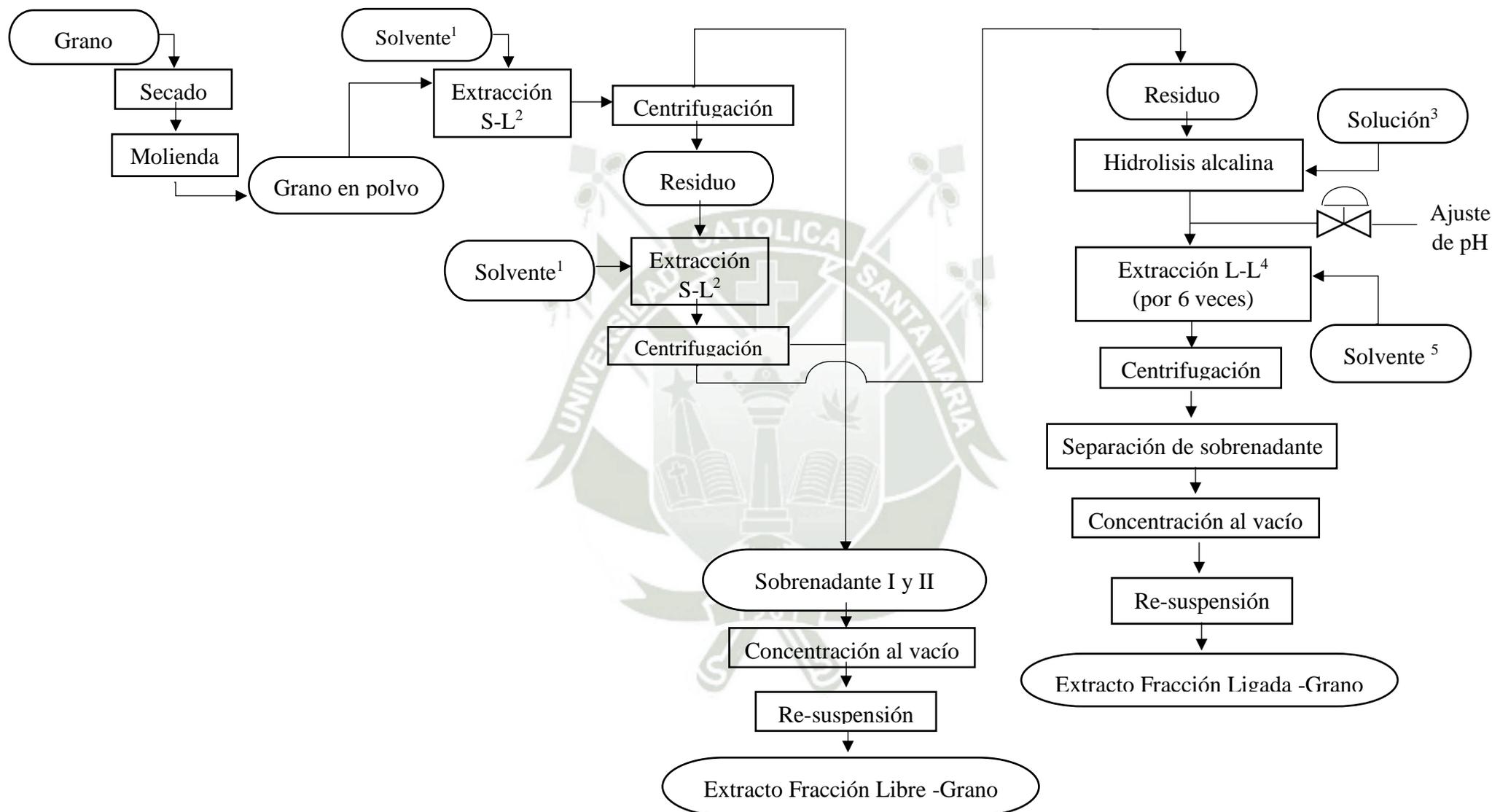


Figura 2.4 Flujo de procesos para la extracción de la fracción fenólica libre y ligada de muestras de grano

Fuente: Elaboración propia

¹Metanol, acetona y agua acidificada con HCl 0.1%; ²Sólido-Líquido; ³NaOH 3N; ⁴Líquido-Líquido; ⁵Etilacetato

2.4.3. Extracción de los compuestos fenólicos

Usando una metodología optimizada por González, con algunas modificaciones, fueron obtenidos los compuestos fenólicos de la fracción libre y ligada para marlo y grano. El proceso de extracción fue realizado en las muestras compuestas de mazorcas (grano y marlo) correspondiente a cada punto de muestreo o réplica biológica.

a) Extracción de los compuestos fenólicos de la fracción libre en muestras de marlo y grano

Se pesó 1 g de muestra de marlo y 5 g de muestra de grano respectivamente, y se mezcló con 20 mL de metanol/acetona/agua (45:45:10, v/v/v) acidificado con 0.1% de ácido clorhídrico y fue llevado a agitación a 200 rpm por un periodo de 1 hora y en oscuridad. El proceso se realizó a temperatura ambiente. Seguidamente la mezcla se centrifugó a 3000 rpm por 5 minutos, se recuperó el sobrenadante y se almacenó en un balón de rotavapor.

Se realizaron dos extracciones usando un volumen de solvente de 10 mL para el marlo, por 30 y 10 minutos, respectivamente. El grano solo tuvo una extracción más con 20 mL de solvente por 30 minutos a 200 rpm. Luego de cada extracción, se separaron los sobrenadantes por centrifugación a 3000 rpm y 5 minutos se juntaron en un balón de vidrio y se evaporaron al vacío a 45 °C hasta sequedad.

Los compuestos fenólicos extraídos del marlo y grano fueron reconstituidos con 10 mL de agua Milli-Q y se almacenaron a -20 °C, hasta su posterior análisis.

b) Extracción de los compuestos fenólicos de la fracción ligada en muestras de marlo y grano

Se pesó 0.1 g y 0.5 g de muestra de marlo y grano en polvo respectivamente, y fue mezclado con 2 mL de metanol/acetona/agua (45:45:10, v/v/v) acidificado con 0.1% de ácido clorhídrico y fue llevado a agitación a 200 rpm por un periodo de 1 hora en oscuridad. El proceso se realizó a temperatura ambiente. Seguidamente la mezcla se centrifugó a 4000 rpm

por 5 minutos, se eliminó el sobrenadante y sobre el residuo se realizaron dos re-extracciones, según lo explicado previamente en el punto a.

La fracción libre fue descartada y se adicionó 20 mL de hidróxido de sodio 3N al residuo o pellet. La hidrólisis alcalina se realizó bajo agitación a 200 rpm por un tiempo de 88 minutos a temperatura ambiente. Se neutralizó la mezcla obtenida a un pH de 2.5 – 3.0 con ácido clorhídrico concentrado y ácido clorhídrico 2N. Los compuestos fenólicos fueron extraídos con un proceso de extracción líquido-líquido con 10 mL de acetato de etilo con agitación manual por 1 minuto aproximadamente, este proceso fue realizado seis veces. Las fracciones de acetato de etilo fueron separadas por centrifugación a 5000 rpm por 5 minutos. Se juntaron en un balón de rotaevaporación y se concentraron al vacío a 45°C hasta sequedad. Los compuestos fenólicos del grano y de marlo, fueron reconstituidos en 5 mL de agua Milli-Q. El extracto acuoso fue almacenado en oscuridad a una temperatura de -20°C, hasta su posterior análisis⁽⁶²⁾.

2.4.4. Selección del método de extracción de antocianinas

Para la extracción de las antocianinas del maíz morado se evaluaron tres métodos reportados en publicaciones científicas con el fin de seleccionar el que permita la mayor extracción de antocianinas totales. Para estas pruebas se utilizó una muestra de marlo de origen comercial, y a continuación se describen las metodologías aplicadas con algunas modificaciones.

a) Metodología según Jing y Giusti

Se pesó 1 g de muestra de marlo, y fue mezclado con 25 mL de acetona acuosa 70% (v/v). acidificada con 0.01% de ácido clorhídrico 6 N. La mezcla homogénea fue agitada a 100 rpm por 20 minutos a temperatura ambiente. Luego fue filtrada al vacío en un embudo Buchner con Whatman N°1, se lavó la torta con 15 mL de solvente. El filtrado se concentró al vacío a 40 °C, y fue resuspendido en 25 mL de agua acidificada con 0.01% de ácido clorhídrico 6 N. El extracto acidificado acuoso se conservó a una temperatura de -20 °C hasta su posterior análisis⁽⁶³⁾.

b) Metodología según Jing *et al.*

Se pesó 2 g de muestra de marlo en polvo, y fue mezclada con 25 mL de acetona 70% acidificada con 0.01% de ácido clorhídrico 6 N. La mezcla homogénea fue agitada por 1 hora a 100 rpm a temperatura ambiente. La mezcla fue filtrada al vacío con papel Whatman N°1 en un embudo Buchner. La torta se lavó tres veces con 10 mL de solvente. Luego se añadió al filtrado 15 mL de cloroformo, y fue centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante fue colectado y se concentró al vacío a 40 °C, y finalmente fue resuspendido con 25 mL de agua acidificada con 0.01% de ácido clorhídrico 6 N. El extracto acidificado acuoso fue almacenado a -20 °C hasta su posterior análisis ⁽⁶⁴⁾.

c) Metodología según Lao y Giusti

Se pesó 1 g de muestra de marlo en polvo, y se mezcló con 50 mL de etanol 50% acidificado con 0.01% de ácido clorhídrico 6 N. La mezcla homogénea fue agitada a 100 rpm por 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla fue filtrada al vacío con papel Whatman N°1 en un embudo Buchner, y la torta fue lavada dos veces con 25 mL de solvente. El filtrado fue concentrado al vacío a 40 °C, y resuspendido con 100 mL de agua acidificada con 0.01% de ácido clorhídrico 6 N. El extracto acidificado acuoso fue almacenado a -20 °C hasta su posterior análisis ⁽⁶⁵⁾.

2.4.5. Extracción de antocianinas de muestras de marlo y grano

El método que permitió una mayor extracción de antocianinas fue el reportado por Lao y Giusti con algunas modificaciones, por lo que este método fue aplicado a todas las muestras (marlo y grano) y se describe a continuación.

El peso de grano y marlo en polvo fue de 1 g de muestra, se mezcló con 25 mL de etanol 50% acidificado con 0.01% de ácido clorhídrico 6 N, para las muestras de marlo y grano respectivamente. La mezcla homogénea fue agitada a 100 rpm por una hora, a temperatura ambiente, luego fue filtrado al vacío con un embudo Buchner, y papel Whatman N°1, y se hicieron dos lavados con un volumen de 12.5 mL de solvente por lavado. Ambos extractos se concentraron al vacío a 40 °C hasta evaporar el solvente orgánico. Las antocianinas fueron reconstituidas en 50 y 10 mL de agua Milli-Q acidificada con 0.01% de ácido clorhídrico 6 N,

para las muestras de marlo y grano respectivamente. El extracto acidificado acuoso finalmente se conservó en oscuridad a una temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta su posterior análisis. Estos extractos fueron analizados por el método de pH diferencial para la determinación de las antocianinas totales según se presentarán en el punto 2.5.5⁽⁶⁵⁾.

2.4.6. Purificación de antocianinas

Los extractos obtenidos en el punto 2.4.5 fueron purificados con el fin de ser posteriormente analizados por UHPLC-DAD. La purificación de las antocianinas del marlo y grano del maíz morado se realizó según Rodríguez-Saona y Wrolstad ⁽⁶⁶⁾.

Se agregó un volumen de 0.25 mL y 0.6 mL de extracto de marlo y grano, respectivamente, a cada columna SPE C18 (extracción en fase sólida) previamente acondicionada. Se adicionaron 2 volúmenes (12 mL) de agua Milli-Q acidificada con 0.01% de ácido clorhídrico para hacer un lavado a la columna. Posteriormente se realizó la elución de la muestra con 2 volúmenes de metanol acidificado con 0.01% de ácido clorhídrico. La muestra fue concentrada al vacío a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta sequedad, y resuspendida con 5 mL de agua Milli-Q acidificada con 0.01% de ácido clorhídrico. Las fracciones purificadas se conservaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su posterior análisis.

2.5. Métodos de análisis

2.5.1. Medición de parámetros físicos

Se midieron los parámetros físicos de mazorca (longitud, peso, diámetro, número de hileras, número de granos por hilera, peso de granos por mazorca, y porcentaje de grano en mazorca) , marlo (diámetro y peso) y de grano seco (peso de 100 granos, longitud y ancho) según lo especificado por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT)⁽⁶⁷⁾.

2.5.2. Determinación de humedad

El método utilizado para evaluar la humedad en las muestras de marlos y granos fue aquel reportado por la A.O.A.C (1990). Se expresó los resultados en porcentaje. Para expresar los resultados se utilizó la humedad de cada muestra, de esta manera todos los parámetros evaluados se reportaron en base seca (bs).

2.5.3. Análisis químico proximal de granos

Se determinó el porcentaje de grasa según NTP 205.041.1976 revisada el 2016, cenizas según NTP 205.004.2017, proteínas totales por el método Kjeldahl según NTP 205.005.2018 y fibra cruda según NTP 205.003.2017. Los carbohidratos totales fueron determinados por diferencia.

2.5.4. Determinación de compuestos fenólicos totales

Se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales empleando el método de Folin - Ciocalteu propuesto por Singleton y Rosi fue determinado en los extractos de la fracción fenólica libre y ligada del marlo como del grano. El método se realizó de la siguiente manera, en un tubo de ensayo se transfirió 0.5 mL de extracto de muestra en la dilución apropiada, con agua destilada y se agregó 0.25 mL del reactivo de Folin - Ciocalteu 1 N. Después de la reacción, se neutralizó la mezcla agregando 1.25 mL de solución acuosa de carbonato de sodio (Na_2CO_3) 1.2 N, y a temperatura ambiente se dejó reposar durante 30 minutos en un lugar oscuro.

La absorbancia se midió a 755 nm frente a un blanco que contenía agua destilada en lugar de muestra, utilizando un espectrofotómetro. Por medio de una curva de calibración preparada con ácido gálico a diferentes concentraciones (0.005 a 0.044 mg/mL de ácido gálico) (Anexo 4) se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales de cada muestra; los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de muestra en base seca (bs)⁽⁶⁸⁾.

2.5.5. Determinación de antocianinas totales

El contenido de antocianinas totales fue determinado en los extractos de antocianinas de marlo y grano, empleando el método de pH diferencial según Giusti y Wrolstad. El método se realizó de la siguiente manera, se prepararon dos diluciones de la muestra, una de ellas con buffer cloruro de potasio a pH 1.0 y la otra dilución con buffer acetato de sodio a pH 4.5, aplicando a cada una, un factor de dilución apropiado. Después de 15 minutos de equilibrio, se realizó la medición de las absorbancias de cada dilución a dos longitudes de onda (511 y 700 nm).

Se calculó los niveles de antocianinas y fueron expresados como mg equivalentes de cianidina-3-glucósido (EC3G) por 100 g de muestra en base seca (bs):

$$C = (A * PM * FD * 1000) / (\epsilon * D) \quad \text{Ecuación 1.}$$

Donde C es la concentración de antocianinas totales (mg EC3G/100 g bs), A es la absorbancia neta ($A_{511} - A_{700}$), ϵ es el coeficiente de extinción molar de la cianidina-3-glucósido (26 900 L/mol*cm), FD es el factor de dilución, PM es el peso molecular de la cianidina-3-glucósido (449.2 g/mol) y D, es el diámetro de la cubeta (1 cm) ⁽⁶⁹⁾.

2.5.6. Determinación del perfil de compuestos fenólicos por análisis UHPLC-DAD

Se empleó el método reportado por Ranilla et al. adaptado para UHPLC con modificaciones. Los extractos de las muestras de maíz de fracción fenólica ligada (marlo y grano) y extractos de antocianinas de marlo y grano (fracción libre), fueron filtrados con filtros Millipore 0.22 μ m. Se inyectó los extractos a un sistema UHPLC conformado por un detector de arreglo de fotodiodos (DAD), bomba cuaternaria, inyector automático y una columna, siendo controlado mediante el software Chromeleon.

Los compuestos fenólicos se separaron en una columna (1.7 μ m; 2.1*100 mm; Kinetex) con precolumna (1.7 μ m; 2.1*5 mm; Kinetex) a 30 °C. El volumen de inyección fue 5 y 10 μ L, para la fase ligada y libre, respectivamente, la velocidad de flujo fue 0.2 mL/min y las eluciones fueron monitoreadas en un rango de longitud de onda de 400 a 700nm. En el proceso de separación se aplicó un programa de elución en gradiente, con una fase móvil que contiene el disolvente (A) ácido fórmico: agua (1:999, v/v, pH 2.50) y el disolvente (B) 100% de acetonitrilo: 2 - 15% B en 3 minutos, 15 - 45% B en 6 minutos, 45 - 98% B en 1 minuto, 98% B en 3 minutos y luego se regresó a las condiciones iniciales por 4 minutos (tiempo de ejecución total fue 20 minutos). Se detectaron compuestos fenólicos en los extractos de las muestras, esencialmente ácidos fenólicos y en algunos casos flavonoides como antocianinas y derivados de quercetina. Para su identificación, se comparó el tiempo de retención y los espectros de absorción

(longitud de onda de máxima absorción) de los picos detectados en las muestras de marlo y grano con aquellos correspondientes a los estándares puros.

Para la cuantificación de los compuestos fenólicos, se ejecutaron curvas de calibración ($r = 0.999$) para los estándares puros (ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, quercetina y cloruro de cianidina) diluidos en metanol al 80% los dos primeros, metanol 100% y metanol acidificado con 5% de ácido acético, respectivamente. Los resultados fueron expresados como mg por 100 g de muestra en base seca (bs)⁽⁷⁰⁾.

2.6. Diseño experimental

Para la caracterización de los compuestos fenólicos del maíz morado de la región Arequipa, procedente de dos zonas geográficas de la región se siguió el diseño experimental que se muestra en la tabla 2.2.

Tabla 2.2 Diseño experimental para la caracterización de compuestos fenólicos del maíz morado de la región de Arequipa

TRATAMIENTOS				VARIABLES DE RESPUESTA
LOCALIDAD		MUESTRA	RÉPLICAS BIOLÓGICAS	
PROVINCIA	DISTRITO			
Condesuyos	Iray	Marlo	3	Parámetros físicos, análisis químico proximal de grano, compuestos fenólicos totales en las fracciones fenólicas libre y ligada de marlo y grano, contenido de antocianinas totales de marlo y grano y perfil de compuestos fenólicos detectados por UHPLC-DAD.
		Grano		
	Chuquibamba	Marlo	3	
		Grano		
Castilla*	Corire*	Marlo	4	
		Grano		

*Se incluyó esta zona solo para efectos comparativos

Fuente: Elaboración propia

2.7. Análisis estadístico

Se expresaron los resultados como promedio \pm desviación estándar. Los datos se compararon con el análisis de distribución t-Student ($p < 0.05$). Para la elección del método de extracción de antocianinas se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) seguida del Test de Tukey ($p < 0.05$). Además, se calcularon las correlaciones lineales de Pearson ($p < 0.05$) utilizando el software estadístico Statgraphics Centurion XVI versión 16.2.04 (StatPoint Technologies Inc., Warrenton, VA, Estados Unidos) ⁽⁷⁰⁾.



CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis de humedad

En la tabla 3.1 se presenta el contenido de humedad de las muestras de marlo y grano de maíz morado. Para definir a un grano como grano seco, el valor de humedad se debe encontrar por debajo del límite (15%). Por lo tanto, ambos tipos de muestras presentan una humedad adecuada que permitirá una mayor estabilidad y vida útil en su almacenamiento. Se realizó el análisis de humedad para expresar todos los resultados de los diferentes análisis en base seca⁽⁴⁾⁽⁷¹⁾.

Tabla 3.1 Contenido de humedad de muestras de marlo y grano por zona geográfica

ZONA	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)	
	MARLO	GRANO
Iray	7.42 ± 1.22	10.54 ± 1.39
Chuquibamba	5.85 ± 0.50	9.26 ± 0.65
Corire*	5.88 ± 1.03	10.73 ± 0.35

*La zona de Corire se ha incluido solo con fines comparativos

Fuente: Elaboración propia

3.2. Características físicas de las muestras de mazorca, marlo y granos del maíz morado procedente de dos zonas geográficas

Las mazorcas secas de las zonas de Iray y Chuquibamba, se compararon según sus caracteres físicos, también se evaluaron los marlos y granos. Los resultados de las evaluaciones para mazorcas, marlos y granos se presentan en la tabla 3.2, donde en general no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$). Quispe *et al* en su evaluación de tres cultivares de maíz morado, utilizando la misma variedad, morado canteño, obtuvo valores (peso de marlo, longitud de mazorca, y diámetro de marlo) similares a los obtenidos en la presente investigación. Sin embargo en otras investigaciones utilizando la misma variedad, se obtuvieron valores más altos, (peso y diámetro de mazorca) tal es el caso de Cabrera⁽⁷³⁾, y Rojas⁽⁷⁴⁾, las diferencias encontradas pueden deberse a otros factores además de la variedad, ya que las investigaciones de los últimos autores fueron realizadas en Lima y Lambayeque respectivamente, por el contrario Quispe *et al* realizó su investigación en el departamento de Arequipa en el distrito de la Joya⁽⁷²⁾.

Tabla 3.2 Características físicas de las muestras de mazorca, marlo y grano de maíz morado por zona geográfica

MUESTRAS	CARACTERISTICAS	LOCALIDAD		
		IRAY	CHUQUIBAMBA	CORIRE*
MAZORCA	Longitud (cm)	14.13 ± 1.04 ^a	14.19 ± 0.49 ^a	13.44 ± 0.63
	Diámetro (cm)	4.36 ± 0.23 ^a	3.91 ± 0.15 ^b	4.50 ± 0.08
	Peso (g)	124.72 ± 14.28 ^a	84.99 ± 9.21 ^b	117.30 ± 10.01
	Número de hileras	10.87 ± 0.42 ^a	10.27 ± 0.23 ^a	10.25 ± 0.50
	Número de granos por hilera	24.76 ± 0.47 ^a	24.91 ± 1.54 ^a	23.25 ± 0.96
	Porcentaje de grano (%)	75.67 ± 3.79 ^a	78.33 ± 1.53 ^a	84.00 ± 3.16
	Peso total de granos por mazorca (g)	92.21 ± 6.98 ^a	67.18 ± 7.35 ^b	98.69 ± 9.59
MARLO	Diámetro (cm)	2.39 ± 0.16 ^a	2.45 ± 0.06 ^a	2.39 ± 0.07
	Peso (g)	16.15 ± 0.49 ^a	17.73 ± 2.51 ^a	18.61 ± 3.51
GRANO	Peso de 100 granos (g)	42.69 ± 4.72 ^a	28.69 ± 4.84 ^b	43.97 ± 3.35
	Longitud (cm)	1.17 ± 0.09 ^a	1.05 ± 0.07 ^a	1.14 ± 0.04
	Ancho (cm)	1.03 ± 0.08 ^a	0.94 ± 0.05 ^a	1.10 ± 0.03

Fuente: Elaboración propia

Letras diferentes dentro de la misma fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). *La zona de Corire se ha incluido solo con fines comparativos.

En el caso de los caracteres correspondientes al diámetro de mazorca, peso total de mazorca, peso de los granos por mazorca y peso de 100 granos, los valores fueron mayores en las muestras de Iray respecto a los procedentes de Chuquibamba ($p < 0.05$). Es importante destacar los resultados del peso total de granos por mazorca y peso de 100 granos, ya que estas características se encuentran relacionadas con un mayor rendimiento por hectárea de cultivo. Por lo anterior se puede inferir que Iray tuvo un mayor rendimiento en el cultivo frente al maíz morado de Chuquibamba. Diferentes estudios indican que los factores climáticos tales como la altitud, la temperatura, la radiación solar, etc. pueden influir en la producción y calidad del cultivo. Se debe considerar que Chuquibamba presenta una mayor altitud frente a Iray (Tabla 3) por lo mismo las temperaturas mínimas y máximas son más bajas que a una menor altitud, esto podría influir en el rendimiento del maíz morado en la localidad ⁽⁷⁵⁾ ⁽⁷⁶⁾.

La zona de Corire en comparación con las otras dos zonas presentó mayores valores de peso total de grano por mazorca y peso de 100 granos, este resultado es similar con los datos del Ministerio de Agricultura y Riego ya que a nivel regional la localidad con mayor producción de maíz morado en Arequipa es precisamente Corire. El rendimiento en el cultivo de maíz morado por lo tanto sería más alto en localidades a menor altura como Corire, aunque comparable por lo observado con Iray⁽¹⁶⁾.

La caracterización objetiva de los parámetros físicos de las mazorcas, marlos y granos de maíz podría permitir explorar posibles correlaciones con su composición en compuestos fenólicos como se presentará más adelante. En una entrevista a los mayoristas se reveló que algunos parámetros físicos se asocian generalmente a la calidad del maíz morado como: el tamaño de la mazorca y un color morado oscuro e intenso, ambas características aportan un mayor valor al cultivo en el mercado ⁽⁷⁶⁾. Sin embargo, el análisis químico de los contenidos de polifenoles resulta también importante para poder determinar diferentes aplicaciones industriales del maíz morado.

3.3. Análisis químico proximal de los granos del maíz morado procedente de dos zonas geográficas

La composición químico proximal se realizó solamente a los granos de maíz morado de las dos zonas geográficas seleccionadas (Iray y Chuquibamba) por tratarse de las partes potencialmente comestibles de la mazorca de maíz. Los resultados se muestran en la tabla 3.3. Adicionalmente se incluyeron los resultados de la zona de Corire para efectos comparativos.

Los contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos totales fueron similares en los granos de las zonas de Iray y Chuquibamba ($p < 0.05$), sin embargo, los valores de cenizas y fibra cruda fueron mayores en los granos de maíz morado cultivado en Chuquibamba ($p < 0.05$). Estos compuestos también fueron más bajos en los granos del maíz procedente de Corire.

El contenido de cenizas en los granos, indica la presencia de iones metálicos en el alimento, esta variación de minerales contenidos en los granos de maíz podría estar relacionado con el tipo de suelo donde se realizó el cultivo, el tipo de fertilizantes empleados, la composición del agua de riego y las condiciones ambientales⁽⁷⁷⁾. El maíz de Iray y Chuquibamba fueron fertilizados con compost, existe la probabilidad que la composición de agua y de suelo podrían haber influido en las diferencias observadas (Anexo 2). La zona de Chuquibamba al encontrarse más cercana a las montañas de los Andes puede tener una composición en suelo y agua con mayor contenido de minerales, pero no se analizaron estas variables en el presente estudio.

Tabla 3.3 Resultados del análisis químico proximal en base húmeda de muestras de grano de maíz morado por zona geográfica

CONTENIDO (%)	LOCALIDAD		
	Iray*	Chuquibamba*	Corire**
LÍPIDOS	4.56 ± 0.58 ^a	4.13 ± 0.42 ^a	4.52 ± 0.23
CENIZAS	1.44 ± 0.11 ^b	1.78 ± 0.08 ^a	1.68 ± 0.06
PROTEÍNAS TOTALES	8.20 ± 0.43 ^a	8.87 ± 0.76 ^a	8.21 ± 0.35
FIBRA CRUDA	1.51 ± 0.63 ^b	2.61 ± 0.16 ^a	0.93 ± 0.16
CHOS***	75.26 ± 1.93 ^a	75.96 ± 1.44 ^a	74.86 ± 0.59

*n=3, **n=4, ***Calculado por diferencia. Letras diferentes dentro de la misma fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). La zona de Corire se ha incluido solo con fines comparativos.

Fuente: Elaboración propia

Algunos estudios demuestran que la composición, calidad y rendimiento de grano de maíz se ven influenciados por el tipo de fertilizante usado en el cultivo. Una investigación reveló que el rendimiento de grano de maíz y sus componentes se ven afectados positivamente por la utilización de fertilizantes biológicos, como el estiércol de pollo y una aplicación combinada con bacterias fijadoras de nitrógeno y úrea, obteniendo un alto contenido de fibra cruda ⁽⁷⁸⁾. Además, en un estudio se encontró una relación entre la calidad de grano de trigo y el sistema de cultivo empleado (convencional y orgánico). Los resultados mostraron que el sistema de cultivo afectó el rendimiento y los parámetros químicos como el contenido de polifenoles totales, contenido de cenizas y algunos minerales (sodio, potasio y fierro), mucho más que el factor genético ⁽⁷⁹⁾.

Es evidente que las condiciones ambientales, tipo de cultivo, y fertilizantes usados desempeñan un claro impacto en la calidad y rendimiento de los granos de maíz morado evaluados en esta investigación, sin embargo, es importante realizar más análisis sobre ello debido a que en el presente estudio se consideró solo una temporada de cultivo y cosecha de las zonas estudiadas.

En cuanto a la composición de los metabolitos primarios del maíz morado respecto a otros granos, los contenidos de proteínas y de lípidos cuantificados en el estudio actual son mayores que los presentados en otros granos como el arroz y cebada y comparables con los contenidos reportados para el sorgo y trigo, dependiendo de la variedad⁽⁸⁰⁾. Estos datos contribuyen a generar nuevos estudios acerca de la incorporación del maíz morado como un cereal energético alternativo con la ventaja de sus altos contenidos de polifenoles como será presentado a continuación.

3.4. Contenido de compuestos fenólicos totales y antocianinas totales en el maíz morado procedente de dos zonas geográficas

Como se presentó en el capítulo I, los compuestos fenólicos en los cereales como el maíz se encuentran en forma libre y ligada a la fibra dietética, por lo que en este estudio se cuantificaron los compuestos fenólicos en las fracciones fenólicas libre y ligada del grano y marlo de maíz morado procedente de las zonas de Iray y Chuquibamba. La caracterización del contenido de los fenólicos en ambas fracciones es importante pues presentan diferentes propiedades funcionales relacionadas con la salud humana.

El contenido de fenólicos determinados en la fracción libre y ligada de las muestras de marlo y grano, así como el contenido total de fenólicos (libre + ligada) se presenta en la tabla 3.4.



Tabla 3.4 Contenido de fenólicos totales (mg EAG/100g bs) y antocianinas totales (mg C3G/100g bs) en muestras de marlo y grano de maíz morado

MUESTRA	COMPUESTO	FRACCIÓN	LOCALIDAD		
			Iray*	Chuquibamba*	Corire**
MARLO	FENÓLICOS TOTALES (mg EAG/100g bs)	<i>libre</i>	2961.94 ± 1107.98 ^a	4424.82 ± 426.76 ^a	1967.50 ± 753.51
		<i>ligada</i>	880.29 ± 50.31 ^a	693.67 ± 31.89 ^b	809.20 ± 44.61
		<i>total</i>	3842.22 ± 1089.62 ^a	5118.00 ± 428.10 ^a	2776.69 ± 794.73
	ANTOCIANINAS TOTALES (mg C3G/100g bs)		1935.31 ± 692.42 ^a	2894.49 ± 350.27 ^a	2724.33 ± 319.07
GRANO	FENÓLICOS TOTALES (mg EAG/100g bs)	<i>libre</i>	585.54 ± 34.68 ^b	888.90 ± 84.14 ^a	760.39 ± 242.39
		<i>ligada</i>	166.37 ± 33.89 ^a	200.56 ± 8.58 ^a	190.59 ± 25.53
		<i>total</i>	751.90 ± 30.51 ^b	1089.46 ± 92.06 ^a	950.98 ± 263.02
	ANTOCIANINAS TOTALES (mg C3G/100g bs)		327.88 ± 52.61 ^a	414.72 ± 59.45 ^a	503.95 ± 143.59

*n=3, **n=4. Letras diferentes dentro de la misma fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). La zona de Corire se ha incluido solo con fines comparativos.

Fuente: Elaboración propia

En los contenidos de fenólicos de ambas fracciones (libre y ligada) se observó una alta variabilidad y, por consiguiente, el contenido de fenólicos totales (libre + ligada) por localidad. La fracción libre presentó un mayor valor en el contenido de fenólicos en las muestras de marlo y grano de ambas zonas respecto a la fracción ligada.

Diferentes estudios han demostrado que la fracción libre contiene un mayor porcentaje de contenido fenólico respecto al contenido de fenólicos totales en granos de maíz morado. Una investigación reportó un 54.54 % en su fracción libre de una accesión (AREQ-084) proveniente de la región de Arequipa, y se concluyó que el contenido fenólico de la fracción libre estuvo asociado principalmente al contenido de antocianinas ⁽⁷⁰⁾. En otro estudio se observó que los granos de maíz de coloración morada presentaron un mayor contenido fenólico en la fracción libre, con casi un 70% frente al contenido de fenólicos totales, y asoció el resultado principalmente a las antocianinas ⁽⁸¹⁾.

La mayor concentración de contenido de fenólicos y antocianinas totales se encontró en las muestras de marlo de maíz morado de ambas zonas, demostrando un mayor porcentaje de compuestos fenólicos en el marlo, que en el grano. Khampsan *et al.* evaluaron diferentes partes del maíz morado siendo mayor el contenido de antocianinas y fenólicos en el marlo, seguido del grano, cáscara y pelos de la mazorca ⁽⁸²⁾. Por otro lado, Harakotr *et al.* realizaron un análisis genético del contenido de antocianinas, el contenido de fenólicos totales, y el contenido de antocianinas monoméricas en marlo y en grano, encontrando que el contenido de cianidina-3-glucosido fue superior en el marlo, además de presentar un mayor contenido de fenólicos totales y antocianinas monoméricas que el grano ⁽⁸³⁾. En otra investigación se ha reportado la influencia de la etapa de madurez en el contenido de fenólicos, flavonoides y antocianinas totales en marlo y grano de maíz morado, concluyendo que en la etapa madura de la variedad KND, el marlo tiene un mayor contenido de antocianinas, flavonoides y fenólicos totales en comparación con el grano ⁽⁸⁴⁾.

La zona de cultivo tuvo un efecto importante en el contenido de fenólicos y antocianinas totales en las muestras de maíz morado. De acuerdo a la tabla 3.4, el contenido de los compuestos fenólicos totales (libre + ligada) fue mayor en el marlo de maíz morado de la zona de Chuquibamba; aunque, el análisis estadístico no reveló diferencia significativa ($p > 0.05$) por efecto de la zona de cultivo. (Anexo 11). En el caso del grano, las muestras procedentes de Chuquibamba presentaron mayores

valores de fenólicos totales y fenólicos libres que las muestras de Iray ($p < 0.05$) (Anexo 12). Los contenidos fenólicos de las fracciones ligadas fueron similares en las muestras de grano de ambas zonas, pero hubo diferencia significativa por efecto de la zona de cultivo en el caso del marlo, siendo las muestras de Iray las que presentaron los mayores valores.

En relación al contenido de antocianinas totales de marlo y grano, a pesar de que se obtuvo un mayor valor en la zona de Chuquibamba en ambas partes de la mazorca de maíz morado; el análisis estadístico no reveló diferencia significativa ($p > 0.05$) por efecto de la zona de cultivo (Anexo 10). Esto pudo deberse a la alta variabilidad observada en las réplicas biológicas procedentes de cada zona.

Se calcularon los coeficientes de Pearson para evaluar potenciales correlaciones entre el contenido de antocianinas totales y el contenido de fenólicos en la fracción libre, ligada y total en las muestras de marlo y grano. Se encontró una correlación positiva significativa entre el contenido de antocianinas y el contenido de fenólicos en la fracción libre ($r = 0.9888$, $p < 0.05$) en las muestras de marlo, lo cual indicaría que en estas muestras los fenólicos libres serían principalmente antocianinas. Asimismo, se observó también una correlación positiva significativa entre este parámetro y el contenido de fenólicos totales (libre + ligada) en las muestras de marlo ($r = 0.9877$, $p < 0.05$) lo que indica que el contenido total de fenólicos totales en las muestras de marlo de maíz morado serían principalmente antocianinas. En el caso de las muestras de grano no se encontró ninguna correlación positiva entre el contenido de antocianinas totales y el contenido de fenólicos totales (libre + ligada) (Anexo 15 y 16).

De acuerdo a los resultados de esta investigación, los contenidos de fenólicos y antocianinas totales en general fueron mayores en las muestras de maíz morado de la localidad de Chuquibamba. Esto podría deberse a diferentes factores, en esta zona las condiciones geográficas y climáticas son diferentes en comparación con Iray. La altitud en Chuquibamba es mayor (2808 msnm) que en la zona de Iray (2099 msnm) lo que implicaría una mayor exposición a la radiación UV en los cultivos de la localidad. La radiación UV se incrementa con la altitud, la explicación de este fenómeno es que la capa atmosférica en la altura es más delgada, por lo que la distancia de recorrido por los rayos UV es más corta ⁽⁸⁵⁾. Aunque no se pudieron registrar las condiciones climáticas de Iray (Anexo 3) se observó *in situ* una

diferencia con respecto a las condiciones climáticas, también se observó diferencia con respecto a la sensación térmica (menor en esta zona) comparada con la zona de Chuquibamba. Las condiciones de la composición del suelo y el tipo de agua de riego podrían también contribuir a estas diferencias. Las condiciones medioambientales como la temperatura mínima en temporada seca, pueden afectar el contenido de fenólicos totales, antocianinas totales y actividad antioxidante en muestras de maíz morado aumentando los valores de estos compuestos ⁽⁸⁶⁾. Otra investigación reveló que el cultivo de maíz morado a temperaturas bajas se asocia con una mayor acumulación de antocianinas y actividad antioxidante, concluyendo que a temperaturas mínimas y radiación UV promueven una mayor biosíntesis de antocianinas; destacando de esta manera la importancia de la radiación solar en los cultivos de maíz morado ⁽⁸⁷⁾. Una alta radiación solar y bajas temperaturas son factores de estrés que estarían induciendo a la biosíntesis de antocianinas y la acumulación de compuestos fenólicos en la mazorca de maíz morado y sus componentes, como el marlo y la cáscara ⁽⁸⁸⁾.

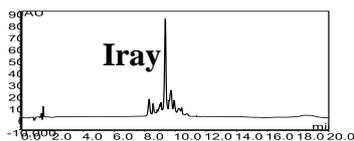
Diferentes investigaciones reportan mayores valores de fenólicos totales y antocianinas totales en el marlo de maíz morado. Este estudio comprobó los mismos resultados, sin embargo, los valores encontrados en esta investigación fueron superiores a los reportados por otros investigadores. Un trabajo realizó pruebas con marlos molidos de maíz morado provenientes de Lima, Perú, y obtuvo 4980 mg/100g bs y 1430 mg/100g bs de contenido de fenólicos totales y antocianinas totales respectivamente ⁽⁶⁵⁾. Otra investigación reveló que las cáscaras y el marlo de maíz morado provenientes de Tailandia, son fuentes altas de compuestos fenólicos, obteniendo valores de 2022.1 mg/100g bs y 2277.4 mg/100g bs de antocianinas totales y fenólicos totales respectivamente ⁽⁸²⁾. En otro trabajo se observaron diferencias con respecto al contenido de antocianinas según las partes de la mazorca de maíz morado y su estado de madurez, siendo mayor el contenido en marlo frente a las cáscaras, los pelos y los granos; y en la etapa de mayor madurez reportando un valor de 254 mg/100g bs ⁽⁸⁸⁾.

Con respecto a los valores de fenólicos totales y antocianinas totales determinados en las muestras de grano, los valores obtenidos en el presente estudio son más altos que los reportados por otras investigaciones que también aplicaron metodologías similares para la extracción y cuantificación de compuestos. Ranilla *et al* analizaron

granos de maíz morado peruano (AREQ-084) reportando valores de 454.45 mg/100g bs y 310.04 mg/100g bs de fenólicos totales y antocianinas totales respectivamente⁽⁷⁰⁾. En otro estudio, se reportó que los granos de maíz de color oscuro (negrito chileno) presentaron un valor de 204.5 mg/100g bs en compuestos fenólicos totales⁽⁶²⁾. Cuevas *et al* analizaron maíz morado de Bolivia donde también se cultiva la raza *Kculli* reportando valores de 611.7 mg/100g bs y 71.68 mg/100g bs de contenido de fenólicos totales y antocianinas totales respectivamente⁽⁴⁵⁾. Por otro lado, Urias *et al*⁽⁸⁹⁾, y Lopez *et al*⁽⁴²⁾, reportaron mayores valores de fenólicos totales (1331.3 mg/100g bs y 3400 mg/100g bs, respectivamente) en granos de maíz morado de México, así como también un mayor contenido de antocianinas (850 mg/100g bs). La diferencia en la variedad utilizada (factor genético) y el origen geográfico de las muestras, pueden desembocar en estas diferencias, sin embargo, también pueden estar relacionadas con diferencias en las condiciones agroclimáticas de cultivo, las condiciones de cultivo y tratamiento post- cosecha aplicadas en cada caso. Existen estudios que demuestran una influencia relativa del genotipo y las condiciones ambientales sobre las propiedades antioxidantes que son dadas por los compuestos fenólicos de los cultivos^{(90) (91)}.

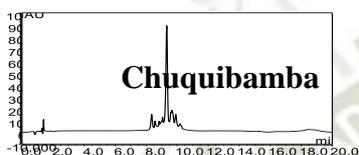
3.5. Perfil de compuestos fenólicos determinado por UHPLC-DAD

En las figuras 3.1 y 3.2, se muestran los cromatogramas típicos obtenidos por UHPLC-DAD en las fracciones fenólicas libres y ligadas, respectivamente, de las muestras de grano de maíz morado procedente de las dos zonas evaluadas (Iray y Chuquibamba), adicionalmente se incluyó la zona de Corire para efectos comparativos. En las tablas 3.5 y 3.6, se presentan las características de los espectros de absorción de cada pico detectado (tiempos de retención y longitud de onda de máxima absorción) en las fracciones fenólicas libre y ligada, respectivamente, de las muestras de grano de maíz morado. Esta información permitió identificar el tipo de compuesto fenólico presente en cada muestra.



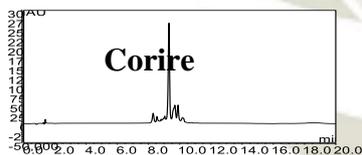
3

1 2 4 5 6



3

1 2 4 5 6



3

1 2 4 5 6

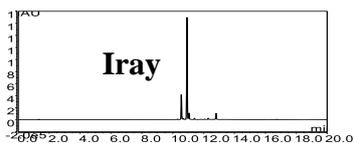
Figura 3.1 Perfil cromatográfico a 525nm de la fracción fenólica libre (extractos de antocianinas) del grano de maíz morado procedente de dos zonas geográficas de la región Arequipa . La zona de Corire se incluyó con fines comparativos.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.5 Tiempos de retención y longitud de onda de máxima absorción de los picos de antocianinas detectados a 525 nm en la fracción fenólica libre (Figura 2.4) en el grano de maíz morado.

Muestra	Nº pico	Tiempo de retención (min)	$\lambda_{max}(nm)$
IRAY	1	8.2920	284.59 ; 532.85
	2	8.5520	283.14 ; 523.25
	3	9.3480	280.46 ; 515.85
	4	9.6580	281.51 ; 516.50
	5	9.7250	279.40 ; 517.86
	6	9.9300	281.42 ; 519.37
CHUQUIBAMBA	1	8.3580	284.20 ; 529.86
	2	8.5730	282.81 ; 522.58
	3	9.3300	280.67 ; 515.79
	4	9.7230	279.07 ; 517.56
	5	9.9150	281.47 ; 518.84
	6	10.2870	281.72 ; 517.99
CORIRE	1	8.2980	284.52 ; 533.55
	2	8.5400	283.03 ; 522.60
	3	9.3120	280.35 ; 516.01
	4	9.5580	280.35 ; 507.87
	5	9.6880	279.62 ; 516.87
	6	9.8920	280.81 ; 517.93

Fuente: Elaboración propia



2

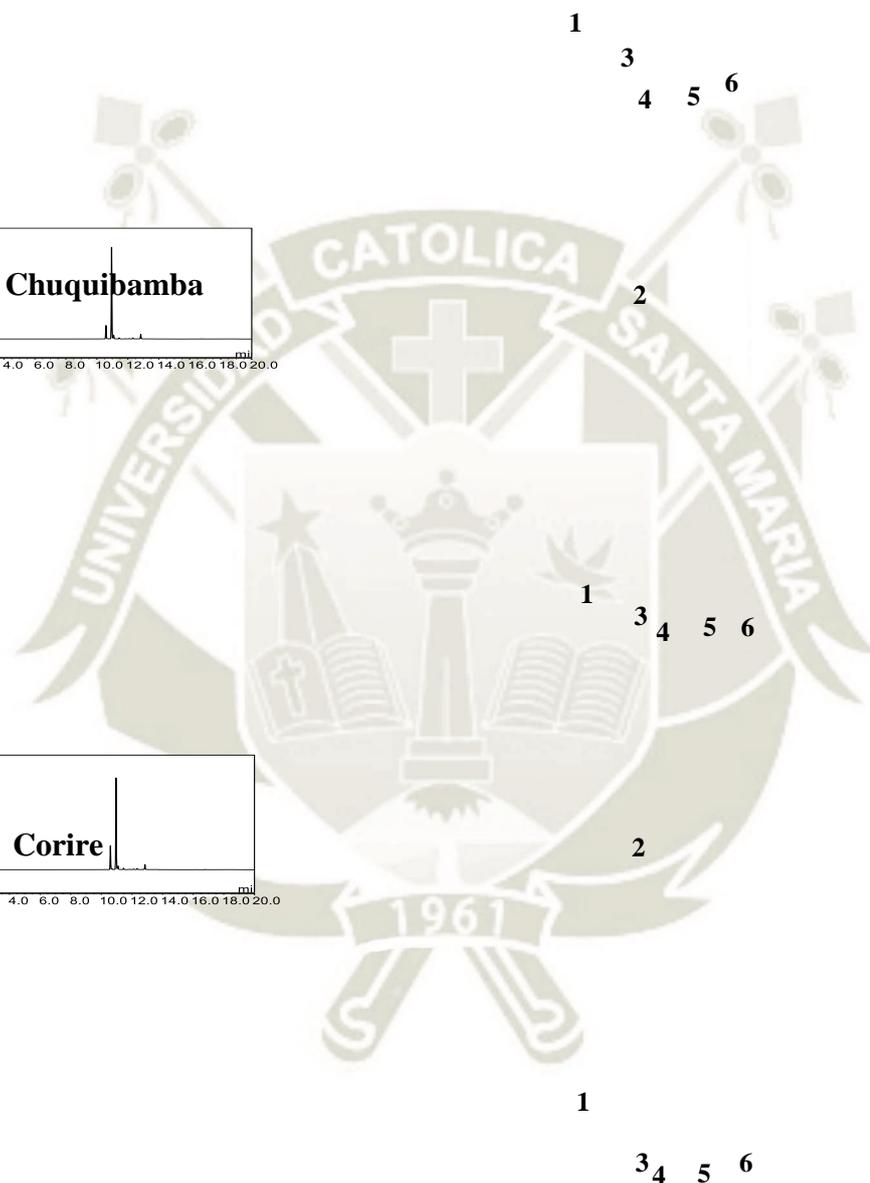
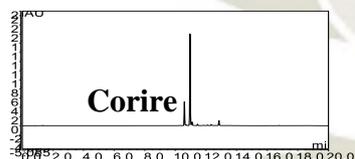
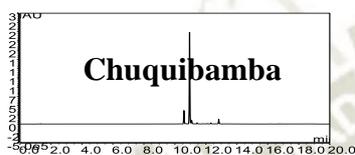


Figura 3.2 Perfil cromatográfico a 320nm de la fracción fenólica ligada del grano de maíz morado procedente de dos zonas geográficas de la región Arequipa.

La zona de Corire se incluyó con fines comparativos.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.6 Tiempos de retención, longitud de onda de máxima absorción e identificación de los picos detectados en la fracción fenólica ligada (Figura 3.1) en el grano de maíz morado.

Muestra	Nº pico	Tiempo de retención (min)	λ_{\max} (nm)	Compuesto identificado
IRAY	1	10.560	309.72	ácido <i>p</i> -cumárico
	2	10.923	323.18	ácido ferúlico
	3	11.058	317.43	derivado de ácido ferúlico
	4	11.412	323.29	derivado de ácido ferúlico
	5	12.297	323.89	derivado de ácido ferúlico
	6	12.805	325.05	derivado de ácido ferúlico
CHUQUIBAMBA	1	10.587	309.70	ácido <i>p</i> -cumárico
	2	10.952	322.84	ácido ferúlico
	3	11.088	317.56	derivado de ácido ferúlico
	4	11.442	323.61	derivado de ácido ferúlico
	5	12.327	323.92	derivado de ácido ferúlico
	6	12.835	324.96	derivado de ácido ferúlico
CORIRE	1	10.592	309.76	ácido <i>p</i> -cumárico
	2	10.957	323.13	ácido ferúlico
	3	11.095	317.81	derivado de ácido ferúlico
	4	11.448	323.46	derivado de ácido ferúlico
	5	12.338	324.05	derivado de ácido ferúlico
	6	12.848	324.93	derivado de ácido ferúlico

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo a la figura 3.1, los perfiles cromatográficos de la fracción fenólica libre del grano fueron relativamente similares en las tres zonas de cultivo (Iray, Chuquibamba y Corire), presentando varios picos especialmente entre los tiempos de retención de 8.2 a 10.2 minutos. De acuerdo a la información presentada en la tabla 3.5, los picos detectados corresponden a antocianinas debido a que sus espectros de absorción presentaron longitudes de máxima absorción que variaron entre 280 – 284 nm y 515 – 533 nm.

En el caso de la fracción fenólica ligada del grano (figura 3.2), los perfiles cromatográficos fueron similares entre las tres zonas de cultivo, detectándose principalmente ácidos fenólicos del tipo hidroxicinámico como el ácido *p*-cumárico y ácido ferúlico, aunque también se detectaron otros ácidos fenólicos (a un tiempo de retención promedio entre 11.088 a 12.848 min) los cuales se identificaron como

derivados de ácido ferúlico por las similitudes de sus espectros de absorción ($\lambda_{\text{máx}}$ 322.5 nm) con la del estándar puro ($\lambda_{\text{máx}}$ 323.1 nm) (Tabla 3.6)

En la tabla 3.7, se muestran los contenidos de los compuestos fenólicos detectados por UHPLC-DAD en las muestras de grano de maíz morado de las dos localidades evaluadas, incluyendo la zona de Corire para efectos comparativos. Se puede observar que los compuestos fenólicos mayoritarios en la fracción libre fueron los flavonoides como las antocianinas (53.50 a 106.03 mg/100g bs) seguido de los derivados de quercetina (1.75 a 3.89 mg/100g bs). El ácido ferúlico fue el ácido fenólico más abundante encontrado en la fracción ligada (107.76 a 153.38mg/100 g bs) seguido por el ácido *p*-cumárico (19.51 a 23.37 mg/100 g bs) y los derivados del ácido ferúlico (15.53 a 19.45 mg/100 g bs).

Según el análisis estadístico, no hubo diferencia significativa en el contenido de flavonoides de la fracción fenólica libre del grano (antocianinas y derivados de quercetina) en relación a la zona geográfica de cultivo (Chuquibamba e Iray). Con respecto a la fracción fenólica ligada, el grano de maíz morado procedente de Chuquibamba presentó un mayor contenido de ácido ferúlico en comparación al grano de maíz procedente de Iray ($p < 0.05$). Asimismo, el grano de Chuquibamba presentó los mayores contenidos de compuestos fenólicos totales (libre + ligada) que el de Iray ($p < 0.05$). En cuanto a las muestras de Corire, el grano de maíz de esta zona presentó un mayor contenido de flavonoides que las muestras de Iray y Chuquibamba; sin embargo, el contenido de ácidos fenólicos totales fue el más bajo que el detectado en las zonas geográficas evaluadas. Estos valores pueden deberse a diferencias en las variedades cultivadas en Corire, las cuales no pudieron identificarse exactamente.

Tabla 3.7 Contenido de compuestos fenólicos detectados por UHPLC-DAD (mg/100 g bs) en el grano de maíz morado de dos zonas geográficas de la región de Arequipa

COMPUESTO	LOCALIDAD		
	IRAY	CHUQUIBAMBA	CORIRE*
Fracción fenólica ligada			
Ácido <i>p</i> -cumárico	23.37 ± 5.66 ^a	19.51 ± 1.00 ^a	20.64 ± 6.75
Ácido ferúlico	107.76 ± 21.18 ^b	153.38 ± 9.12 ^a	108.93 ± 18.62
Derivados de ácido ferúlico ¹	17.41 ± 2.44 ^a	19.45 ± 1.66 ^a	15.53 ± 1.75
Total de ácidos fenólicos	148.54 ± 29.26^a	192.34 ± 9.92^a	145.10 ± 25.63
Fracción fenólica libre			
Antocianinas totales ²	53.50 ± 5.82 ^a	64.41 ± 10.98 ^a	106.03 ± 33.05
Derivados de quercetina ³	1.75 ± 1.58 ^a	3.89 ± 1.34 ^a	3.30 ± 2.54
Total flavonoides	55.25 ± 6.78^a	68.30 ± 12.28^a	109.33 ± 34.83
CONTENIDO FENÓLICO TOTAL	203.79 ± 29.48^b	260.64 ± 6.56^a	254.43 ± 51.31

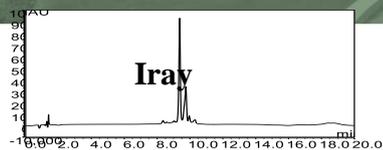
¹: Expresado como ácido ferúlico, ²: Expresado como cloruro de cianidina, ³: Expresado como quercetina aglicona. Diferentes letras en las dos zonas geográficas (Iray y Chuquibamba) indican diferencia significativa (p<0.05). *La zona de Corire se incluyó con fines comparativos

Fuente: Elaboración propia

En las figuras 3.3 y 3.4, se presentan los perfiles cromatográficos determinados por UHPLC-DAD en las fracciones fenólicas libres y ligadas, respectivamente de las muestras de marlo de maíz morado cultivado en las zonas geográficas evaluadas (Iray y Chuquibamba). En las tablas 3.8 y 3.9 se muestran las características de los espectros de absorción de los picos detectados en las fracciones fenólicas libres y ligadas, respectivamente de las muestras de marlo de las dos zonas geográficas de estudio. Adicionalmente, se incluyó la información de las muestras procedentes de Corire con fines comparativos.

Los perfiles cromatográficos de la fracción fenólica libre del marlo fueron relativamente similares en las tres zonas de cultivo (Iray, Chuquibamba y Corire), detectándose cinco picos a 525 nm especialmente entre los tiempos de retención de 8.4 a 9.9 minutos. De acuerdo a las características de sus espectros de absorción, estos compuestos corresponden a antocianinas (tabla 3.8). En el caso de la fracción ligada, los cromatogramas también fueron similares entre las tres zonas de cultivo, detectándose principalmente ácidos fenólicos del tipo hidroxicinámico como el ácido *p*-cumárico y ácido ferúlico (figura 3.4). También se detectaron dos picos pequeños (a un tiempo de retención promedio de 11.037 a 11.073 min, 10.67 a 10.71 min) los cuales fueron identificados como derivados de ácido ferúlico y derivados de ácido *p*-cumárico, debido a la similitud de sus espectros de absorción con los de los estándares puros de ácido ferúlico y *p*-cumárico respectivamente (tabla 3.9).

En la Tabla 3.10 se muestran los contenidos de compuestos fenólicos detectados por UHPLC-DAD en las muestras de marlo de maíz morado de las dos zonas geográficas evaluadas, incluyendo la zona de Corire con fines comparativos. Los compuestos fenólicos mayoritarios en la fracción libre fueron los flavonoides como las antocianinas (466.40 a 982.89 mg/100g bs) seguida por los derivados de quercetina (25.30 a 177.16 mg/100g bs), mientras que el ácido *p*-cumárico (390.53 a 476.39 mg/100g bs) fue el ácido fenólico más abundante encontrado en la fracción ligada, seguido por el ácido ferúlico (230.73 a 379.83 mg/100g bs). Lo contrario fue observado en el grano del maíz morado, donde el ácido ferúlico fue el ácido fenólico mayoritario en la fracción fenólica ligada. El contenido de antocianinas en el marlo fue entre 9 a 15 veces más alto que el encontrado en el grano.



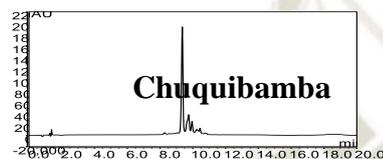
2

4

3

1

5



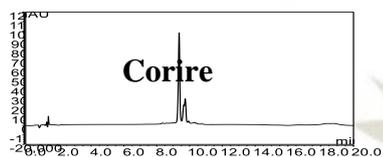
2

4

3

5

1



2

4

3

1

5

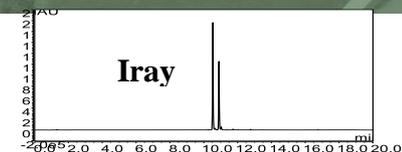
Figura 3.3 Perfil cromatográfico a 525nm de la fracción fenólica libre (extractos de antocianinas) del marlo de maíz morado procedente de dos zonas geográficas de la región de Arequipa. La zona de Corire se incluyó con fines comparativos

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.8 Tiempos de retención y longitud de onda de máxima absorción de los picos de antocianinas detectados a 525 nm en la fracción fenólica libre (figura 3.2) del marlo de maíz morado.

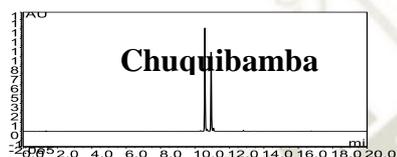
Muestra	Nº pico	Tiempo de retención (min)	λ_{\max} (nm)
IRAY	1	8.3620	285.06 ; 537.05
	2	9.3730	280.35 ; 515.64
	3	9.6370	278.83 ; 506.51
	4	9.7470	279.80 ; 516.31
	5	9.9570	281.29 ; 517.41
CHUQUIBAMBA	1	8.2830	286.64 ; 537.01
	2	9.3580	280.30 ; 515.99
	3	9.6270	279.01 ; 505.86
	4	9.7420	280.04 ; 517.20
	5	9.9520	281.44 ; 518.69
CORIRE	1	8.3630	287.42 ; 537.15
	2	9.3670	280.36 ; 515.96
	3	9.6480	278.76 ; 505.78
	4	9.7380	279.83 ; 517.05
	5	9.9450	283.13 ; 519.14

Fuente: Elaboración propia



1

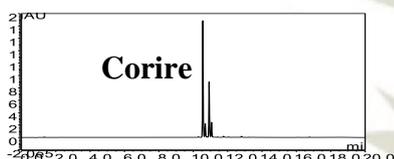
3



2 4

1

3



1

3

2 4

Figura 3.4 Perfil cromatográfico a 320nm de la fracción fenólica ligada del marlo de maíz morado procedente de dos zonas geográficas de la región Arequipa. La zona de Corire se incluyó con fines comparativos.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.9 Tiempos de retención, longitud de onda de máxima absorción e identificación de los picos detectados a 320nm en la fracción fenólica ligada (Figura 13) en el marlo de maíz morado

Muestra	N° pico	Tiempo de retención (min)	λ_{\max} (nm)	Compuesto identificado
IRAY	1	10.533	309.99	ácido <i>p</i> -cumárico
	2	10.673	300.90	derivado de ácido <i>p</i> -cumárico
	3	10.898	323.20	ácido ferúlico
	4	11.037	317.63	derivado de ácido ferúlico
CHUQUIBAMBA	1	10.572	309.95	ácido <i>p</i> -cumárico
	2	10.713	301.03	derivado de ácido <i>p</i> -cumárico
	3	10.937	323.18	ácido ferúlico
	4	11.073	317.68	derivado de ácido ferúlico
CORIRE	1	10.557	309.98	ácido <i>p</i> -cumárico
	2	10.698	299.56	derivado de ácido <i>p</i> -cumárico
	3	10.925	323.13	ácido ferúlico
	4	11.062	316.77	derivado de ácido ferúlico

Fuente: Elaboración propia

Según el análisis estadístico (anexo 14), la zona de cultivo tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) en los contenidos de antocianinas, los flavonoides totales, y fenólicos totales (libre + ligada), siendo las muestras del marlo de maíz morado de la zona de Chuquibamba las que presentaron los mayores valores comparados con las muestras de Iray. En el caso de la fracción fenólica ligada, el contenido total de ácidos fenólicos presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) por efecto de la zona de cultivo (Iray y Chuquibamba), siendo mayor el contenido de fenólicos totales en la zona de Iray.

En la tabla 3.11, se presentan los resultados de las correlaciones de Pearson entre las variables evaluadas en el grano y marlo del maíz morado. En el caso de las muestras de marlo, se encontró una correlación positiva significativa ($p < 0.05$) entre el contenido de fenólicos totales por UHPLC (libre + ligada) y el contenido de antocianinas, los derivados de quercetina y flavonoides. De la misma manera, se observó una correlación positiva significativa entre el contenido de antocianinas y el contenido de flavonoides y entre el contenido total de ácidos fenólicos en la fracción ligada y el contenido de ácido *p*-cumárico. Esto significa que, en las muestras de marlo, las antocianinas y los derivados de quercetina contribuyen de forma importante en los contenidos de compuestos fenólicos totales (libre + ligada), mientras que el ácido *p*-cumárico es el compuesto fenólico que contribuye significativamente en el total de ácido fenólicos asociados a la fibra dietética del marlo. Se observó una correlación negativa significativa

($p < 0.05$) entre el contenido total de ácidos fenólicos por UHPLC en la fracción ligada y el contenido de antocianinas, indicando que, a mayor contenido de antocianinas, menores contenidos de ácidos fenólicos. Posiblemente, la ruta metabólica relacionada a la biosíntesis de antocianinas es estimulada en el maíz morado cultivado a mayor altura por efecto de los diferentes factores de estrés como menor temperatura y mayor radiación UV, lo que estaría implicando una mayor conversión de los ácidos fenólicos (moléculas más simples) hacia la formación de antocianinas ⁽⁹²⁾.



Tabla 3.10 Contenido de compuestos fenólicos detectados por UHPLC-DAD (mg/100 g bs) en el marlo de maíz morado procedente de dos zonas geográficas de Arequipa

COMPUESTO	LOCALIDAD		
	IRAY	CHUQUIBAMBA	CORIRE*
Fracción fenólica ligada			
Ácido p-cumárico	476.39 ± 8.37 ^a	390.53 ± 65.07 ^a	399.22 ± 34.86
Derivados de ácido p- cumárico ¹	11.84 ± 1.33 ^a	11.61 ± 1.05 ^a	55.73 ± 1.53
Ácido ferúlico	379.83 ± 20.02 ^a	321.58 ± 42.72 ^a	230.73 ± 27.53
Derivados de ácido ferúlico ²	14.11 ± 2.97 ^a	13.06 ± 1.83 ^a	68.22 ± 3.90
Total de ácidos fenólicos	882.17 ± 15.43^a	736.78 ± 55.92^b	753.90 ± 63.75
Fracción fenólica libre			
Antocianinas totales ³	466.40 ± 126.64 ^b	982.89 ± 68.42 ^a	565.67 ± 58.29
Derivados de quercetina ⁴	25.30 ± 1.84 ^a	177.16 ± 108.61 ^a	ND
Total flavonoides	491.70 ± 127.31^b	1160.05 ± 41.22^a	565.67 ± 58.29
CONTENIDO FENÓLICO TOTAL	1373.87 ± 114.78^b	1896.83 ± 96.26^a	1319.57 ± 90.38

¹Expresado como ácido p-cumárico, ²: Expresado como ácido ferúlico, ³: Expresado como cloruro de cianidina, ⁴: Expresado como quercetina aglicona. ND: no detectado. Diferentes letras en las dos zonas geográficas indican diferencia significativa (p<0.05). *La zona de Corire se incluyó con fines comparativos.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.11 Coeficientes de correlaciones de Pearson (r) entre las variables evaluadas

Muestra	Variables	Coefficiente (r)*
Marlo	Antocianinas por UHPLC y contenido fenólico total por UHPLC (libre+ligada).	0.9394
	Flavonoides por UHPLC y contenido fenólico total por UHPLC (libre+ligada)	0.9903
	Antocianinas por UHPLC y flavonoides por UHPLC.	0.9755
	Total de ácidos fenólicos (ligada) por UHPLC y ácido <i>p</i> -cumárico ligado.	0.8724
	Derivados de quercetina y contenido fenólico total por UHPLC (libre+ligada)	0.8612
	Antocianinas por UHPLC y total de ácidos fenólicos por UHPLC (ligada)	- 0.9481
Grano	Ácido ferúlico y cenizas	0.8596
	Acido <i>p</i> -cumárico y fibra cruda	-0.8252
	Derivados de quercetina y antocianinas por UHPLC	0.8450
	Ácido ferúlico y contenido fenólico total por UHPLC (libre+ligada)	0.9641
	Total de ácidos fenólicos por UHPLC y contenido fenólico total por UHPLC	0.9564
	Ácido ferúlico y total de ácidos fenólicos por UHPLC	0.9869

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

Fuente: Elaboración propia

En las muestras de grano, se observó una correlación positiva significativa ($p < 0.05$) entre el contenido de fenólicos totales (libre + ligada) con el contenido total de ácidos fenólicos y el contenido de ácido ferúlico. Asimismo, existió una correlación significativa positiva entre el contenido de los derivados de quercetina y el de antocianinas. A diferencia de los observados en el marlo, los ácidos fenólicos principalmente el ácido ferúlico, estarían contribuyendo significativamente al total de compuestos fenólicos determinados por UHPLC en el grano de maíz morado. Estos resultados también indicarían que la composición en ácidos fenólicos de la fibra dietética presente en el marlo y el grano del maíz morado son diferentes. Adicionalmente, se observó una correlación positiva significativa entre el contenido de ácido ferúlico y el contenido de cenizas mientras que el contenido de ácido *p*-cumárico

y el contenido de fibra cruda presentaron una correlación negativa significativa ($p < 0.05$). La fibra dietética se compone de una diversidad de macromoléculas donde los ácidos fenólicos como el ácido ferúlico forman enlaces covalentes entre tales estructuras (arabinosilanos ferulados), incluyendo también algunos compuestos minerales ⁽⁹³⁾ ⁽⁹⁴⁾. La correlación inversa entre el ácido *p*-cumárico y el contenido de fibra cruda, podría deberse a diferencias en la composición química de las diferentes fracciones que componen la fibra dietética; sin embargo, son necesarios más estudios para dilucidar el porqué de esta relación ⁽⁹⁵⁾.

En la tabla 3.12, se presenta un resumen de las concentraciones de los compuestos fenólicos reportados por diferentes estudios en el maíz morado procedente del Perú y de otros orígenes.

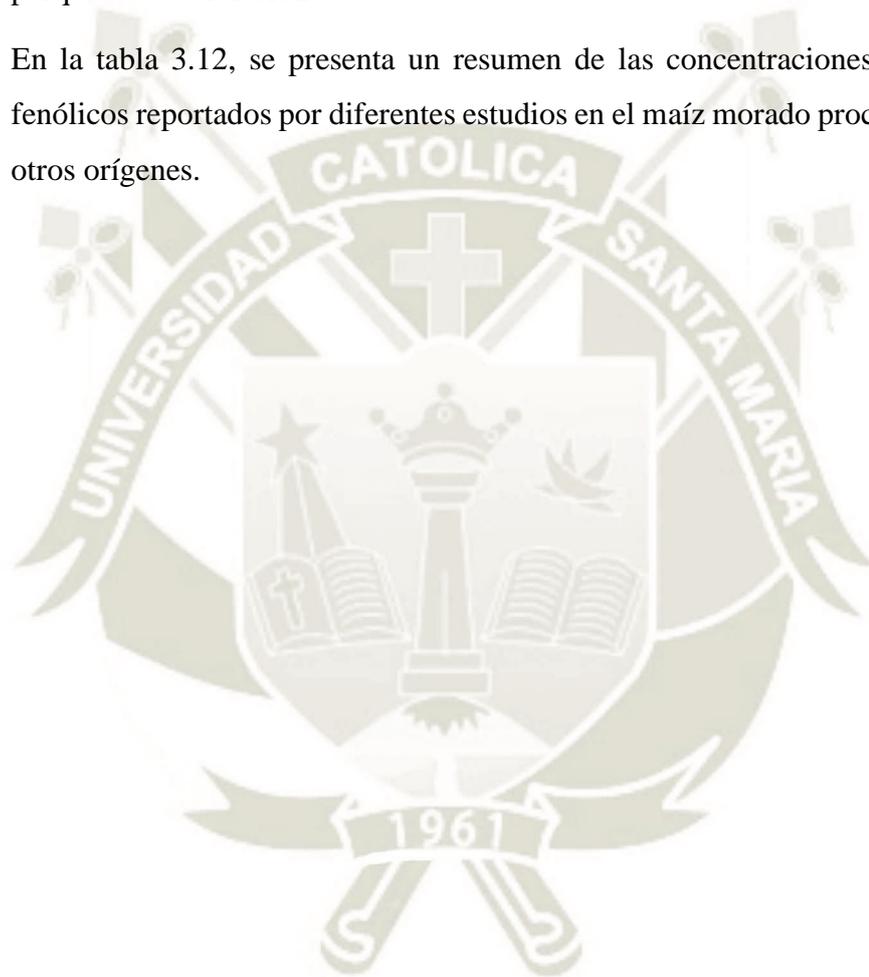


Tabla 3.12 Compuestos fenólicos (mg/100g bs) detectados por cromatografía líquida en el grano y marlo de maíz morado según diferentes estudios

ORIGEN	GRANO		AUTOR
	FRACCIÓN LIBRE	FRACCIÓN LIGADA	
Perú	--	ácido <i>p</i> -cumárico: 33.49 ácido ferúlico: 156.30	Ranilla L., Sarkar D., Shetty K., Chirinos R., y Campos D. ⁽⁷⁰⁾
Perú		ácido <i>p</i> -cumárico: 23.39-33.49 ácido ferúlico: 132.02-156.30	Ranilla L., Huamán C., Flores O., Shetty K., Chirinos R., y Campos D. ⁽⁸¹⁾
Bolivia	antocianinas: 71.68 ácido <i>p</i> -cumárico: 34.1 ácido ferúlico: 135.2	ácido <i>p</i> -cumárico: 107.0 ácido ferúlico: 19.0	Cuevas E., Hillebrand S., Antezana A., y Winterhalter P. ⁽⁴⁵⁾
México	antocianinas : 83.7	ácido ferúlico : 151 -152	Lopez L., Oliart R., Valerio G., Lee G., y García H. ⁽⁴²⁾
ORIGEN	MARLO		AUTOR
Tailandia	antocianinas: 119.14 ácido <i>p</i> -cumárico: 1.537 ácido ferúlico: 1.304		Kapcum C., y Uriyapongson J. ⁽⁹⁶⁾
Perú	cianidina-3-glucósido: 1850		Ccaccya, A. M., Soberón Lozano, M., y Arnao Salas, I. ⁽⁹⁷⁾
Canadá	antocianinas: 96.52		Abdel M., Young C., Rabalski I. ⁽⁹⁸⁾

Fuente: Elaboración propia

En el caso de los granos de maíz morado, los rangos de antocianinas obtenidos en otros estudios con maíz de Bolivia y México variaron entre 71.68 a 83.7 mg/100g bs, rango superior al obtenido en la actual investigación (53.5 – 64.4 mg/100g bs). Sin embargo, las concentraciones de los ácidos fenólicos como el ácido ferúlico (107.8 – 153.4 mg/100g bs) fueron comparables a los reportados por Ranilla *et al*⁽⁷⁰⁾. (132.02 – 156.30 mg/100g bs) y mayores a los publicados por Cuevas *et al*⁽⁴⁵⁾. (19 mg/100g bs) en granos de maíz morado de origen peruano y boliviano, respectivamente.

En el caso del marlo de maíz morado, muestras procedentes de Tailandia y Canadá, presentaron concentraciones mucho menores de antocianinas (96.52 – 119.14 mg/100g bs) que los obtenidos en el presente estudio (466.4 – 982.9 mg/100g bs). Sin embargo, un estudio realizado con muestras de marlo de maíz morado peruano de diferentes regiones determinó un valor superior de antocianinas (1850 mg/100g bs), reportando que las muestras procedentes de Lima presentaron los mayores valores respecto a otras zonas como Cajamarca y Abancay. La mayoría de estudios realizados en el marlo de maíz morado analizan la fracción fenólica libre con el fin de determinar el contenido y perfil de antocianinas, Sin embargo, según los resultados del presente estudio, el marlo también contiene otros compuestos fenólicos como ácido ferúlico, ácido *p*- cumárico y sus derivados, constituyendo una fuente importante de ácidos fenólicos que podrían ser utilizados en diferentes aplicaciones⁽⁹⁷⁾.

Diferentes factores como la procedencia, la variedad estudiada (factor genético), las condiciones agroclimáticas para el cultivo de maíz morado (tipo de suelo, riego, fertilización y diferencias en el clima), tratamientos post- cosecha e incluso diferencias en las metodologías analíticas podrían explicar las diferencias encontradas entre los valores de los compuestos fenólicos determinados en el presente estudio respecto a lo reportado por otros investigadores. En un estudio realizado en Arequipa se reportaron diferencias significativas en las características físicas, y en el contenido de compuestos fenólicos por efecto de la variedad del maíz morado, cuando se sembraron tres variedades diferentes en el mismo tipo de suelo y con el mismo tratamiento siendo la variedad modificada PM-581 la que obtuvo el mayor valor de fenólicos totales⁽⁷²⁾. En otro caso, se reportó que una mayor fertilización con nitrógeno permitió un aumento en el contenido total de ácidos fenólicos ligados y de los carotenoides en diferentes variedades de maíz, sin embargo, los contenidos de ácido ferúlico, *p*- cumárico y antocianinas no mostraron diferencias significativas por efecto de la tasa de fertilización con nitrógeno⁽⁹⁹⁾.

En el presente estudio, las muestras de maíz morado de la misma variedad comercial y procedentes de la zona de Chuquibamba e Iray fueron cultivadas de forma orgánica con similares procedimientos de riego y cultivo (Anexo 2). La composición del tipo de suelo y del agua utilizada en cada zona geográfica no fueron determinadas y podrían contribuir en las diferencias observadas. Sin embargo, la variación en los perfiles y contenidos de compuestos fenólicos en las muestras de maíz morado analizadas en el presente estudio podría estar principalmente relacionadas con las diferencias de las condiciones climáticas y de altitud de las zonas geográficas evaluadas. El maíz morado cultivado en la zona de Chuquibamba presentó los mayores valores de flavonoides (antocianinas y derivados de quercetina) en el marlo y de ácido ferúlico en el grano, además de presentar una mayor concentración de compuestos fenólicos totales (fracción libre + fracción ligada) en grano y marlo comparado con los valores encontrados en el maíz morado de la zona de Iray. La zona de Chuquibamba presenta rangos de temperaturas bajas (4.3 – 5.5°C) y está localizada a una mayor altitud que la zona de Iray. Una mayor altitud sobre el nivel del mar tiene una correlación positiva con una incidencia mayor de radiación solar. Estos factores de estrés climáticos estarían promoviendo una mayor biosíntesis de compuestos fenólicos como mecanismos de defensa de la planta ⁽¹⁰⁰⁾. Fisher y Ludders⁽⁷⁵⁾ han demostrado que una altitud aproximadamente entre 2820 -3000 msnm influye significativamente en el aumento de la biosíntesis de compuestos bioactivos por la radiación solar emitida a una mayor altitud. En otro estudio se encontró una correlación positiva entre la intensidad de radiación UV, la altitud y concentración de antocianinas totales ⁽⁸⁵⁾.

En el caso de la zona de Corire, los valores de los compuestos fenólicos totales (fracción libre + fracción ligada) en el marlo fueron menores a los encontrados en las muestras de Chuquibamba e Iray, estas diferencias pueden deberse a varios factores como las condiciones de cultivo diferentes aplicadas en esta zona (Anexo 2), el uso de diferentes variedades o sus mezclas (información no reportada por los productores), además de las diferencias climáticas y de altitud (zona a menor altura).

En el Perú, el maíz morado es altamente consumido en bebidas, postres entre otros y ha adquirido una alta demanda por sus diferentes propiedades bioactivas como capacidad antioxidante y potenciales propiedades preventivas contra el cáncer, la diabetes y la obesidad según diferentes estudios *in vivo* e *in vitro* ⁽⁰⁶⁾ ⁽³⁰⁾ ⁽³⁵⁾. Este es el primer estudio que se realiza en Arequipa, en relación a la variabilidad de los compuestos fenólicos antioxidantes del maíz morado cultivado en dos zonas geográficas de cultivo de la

región. Los resultados de la presente investigación constituyen información científica preliminar para posteriores investigaciones que permitan contribuir con la mejora de la cadena productiva de maíz morado en Arequipa para diferentes aplicaciones a nivel industrial y para la salud humana con respecto a sus propiedades bioactivas.

3.6. Influencia de las características físicas del maíz morado sobre el contenido de polifenoles y antocianinas totales

Las características fenotípicas de un cultivo como las características físicas de la planta y fruto, composición química, características agronómicas como el rendimiento, resistencia a plagas, entre otras, dependen de varios factores (o sus interacciones) como los genéticos, condiciones agronómicas (tipo de suelo, fertilización, etc), características climáticas, o zona geográfica de cultivo ⁽¹⁰¹⁾. En el caso del maíz morado del presente estudio, se trabajó con la misma variedad comercial, en el mismo estado de madurez y las condiciones de manejo de cultivo fueron similares (cultivo tipo orgánico). Posiblemente hubo diferencias en la composición del suelo y agua utilizadas (que no fueron medidas), sin embargo, las diferencias en las condiciones climáticas y de altitud de cada zona geográfica evaluada pudieron también haber influido de manera importante en las diferencias encontradas en las características físicas del maíz morado y su composición fenólica como ha sido previamente presentado en los ítems 3.2, 3.3, 3.4 y 3.5.

Para determinar si hay alguna relación entre los caracteres físicos del maíz morado y la composición fenólica del mismo, se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson entre todos los resultados de los caracteres físicos medidos en las mazorcas y el grano, con los resultados de la composición en compuestos fenólicos del grano y el marlo del maíz morado procedente de las dos zonas geográficas de estudio (Tabla 3.13 y 3.14, respectivamente).

En el caso del grano, los resultados muestran correlaciones negativas significativas ($p < 0.05$) entre el contenido fenólico total y el ancho y el peso de 100 granos. Además, se obtuvo una correlación negativa entre el peso de 100 granos y el contenido de antocianinas, cuando los fenólicos fueron analizados por el método de UHPLC-DAD.

En el caso de los resultados de compuestos fenólicos determinados con métodos espectrofotométricos, las correlaciones también fueron negativas y significativas ($p < 0.05$) entre el contenido de fenólicos totales (fracción libre + fracción ligada) y antocianinas totales con el ancho de grano, longitud de grano y peso de 100 granos ⁽³⁷⁾.

Tabla 3.13 Correlaciones de Pearson (r) entre las características físicas del maíz morado de las zonas geográficas de estudio y el contenido de polifenoles y antocianinas en el grano de maíz morado

Método	Variables	Coefficiente (r)*
<i>UHPLC – DAD</i>	Ancho del grano y contenido fenólico total (libre + ligada)	-0.9026
	Ancho del grano y total ácidos fenólicos	-0.8548
	Peso de 100 granos y contenido fenólico total (libre + ligada)	-0.9290
	Peso de 100 granos y total ácidos fenólicos	-0.9432
	Peso de 100 granos y antocianinas	-0.8784
<i>Espectrofotometría</i>	Ancho de grano y fenólicos (libre)	-0.9273
	Ancho de grano y fenólicos totales (libre+ligada)	-0.9293
	Ancho de grano y antocianinas totales	-0.8757
	Longitud de grano y fenólicos (libre)	-0.9645
	Longitud de grano y fenólicos totales (libre+ligada)	-0.9675
	Longitud de grano y antocianinas totales	-0.9880
	Peso de 100 granos y fenólicos (libre)	-0.8711
	Peso de 100 granos y fenólicos (ligada)	-0.8240
	Peso de 100 granos y fenólicos totales (libre+ligada)	-0.8410
Peso de 100 granos y antocianinas totales	-0.8566	

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

Fuente: Elaboración propia

Estas correlaciones negativas estarían indicando que los granos con menor tamaño y peso (características del maíz morado cultivado en Chuquibamba) presentan mayores contenidos de compuestos fenólicos como las antocianinas y ácidos fenólicos.

En el caso de marlo, sólo el diámetro de la mazorca presentó correlaciones significativas ($p < 0.05$) con los valores de composición fenólica del marlo, observándose principalmente correlaciones negativas entre el contenido fenólico total y antocianinas totales con el diámetro de la mazorca cuando se utilizaron los métodos por UHPLC y los métodos espectrofotométricos. Ninguna característica física del marlo (diámetro y peso) mostró correlación con los valores de composición en fenólicos del marlo, y solo el diámetro de mazorca y el contenido total de ácidos fenólicos mostraron una correlación positiva significativa ($p < 0.05$).

Estos resultados significan que, a mayor diámetro de mazorca, mayores contenidos de ácidos fenólicos, pero menores concentraciones de fenólicos totales y antocianinas en el marlo. Sin embargo, serían necesarios más estudios controlando adecuadamente todos los parámetros agroclimáticos (incluyendo el tipo de suelo y agua) con el fin de determinar las relaciones más relevantes entre las variables físicas y de composición. No se han encontrado estudios sobre la posible influencia de los caracteres físicos del maíz (mazorca o grano) sobre su composición en flavonoides y ácidos fenólicos, sin embargo, varios trabajos han reportado que la variedad (factores genéticos), la etapa de desarrollo, y la ubicación geográfica del cultivo pueden afectar significativamente la acumulación de diferentes compuestos fenólicos en el maíz ⁽⁸²⁾ ⁽⁸⁹⁾.

Tabla 3.14 Correlaciones de Pearson (r) entre las características físicas del maíz morado de las zonas geográficas de estudio y el contenido de polifenoles y antocianinas en el marlo de maíz morado.

Método	Variabes	Coficiente (r)*
<i>UHPLC-DAD</i>	Diámetro de mazorca y total ácidos fenólicos	0.8327
	Diámetro de mazorca y contenido fenólico total (libre + ligada)	-0.8598
	Diámetro de mazorca y antocianinas	-0.9221
<i>Espectrofotometría</i>	Diámetro de mazorca y fenólicos (libre)	-0.9597
	Diámetro de mazorca y fenólicos (ligada)	0.8628
	Diámetro de mazorca y fenólicos totales (libre+ligada)	-0.9427
	Diámetro de mazorca y antocianinas totales	-0.9688

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

Fuente: Elaboración propia

CONCLUSIONES

1. El maíz morado (grano y marlo) de las dos zonas geográficas evaluadas (Chuquibamba e Iray) constituyen grandes fuentes de compuestos fenólicos tanto en su fracción fenólica libre como en la fracción fenólica ligada a la fibra dietética, presentando variación en algunas características por efecto de la zona geográfica de cultivo.
2. Las características físicas (tamaño de mazorca, número de hileras de mazorca y dimensiones del grano) del maíz morado cultivado en Iray y Chuquibamba fueron similares, excepto en el peso total de granos por mazorca, peso de 100 granos y diámetro de la mazorca, caracteres que se relacionan con el rendimiento y que fueron mayores en las muestras de Iray.
3. La composición químico proximal de grano fue similar en las muestras procedentes de ambas zonas evaluadas, sin embargo, los valores de cenizas y fibra cruda fueron superiores en las muestras del maíz morado cultivado en Chuquibamba (1.78% y 2.61%) frente a las muestras de Iray (1.44% y 1.51%).
4. Independientemente de la zona de procedencia, las muestras de marlo (3842.22 mg EAG/100g bs y 5118 mg EAG/100g bs) presentaron mayores concentraciones de compuestos fenólicos totales que el grano (751.90 mg EAG/100g bs y 1089.46 mg EAG/100g bs). Además, los compuestos fenólicos libres, principalmente como antocianinas totales, fueron la fracción fenólica mayoritaria en el marlo y en el grano respecto a los compuestos fenólicos ligados.
5. Los contenidos de compuestos fenólicos de la fracción libre y total (libre + ligada) fueron mayores en las muestras de grano del maíz morado cultivado en la zona de Chuquibamba (888.9 y 1089.5 mg EAG/100g bs), mientras que el marlo del maíz morado procedente de Iray presentó valores más altos de compuestos fenólicos (880.3 mg EAG/100g bs) en su fracción ligada.
6. El análisis por UHPLC-DAD confirmó la presencia de antocianinas y derivados de quercetina en la fracción fenólica libre de marlo y grano del maíz morado de ambas procedencias, mientras que en la fracción ligada se detectaron sólo ácidos fenólicos, como el ácido ferúlico (107.76 mg/100g bs y 153.38 mg/100g bs) y el ácido *p*-cumárico (476.39 mg/100g bs y 390.53 mg/100g bs) que fueron los compuestos mayoritarios en el grano y marlo de las zonas de Iray y Chuquibamba, respectivamente.
7. El maíz morado cultivado en Chuquibamba se caracterizó por presentar los mayores valores de compuestos fenólicos totales (libre + ligada) cuantificados por UHPLC-DAD en el marlo

y grano (1896.8 y 260.6 mg/100g bs, respectivamente), de antocianinas en el marlo (982.9 mg/100g bs), y de ácido ferúlico (153.4 mg/100g bs) en el grano del maíz.

8. Las características físicas del maíz morado (mazorca, grano y marlo) se correlacionaron inversamente con los contenidos de fenólicos y flavonoides, indicando que los granos con menor peso y mazorcas con menor diámetro, presentarían mayores contenidos de compuestos fenólicos como antocianinas y ácidos fenólicos.



RECOMENDACIONES

1. Este es el primer estudio que se realiza en Arequipa, con muestras de maíz morado cultivado en dos zonas geográficas de la zona, con el fin de analizar la variabilidad de los contenidos y perfiles de compuestos polifenólicos asociados a propiedades bioactivas de interés nutracéutico. Sin embargo, es importante tener en cuenta que este estudio constituye una base preliminar de información científica importante, para posteriormente aplicarla en investigaciones futuras que permitan la valorización de la biodiversidad del maíz morado peruano y la mejora de la cadena productiva del mismo en la región.
2. Realizar investigaciones en donde se evalué el efecto de las diferentes variables agroclimáticas directamente sobre las propiedades bioactivas con campos de cultivo controlando factores ambientales para una mayor exactitud.
3. Evaluar las propiedades bioactivas de la variedad nativa morado canteño para identificar la correlación con el contenido de compuestos fenólicos reportados en esta investigación para una mayor contribución al estudio del maíz morado y sus beneficios en la salud humana.
4. Este estudio se ha realizado en granos y marlos crudos de maíz morado, sin embargo, es necesario determinar el efecto de las diferentes preparaciones con maíz morado (tales como chicha morada, chicha de jora, mazamorra morada, harina de maíz para postres) sobre su composición en compuestos fenólicos antioxidantes, con el fin de determinar las cantidades de estos compuestos que realmente estarían disponibles para los consumidores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Quispe C., Chura J., Línea de base de la diversidad genética del maíz peruano con fines de bioseguridad [Internet] Lima (PE): Ministerio del Ambiente; 2018 Disponible en: <https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2019/01/Linea-de-base-ma%C3%ADz-LowRes.pdf>
2. Manrique A., El maíz en el Perú CONCYTEC. (Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica, 1997. p. 362.
3. FAO. Tradicional high andean cuisine [Internet]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2013. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i1466e/i1466e.pdf>
4. FAO. El maíz en la nutrición humana. Food and Agriculture Organization of the United Nations. [Internet] 1993. Disponible en: <http://www.fao.org/3/t0395s/T0395S00.htm#Contents>
5. Huaman C. Caracterización de los compuestos fenólicos del germoplasma de maíz (*Zea mays* L.) nativo de la región Arequipa, Perú. [Master] Universidad Agraria La Molina; 2017.
6. Lao F, Sigurdson G, Giusti M. Health benefits of purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds, *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2017;16(2): p. 234-46.
7. Salhuana W. Diversidad y descripción de las razas del maíz en el Perú. Cincuenta años del Programa Cooperativo de Investigaciones en Maíz (PCIM). UNALM. Lima-Perú 2004; p. 204-251.
8. Mayr E. Systematics and the origin of species. Columbia University Press. New York 1942; 334.
9. Ruiz S. Evaluación agronómica de variedades locales de maíz (*Zea mays* L.) en una restinga del distrito de Iparia. [Licenciatura] 2004. Ayacucho- Perú.
10. Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA). Maíz INIA 615 - Negro Canaán [Internet] 2007. Disponible en: https://www.inia.gob.pe/wp-content/uploads/investigacion/programa/sistProductivo/variedad/maiz-amilaceo/INIA_615.pdf
11. Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIA). Maiz INIA 601. [Internet] 2004. Disponible en: https://www.inia.gob.pe/wp-content/uploads/investigacion/programa/sistProductivo/variedad/maiz-amilaceo/INIA_601.pdf

12. García S, Serna S. Corn History and Culture. En: Serna SO., editor. Corn. 3, 2019; p. 1-18.
13. Goodman W, Wilkes H. Mystery and missing links: the origin of maize. En: Taba S. editor. *Maize genetic resources*, 1995; 1(6): p.1-6
14. Gorriti A, Quispe F, Arroyo JL, Córdova A, Jurado B, Santiago I, Taype E. Extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays L.* Maíz morado. *Ciencia e investigación* [Internet]2009;12(2): p.64-74. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/3395>
15. Indecopi. BIOPAT PERÚ: Maíz morado.Comisión nacional contra la biopiratería.2016 [Internet]. p.12. Disponible en: <https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/369580/Boletín+Nº+2+Tema+MAÍZ+MORADO/26d8fe5c-e027-42d6-8a30-c4fb4b441782>
16. Sifuentes E, Albuja E, Contreras S, León C, Moreyra J, Anuario estadístico de la producción agrícola y ganadera [Internet]2016; Disponible en: <https://siea.midagri.gob.pe/portal/publicaciones/datos-estadisticas/anuarios/category/26-produccion-agricola>
17. AgrodataPerú, Maíz morado: Exportación Perú [Internet] 2018; p. 10-22 Disponible en: <https://www.agrodataperu.com/category/exportaciones/maiz-morado-exportacion>
18. Vora J. Insight into the biochemical link between biodiversity and nutraceuticals. *J Environ Sci Toxicol Food Technol.* 2017; 11: p. 22-25
19. Harborne B. Secondary plant products: encyclopedia of plant physiology. *Phytochem.* 1980; 8: p. 2803–2804.
20. Morandi M, Silva V, Maróstica M. Phenolic compounds: structure, classification, and antioxidant power. En: Segura M, editor. *Bioactive compounds*, 2019; 1(2): p. 33-50
21. Heleno A, Martins A, Queiroz P, Ferreira I. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: *A review, Food Chem.* 2015; 173: p. 501-513.
22. Williamson G. The role of polyphenols in modern nutrition. *Nutrition Bull.* 2017; 42(3): p. 226-235.
23. Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., Bravo, J. Phenolic compounds in food, *Rev Bol Quim*, 2014; 31(2): p. 68-81.
24. Tomás A, Clifford N. Dietary hydroxybenzoic acid derivatives – nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agric.* 2000; 80(7): p. 1024 - 1032.

25. Boyles M, Wrolstad R. Anthocyanin composition of red raspberry juice: Influences of cultivar, processing, and environmental factors. *J Food Sci.* 1993; 58(5): p. 1135 - 1141.
26. Lafay S, Gil A. Bioavailability of phenolic acids. *Phytochem Rev.* 2008; 7(2): p. 301-311.
27. Ramos F., Muñoz A, Alvarado C, Alvarado Á, Yáñez A. Purple corn (*Zea mays L.*) phenolic compounds profile and its assessment as an agent against oxidative stress in isolated mouse organs. *J Med Food.* 2012; 15(2): p. 206 -215.
28. Rodriguez - Amaya D. Natural food pigments and colorants. *Curr Opin Food Sci.* 2016; 7: p.20-26.
29. De la Rosa L., Moreno J., Rodrigo J., Alvarez E. Phenolic compounds. En: Yahia EM, editor, Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables; 2019; p. 253-271.
30. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39(1): p. 44-84.
31. Moharram H, Youssef M. Methods for determining the antioxidant activity: A review. *Alexandria J Food Sci Technol.* 2014; 11(1): p. 31-42.
32. Alam N, Bristi J, Rafiquzzaman M. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm J.*, 2013; 21(2): p. 143 - 152.
33. Kim HS, Quon M, Kim J. New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties; lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate. *Redox Biol.* 2014; 2: p. 187 - 195.
34. Cremonini E, Bettaieb A, Haj F, Fraga G, Oteiza P. (-)-Epicatechin improves insulin sensitivity in high fat diet-fed mice. *Arch Biochem Biophys*, 2016; 599: p. 13-21.
35. Ballard C, Junior M. Health benefits of flavonoids. En: Segura MR, editor, Bioactive Compounds. 2019; p. 185-201.
36. Goszcz K, Duthie G, Stewart D, Leslie J, Megson L. Bioactive polyphenols and cardiovascular disease: chemical antagonists, pharmacological agents or xenobiotics that drive an adaptive response, *Br J Pharmacol.* 2017; 174(11): p. 1209 -1225.
37. Fraga G, Croft D, Kennedy O, Tomás A. The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food Funct.* 2019;10(2): p. 514 - 528.
38. Oteiza P, Fraga G, Mills D, Taft D. Flavonoids and the gastrointestinal tract: Local and systemic effects. *Mol Aspects Med*, 2018; 61; p. 41 - 49.

39. Aura AM. Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon. *Phytochem Rev.* 2008; 7(3): p. 407 - 429.
40. Shahidi, F, Yeo J. Insoluble-bound phenolics in food. *Molecules.* 2016; 21(9): p. 1216
41. Zhang X, Zhang M, Dong L, Jia X, Liu L, Ma Y, Zhang R. Phytochemical profile, bioactivity, and prebiotic potential of bound phenolics released from rice bran dietary fiber during *in vitro* gastrointestinal digestion and colonic fermentation. *J Agric Food Chem*, 2019; 67(46): p. 12796 - 12805
42. Lopez L, Oliart R, Valerio G, Lee C, Parkin K, Garcia H. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *Food Sci Technol.* 2009; 42(6): p.1187-1192.
43. Khampas S, Lertrat K, Lomthaisong K, Suriharn B. Variability in phytochemicals and antioxidant activity in corn at immaturity and physiological maturity stages. *Int Food Res J.* 2013; 20(6): p. 3149 - 3157
44. Schwarz M, Hillebrand S, Habben S, Degenhardt A, Winterhalter P. Application of high-speed countercurrent chromatography to the large-scale isolation of anthocyanins. *Biochem Eng J.* 2003; 14(3): p. 179 - 189.
45. Cuevas E, Hillebrand S, Antezana A, Winterhalter P. Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn (*Zea mays L.*) cultivars. *J Agric Food Chem.* 2011; 59(13): p. 7068 - 7074.
46. Ralph J. Hydroxycinnamates in lignification. *Phytochem Rev.* 2010; 9(1): p. 65-83
47. Allerdings E, Ralph J, Steinhart H, Bunzel M. Isolation and structural identification of complex feruloylated heteroxylan side-chains from maize bran. *Phytochemistry.* 2006; 67(12): p. 1276 - 1286.
48. Ishii T. Structure and functions of feruloylated polysaccharides. *Plant Sci.* 1997;127(2): p. 111 - 127.
49. Bily C, Reid M, Taylor H, Johnston D, Malouin C, Burt J, et al. Dehydrodimers of ferulic acid in maize grain pericarp and aleurone: Resistance factors to *fusarium graminearum*. *Phytopathology.* 2003; 93(6): p. 712 - 719.
50. 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.* 2010; 11(1): p. 169 - 176.

51. Harakotr B, Suriharn B, Scott MP, Lertrat K. Genotypic variability in anthocyanins, total phenolics, and antioxidant activity among diverse waxy corn germplasm. *Euphytica*. 2015; 203(2): p. 237 - 248.
52. Sarepoua E, Tangwongchai R, Suriharn B, Lertrat K. Relationships between phytochemicals and antioxidant activity in corn silk. *Int Food Res J*. 2013; 20(5): p. 2073-2079.
53. Simla S, Boontang S, Harakotr B. Anthocyanin content, total phenolic content, and antiradical capacity in different ear components of purple waxy corn at two maturation stages. *Aust J Crop Sci*. 2016; 10(5): p. 675 - 682.
54. Konczak I, Zhang W. Anthocyanins - more than nature's colour. *J Biomed Biotechnol*. 2004; 2004(5): p. 239.
55. Kim H, Kim K, Kang H, Lee Y, Kang J, Lim S. Aldose reductase inhibitory activity of compounds from *Zea mays* L. *Biomed Res Int*. 2013; 2013.
56. Pedreschi R, Cisneros L. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.) *Food Chem*. 2007; 100(3): p. 956 - 963.
57. Ranilla L, Apostolidis E, Genovese M, Lajolo F, Shetty K. Evaluation of indigenous grains from the Peruvian andean region for antidiabetes and antihypertension potential using *in vitro* methods. *J Med Food*. 2009; 12(4): p. 704-713
58. Shahidi F. Functional Foods: Their role in health promotion and disease prevention. *J Food Sci*. 2004; 69(5): p. 146 - 149.
59. Hong S, Heo J, Kim J, Kwon S, Yeo K, Bakowska A, Lee J. Antidiabetic and beta cell-protection activities of purple corn anthocyanins. *Biomol Ther (Seoul)* 2013; 21(4): p. 284-289.
60. He J, Giusti M. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2010; 1: p. 163-187.
61. Bragachini M, Peiretti J. Proyecto eficiencia de cosecha y postcosecha de granos. [Internet] Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) 2006. Disponible en: <https://studylib.es/doc/8057647/introducci%C3%B3n---proyecto-eficiencia-de-cosecha-y-postcosec...>
62. González A, Quesille M, Fuentealba C, Shetty K, Galvez 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.* 2013; 61(46): p. 10995 - 11007.
63. Jing P, Giusti M. Effects of extraction conditions on improving the yield and quality of an anthocyanin-rich purple corn (*Zea mays* L.) color extract. *J Food Sci.* 2007; 72(7): p. 363 - 368.
 64. Jing P, Noriega V, Schwartz J, Giusti M. Effects of growing conditions on purple corncob (*Zea mays* L.) anthocyanins. *J Agric Food Chem.* 2007; 55(21): p. 8625 - 8629.
 65. Lao F, Giusti M. Extraction of purple corn (*Zea mays* L.) cob pigments and phenolic compounds using food-friendly solvents. *J Cereal Sci.* 2018; 80: p.87-93.
 66. Rodriguez L, Wrolstad E. Extraction, isolation, and purification of anthocyanins. Current protocols in food analytical chemistry. [Internet] 2001 Disponible en: <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0101s00>
 67. International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR), Descriptors for maize. International maize and wheat improvement center. [Internet] México, 1991 Disponible en: http://archive-ecpgr.cgiar.org/fileadmin/bioversity/publications/pdfs/104_Descriptors_for_maize.Descriptores_para_maiz.Descripteurs_pour_le_mais-cache=1415188810.pdf
 68. Singleton V, Rossi J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* 1965; 16(3): p. 144 - 158.
 69. Giusti M, Wrolstad R. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. Current protocols in food analytical chemistry. [Internet] 2001 Disponible en: <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
 70. Gálvez L, Christopher A, Sarkar D, Shetty K, Chirinos R, Campos D. Phenolic composition and evaluation of the antimicrobial activity of free and bound phenolic fractions from a Peruvian purple corn (*Zea mays* L.) accession. *J Food Sci.* 2017; 82(12): p. 2968 - 2976.
 71. FAO. Secado de granos y secadoras [Internet]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1998. Disponible en: <http://www.fao.org/3/x5028s/X5028S00.htm>
 72. Quispe F, Arroyo K, Gorriti A. Características morfológicas y químicas de 3 cultivares de maíz morado (*Zea mays* L.) en Arequipa - Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú.* 2011; 77(3): p. 205-217.
 73. Cabrera C. Tres láminas de riego en el rendimiento de cuatro variedades de maíz morado (*Zea mays* L.) bajo riego por goteo. Universidad Agraria La Molina; [Licenciatura], 2016.

74. Rojas Y. Influencia del índice de cosecha en las variedades de maíz morado PMV-582 y Morado canteño en el distrito de Motupe. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; [Licenciatura], 2018.
75. Fischer G, Lüdders P. Efecto de la altitud sobre el crecimiento y desarrollo vegetativo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Comalfi*. [Internet] 2002 Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Gerhard-Fischer-2/publication/257363411_Efecto_de_la_altitud_sobre_el_crecimiento_y_desarrollo_vegetativo_de_la_uchuva_Physalis_peruviana_L/links/0c9605250b354583c4000000/Efecto-de-la-altitud-sobre-el-crecimiento-y-desarrollo-vegetativo-de-la-uchuva-Physalis-peruviana-L.pdf
76. Medina A, Yoshino M, Morita T, Maruyama H. Guía de producción comercial de maíz morado. [Internet] Instituto Nacional de Innovación Agraria. 2016 Disponible en: http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/421/1/Medina-Guia_de_produccion_comercial.pdf
77. Mex-Álvarez R. Análisis proximal y fitoquímico de cinco variedades de maíz del estado de Campeche, México *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*. 2016; 12(2): p. 74-80.
78. Fadlalla H, Abukhlaif H, Mohamed S. Efectos de los fertilizantes químicos y biológicos sobre el rendimiento, los componentes del rendimiento y la calidad del grano del maíz (*Zea mays* L.). *Rev Afric de Invest Agri.*, 2016; p. 4654-4660.
79. Pandino G, Mattiolo E, Lombardo S, Lombardo G, Mauromicale G. Organic cropping system affects grain chemical composition, rheological and agronomic performance of durum wheat. *Agriculture*, 2020; 10(2): p. 46.
80. Reyes M, Gómez I, Espinoza C. Tablas peruanas de composición de alimentos. [Internet] Lima, Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. 2017 Disponible en: <https://repositorio.ins.gob.pe/xmlui/bitstream/handle/INS/1034/tablas-peruanas-QR.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
81. Ranilla L, Huamán C, Flores O, Aquino E, Chirinos R, Campos D. Evaluation of phenolic antioxidant-linked *in vitro* bioactivity of Peruvian corn (*Zea mays* L.) diversity targeting for potential management of hyperglycemia and obesity. *J Food Sci Technol*. 2019; 56(6): p. 2909 - 2924.

82. Khamphasan P, Lomthaisong K, Harakotr B, Ketthaisong D, Scott M, Lertrat K, Suriharn B. Genotypic variation in anthocyanins, phenolic compounds, and antioxidant activity in cob and husk of purple field corn. *Agronomy*. 2018; 8(11): p. 271.
83. Harakotr B, Suriharn B, Lertrat K, Scott M. Genetic analysis of anthocyanin content in purple waxy corn (*Zea mays L. var. Ceratina Kulesh*) kernel and cob. *SABRAO J Breed Genet*. 2016; 48(2): p. 230-239.
84. Saikaew K, Lertrat K, Ketthaisong D, Meenune M, Tangwongchai R. Influence of variety and maturity on bioactive compounds and antioxidant activity of purple waxy corn (*Zea mays L. var. ceratina*). *Int Food Res J*, 2018; 25(5): p. 1985-1995.
85. Gómez L. Influencia de la radiación UV-B, sobre la biosíntesis de antocianinas en frutos de manzana (*Malus domestica Borkh*) CV." ANNA" para condiciones de trópico alto en Boyacá Colombia [Master], Universidad pedagógica y tecnológica de Colombia, 2019.
86. Duangpapeng P, Lertrat K, Lomthaisong K, Paul M, Suriharn B. Variability in anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity in the tassels of collected waxy corn germplasm. *Agronomy*, 2019; 9(3): p. 158.
87. Khampas S, Lertrat K, Lomthaisong K, Simla S, Suriharn B. Effect of location, genotype and their interactions for anthocyanins and antioxidant activities of purple waxy corn cobs. *Turkish Journal of Field Crops* 2015; 20(1): p. 15–23.
88. Mohamed G, Lertrat K, Suriharn B. Phenolic compound, anthocyanin content, and antioxidant activity in some parts of purple waxy corn across maturity stages and locations. *Int Food Res J*. 2017; 24(2): p. 490-497.
89. Urias A, Heredia J, Serna O, Muy-Rangel D, Valdez J. Total phenolics, total anthocyanins and antioxidant capacity of native and elite blue maize hybrids (*Zea mays L.*). *CYTA J Food* 2015; 13(3): p. 336 - 339.
90. Beta T, Nam S, Dexter J, Sapirstein H. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chem*. 2005; 82(4): p. 390 - 393.
91. Mpofo A, Sapirstein HD, Beta T. Genotype and environmental variation in phenolic content, phenolic acid composition, and antioxidant activity of hard spring wheat. *J Agric Food Chem*. 2006; 54(4): p. 1265 - 1270.
92. Zhang Z, Li X, Chu N, Zhang X, Wen Q, Duan Q, Pan H. Three types of ultraviolet irradiation differentially promote expression of shikimate pathway genes and production of anthocyanins in grape berries. *Plant Physiol Biochem*. 2012; 57: p. 74-83.

93. González A, Blancas J, Sáyago G. Polyphenols associated with dietary fibers in plant foods: Molecular interactions and bioaccessibility. *Curr Opin Food Sci.* 2017; 13: p. 84-88.
94. Graf E. Antioxidant potential of ferulic acid. *Free Radic Biol Med.* 1992; 13(4): p. 435-448.
95. Boz H. p-Coumaric acid in cereals: presence, antioxidant and antimicrobial effects. *Int J Food Sci Technol.* 2015; 50(11): p. 2323-2328.
96. Kapcum C, Uriyapongson J. Effects of storage conditions on phytochemical and stability of purple corn cob extract powder. *Food Sci Technol.* 2018; 38: p. 301-305.
97. Ccaccya M, Soberón M, Arnao I. Estudio comparativo del contenido de compuestos bioactivos y cianidina-3-glucósido del maíz morado (*Zea mays* L.) de tres regiones del Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 2019, 85(2): p. 206-215.
98. Abdel M, Young C, Rabalski I. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *J Agric Food Chem.* 2006; 54(13): p. 4696-4704.
99. Giordano D, Beta T, Vanara F, Blandino M. Influence of agricultural management on phytochemicals of colored corn genotypes (*Zea mays* L.). part 1: nitrogen fertilization. *J Agric Food Chem.* 2018; 66(17): p. 4300 - 4308.
100. Landi M, Tattini M, Gould S. Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environ Exp Bot.* 2015; 119: p. 4-17
101. Pinedo R. Niveles de fertilización en dos variedades de maíz morado (*Zea mays* L.) en la localidad de Canaán-Ayacucho. [Master]. Universidad Nacional Agraria La Molina, 2015.

ANEXOS

Anexo 1:

Fotos de los procesos utilizados en la metodología de la investigación



Figura 3.5 Proceso de molienda y tamizado (500um) de muestras de marlo



Figura 3.6 Proceso de extracción de antocianinas de muestras de marlo y grano según método de Lao et al⁽⁶³⁾

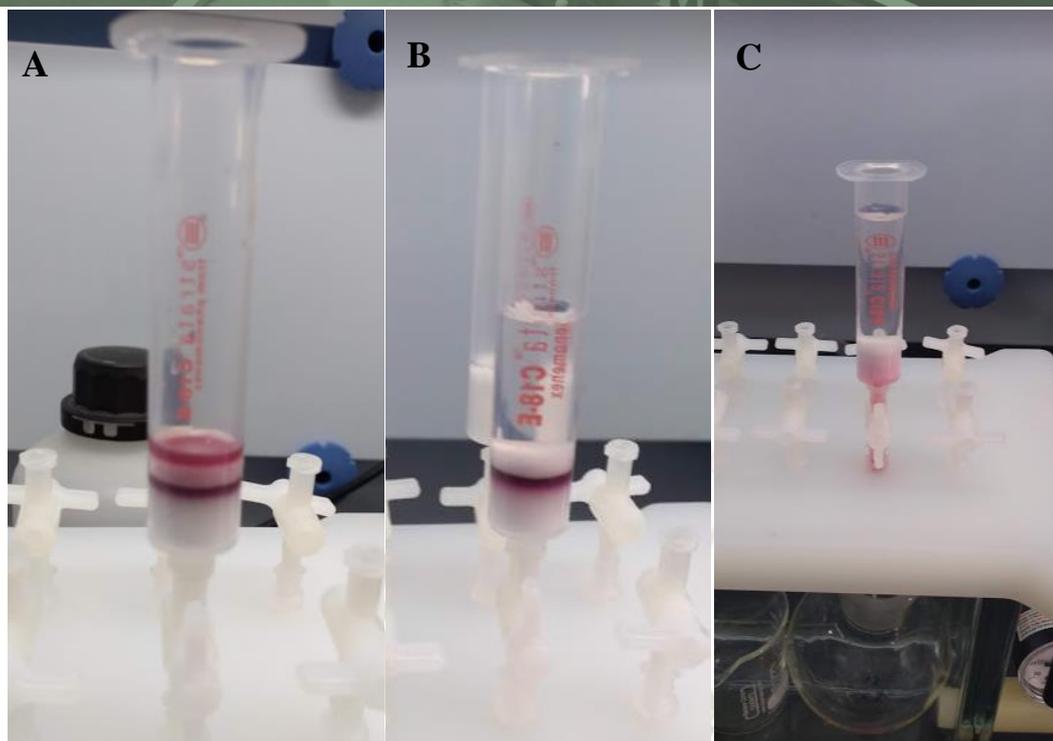


Figura 3.7 A) Aplicación del extracto de antocianinas en columna SPE C18 B) Lavado de columna C) Elución de muestra en balón para rotaevaporación



Figura 3.8 Concentración de antocianinas purificadas en rotavapor Buchi

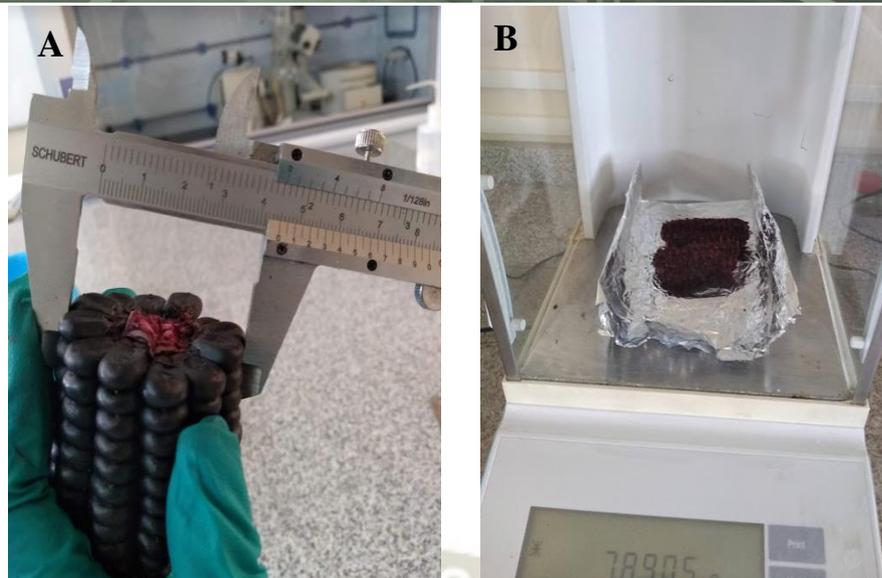


Figura 3.9 Muestra de marlo A: Medición de diámetro; B: Peso de marlo

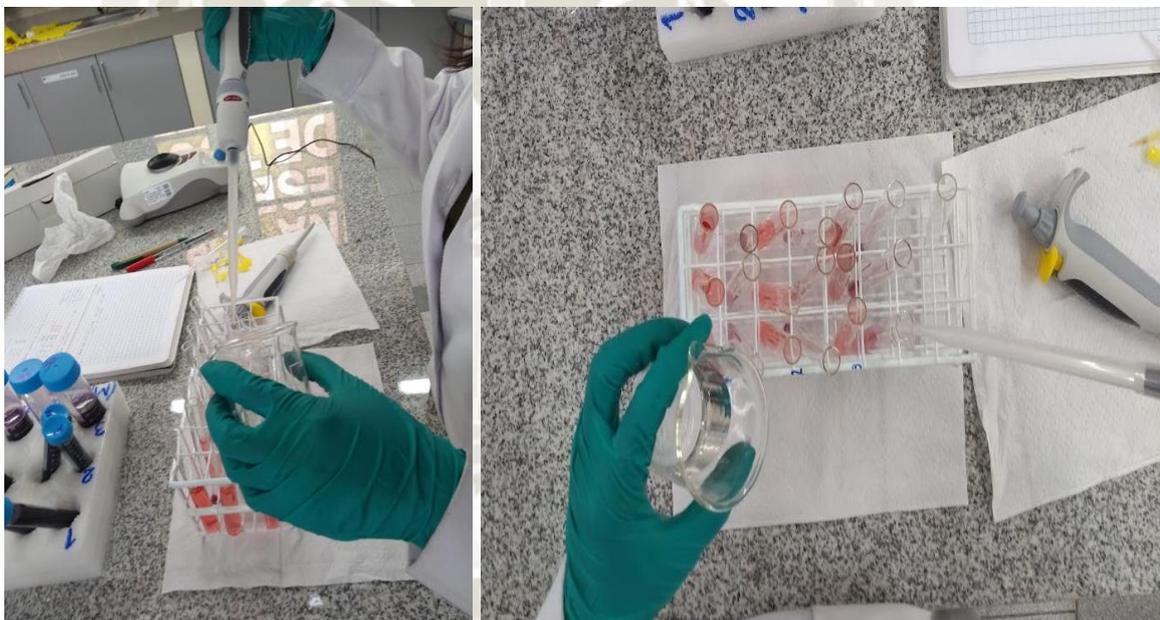


Figura 3.10 Preparación de muestra después de extracción para medición de contenido de antocianinas totales empleando el método de pH diferencial

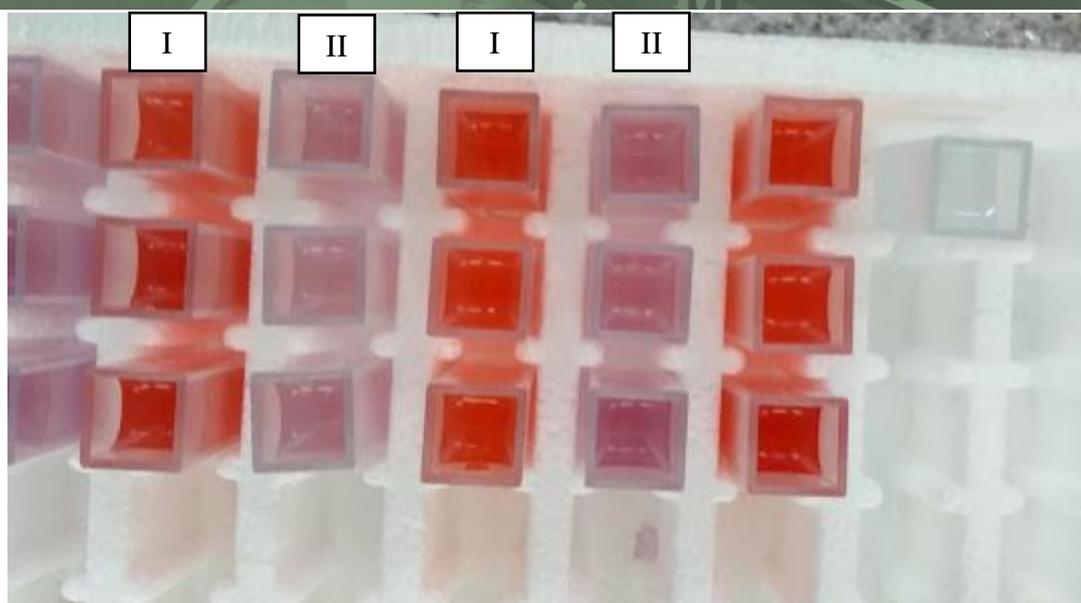
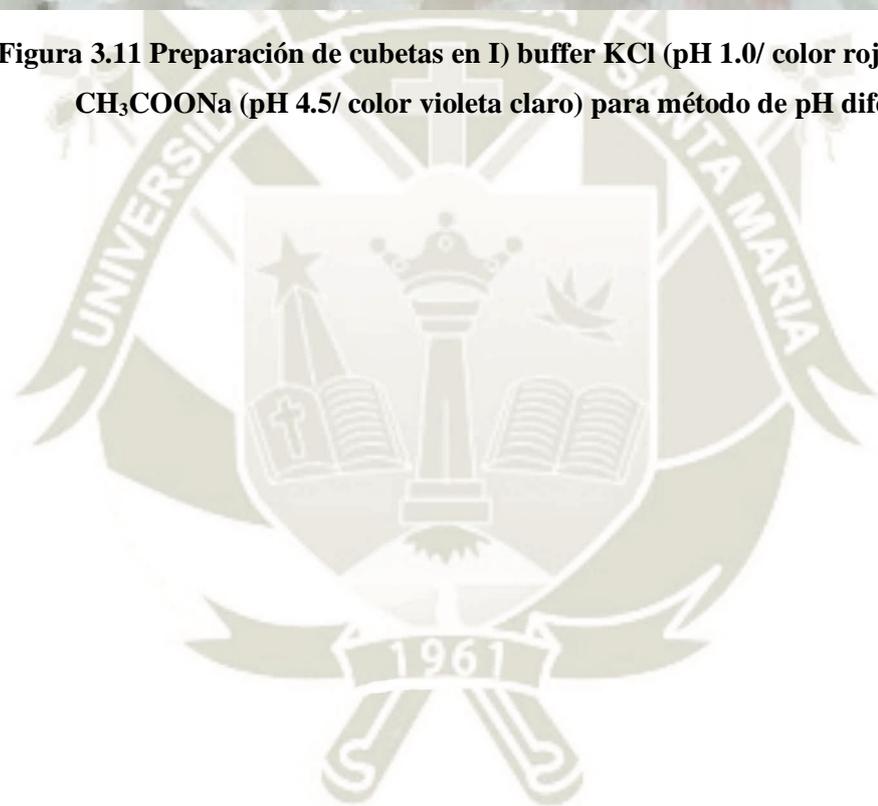


Figura 3.11 Preparación de cubetas en I) buffer KCl (pH 1.0/ color rojo) y II) buffer CH_3COONa (pH 4.5/ color violeta claro) para método de pH diferencial



Anexo 2:

**Información recolectada de las zonas de cultivo evaluadas, por parte de los agricultores,
sobre manejo de su cultivo de maíz morado**

A. Cosechadas de la provincia de Condesuyos

DISTRITO	PRE- SIEMBRA*		SIEMBRA/CRECIMIENTO*		
	Preparación de tierra	Fertilizante	Meses (Año 2017)	Control de maleza	Plagas
Iray	Arado	Compost	Noviembre	Manual	Gusano cogollero
Chuquibamba	Arado	Compost	Noviembre		
DISTRITO	COSECHA*		POST-COSECHA*		
	Meses (Año 2018)	Tipo	Secado	Almacenamiento	
Iray	Mayo	Manual	Directo al sol (en sacos extendidos)	Solo se almacena la semilla que se usará para el próximo cultivo	
Chuquibamba	Mayo				

*Datos e información real recolectada de los dueños del cultivo

B. Recolectadas de la provincia de Castilla

DISTRITO	PRE- SIEMBRA*		SIEMBRA/CRECIMIENTO*		
	Preparación de tierra	Fertilizante	Meses (Año 2017)	Control de maleza	Plagas
Corire	Arado de disco, surcado	NPK	Junio	Deshierbado químico	Gusano de tierra o cortador
DISTRITO	COSECHA*		POST-COSECHA*		
	Meses (Año 2018)	Tipo	Secado	Almacenamiento	
Corire	Noviembre	Manual	Directo al sol (en sacos extendidos)	Solo se almacena la semilla que se usará para el próximo cultivo	

*Datos e información recolectada de INIA-Corire, Anexo Santa Elena

Anexo 3:

Condiciones climáticas de las zonas de recolección durante la época de siembra

A. Chuquibamba: Periodo noviembre 2017- mayo 2018

CODIGO	AÑO	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY
Humedad relativa	2017	45	60	-	-	-	-	-
	2018	-	-	73	81	73	66	45
Precipitación total mensual	2017	0.0	7.3	-	-	-	-	-
	2018	-	-	24.1	21.1	16.3	10.1	0.0
Temperatura máxima	2017	17.9	17.7	-	-	-	-	-
	2018	-	-	17.0	16.3	17.4	17.0	18.8
Temperatura mínima	2017	4.7	4.9	-	-	-	-	-
	2018	-	-	5.0	4.8	5.5	4.9	4.3
Dirección y velocidad del viento	2017	SE-1,4	SE-1,9					
	2018			SE-1.8	SE-1.5	SE-1.6	SE-1.6	SE-1.6

Fuente: SENAMHI Arequipa

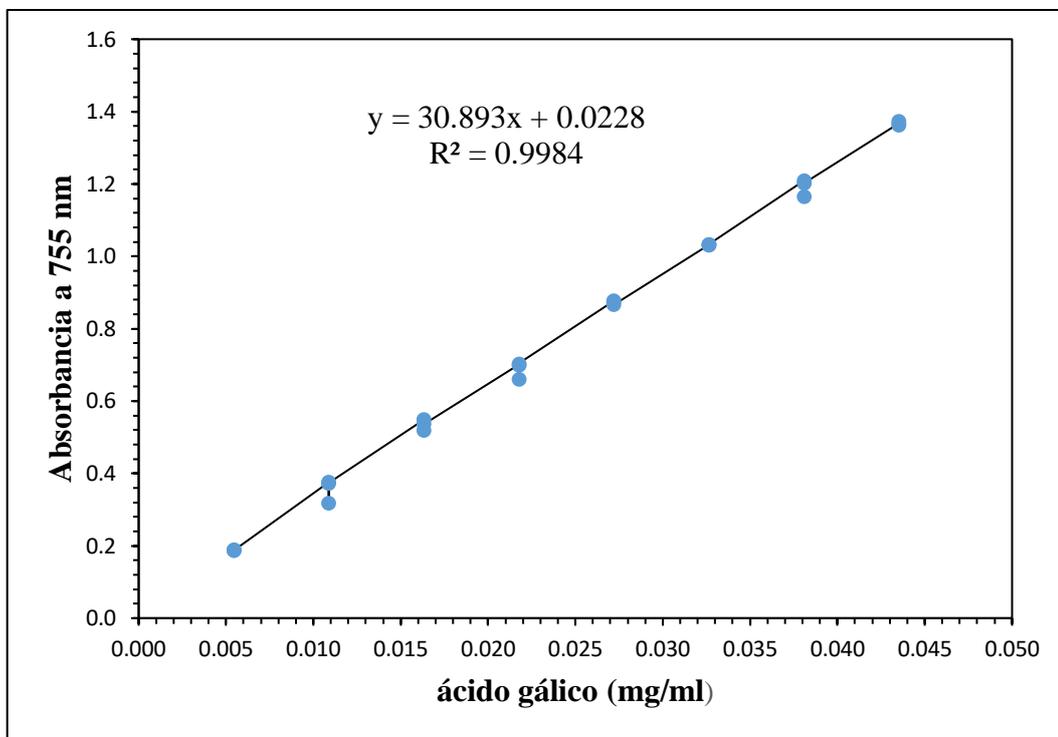
B. Aplao (Corire): Periodo abril 2017-enero 2018

CODIGO	AÑO	ABR	MAY	JUN	JUL	AGOS	SET	OCT	NOV	DIC	ENE
Humedad relativa	2017	69	71	72	73	71	72	64	63	65	-
	2018	-	-	-	-	-	-	-	-	-	65
Precipitación total mensual	2017	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	-
	2018	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.0
Temperatura máxima	2017	30.4	26.6	25.2	24.3	24.8	26.3	29.0	29.5	29.8	-
	2018	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30.1
Temperatura mínima	2017	15.8	12.9	9.9	8.5	7.5	10.2	11.0	12.4	14.9	-
	2018	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16.4
Dirección y velocidad del viento	2017	SE-2.2	SE-1.7	SE-1.5	SE-1.4	SE-1.9	SE-2.0	SE-2.0	SE-2.5	SE-2.4	-
	2018	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SE-2.7

Fuente: SENAMHI Arequipa

Anexo 4:

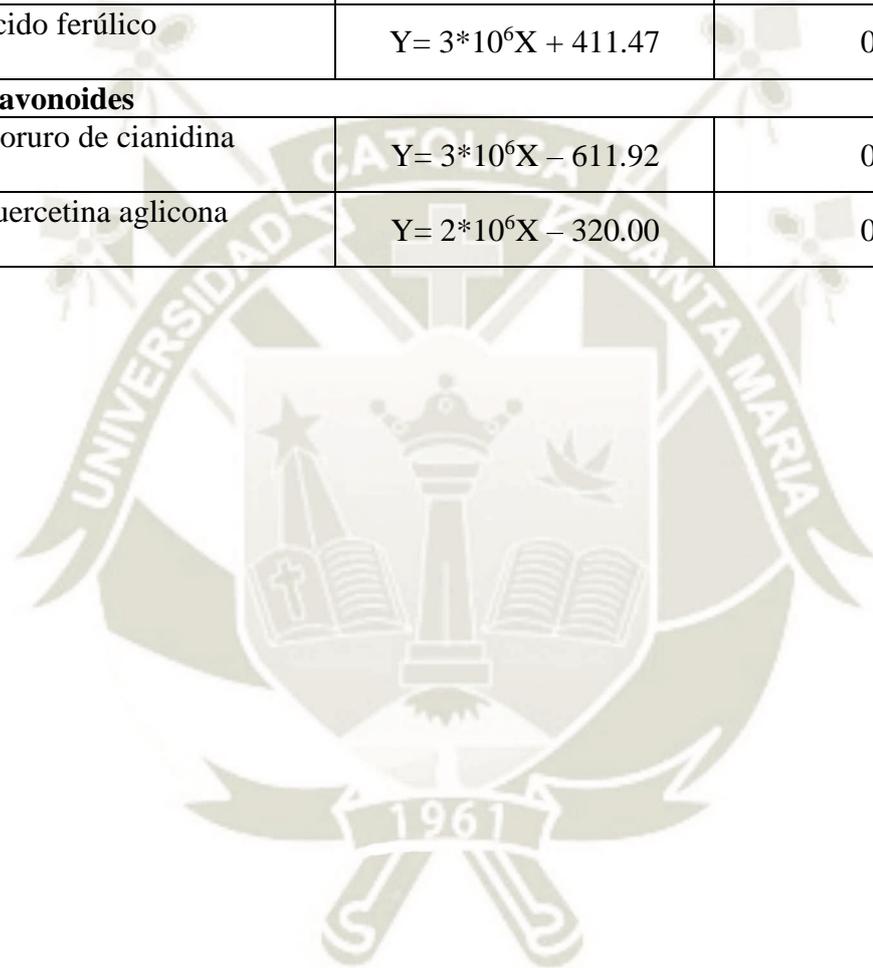
Curva estándar de ácido gálico para la cuantificación por espectrofotometría de
compuestos fenólicos



Anexo 5:

**Curva de compuestos standard para la cuantificación de compuestos fenólicos por
UHPLC-DAD**

COMPUESTOS	ECUACIÓN GENERAL	COEFICIENTE DE CORRELACIÓN (R ²)
Ácidos fenólicos		
Ácido p-cumárico	$Y = 4 \cdot 10^6 X - 1501.6$	0.9989
Ácido ferúlico	$Y = 3 \cdot 10^6 X + 411.47$	0.9997
Flavonoides		
Cloruro de cianidina	$Y = 3 \cdot 10^6 X - 611.92$	0.9988
Quercetina aglicona	$Y = 2 \cdot 10^6 X - 320.00$	0.9990



Anexo 6:

Análisis estadístico para evaluar los parámetros físico-químicos de las muestras de marlo cosechadas de la zona de Iray y Chuquibamba

1. Variable: Peso

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.0744)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.3449	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

2. Variable: Diámetro

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.2731)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.5432	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

3. Variable: Humedad

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.2895)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.1075	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

Anexo 7:

Análisis estadístico para evaluar los parámetros físico-químicos de las muestras de grano cosechadas de la las zonas de Iray y Chuquibamba

1. Variable: Peso

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.9476)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0129	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

2. Variable: Peso 100 granos

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.9755)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0230	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

3. Variable: Porcentaje de grano en mazorca

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.2800)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.3211	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

4. Variable: Humedad

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.3609)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.2226	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

5. Variable: Grasa

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.6958)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.3591	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

6. Variable: Proteínas totales

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.4859)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.2551	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

7. Variable: Fibra Cruda

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.1217)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0436	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

8. Variable: Cenizas

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.6632)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0129	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

9. Variable: CHOS

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.5136)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.8272	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$) / NS: No significativo



Anexo 8:**Evaluación de metodologías según Jing & Giusti, Jing *et al*, y Lao *et al* para la extracción de antocianinas totales**

Previamente fueron analizadas las concentraciones de antocianinas totales expresadas como mg equivalentes de cianidina-3-glucosido (C3G) por 100g de muestra en base seca (bs) de los valores obtenidos por tres tipos de extracción realizadas a las muestras para evaluar el método óptimo de extracción. Se cuantificaron mediante el método de pH diferencial, para la determinación del contenido total de antocianinas monoméricas, basado en el cambio estructural del cromóforo de antocianinas entre pH 1.0 y 4.5. ⁽⁸²⁾

En la tabla 7.1 se muestra el contenido de antocianinas totales de los tres tipos de extracción (I, II y III), el método III obtuvo el mayor valor (2151.67 mg C3G/100g bs, el solvente de extracción fue 50 por ciento de etanol acidificado con 0.01% de HCl 6N) y el menor valor fue del tipo de extracción II (1147.99 mg C3G/100g bs, el solvente de extracción fue acetona al 70% acidificado con 0.01% de ácido clorhídrico 6N). El análisis estadístico reveló diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al tipo de extracción entre los métodos I y II con el método III. Por tal motivo la extracción de antocianinas totales fue realizada con el III tipo de extracción. (Anexo 9)

Tabla 3.15 Valores de contenido de antocianinas totales en pruebas de tipo de extracción

TIPO DE EXTRACCIÓN	ANTOCIANINAS TOTALES (mg C3G/100g bs)
I	1240.69 ± 43.47 ^a
II	1147.99 ± 8.40 ^a
III	2151.67 ± 84.82 ^b

Los resultados son expresados como el promedio ± DS. Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

Anexo 9:

Análisis estadístico para evaluación de metodologías según Jing & Giusti (I), Jing *et al* (II), y Lao *et al* (III) para la extracción de antocianinas totales

Análisis de la Varianza (ANOVA)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	1845834.96	2	922917.48	302.46	0.0000
Intra grupos	18308.22	6	3051.37		
Total	1864143.18	8			

Prueba de Tukey

Tratamiento	Tamaño Muestra	Media	Grupos Homogéneos
I	3	1240.69	A
II	3	1147.99	A
III	3	2151.67	B

Anexo 10:

Análisis estadístico para evaluar el contenido de antocianinas totales en muestras de marlo y grano de las zonas de Iray y Chuquibamba

1. Marlo

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.4075)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0990	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

2. Grano

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.8784)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.1310	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

Anexo 11:

Análisis estadístico para identificar diferencias significativas entre las muestras de marlo del distrito de Iray y el distrito de Chuquibamba de acuerdo al contenido de fenoles totales en su fracción fenólica libre, ligada y total

1. Fracción libre

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.2584)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0998	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

2. Fracción ligada

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.5734)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0056	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

3. Contenido total de polifenoles (libre + ligada)

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.2674)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.1320	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

Anexo 12:

Análisis estadístico para identificar diferencias significativas entre las muestras de grano del distrito de Iray y el distrito de Chuquibamba de acuerdo al contenido de fenoles totales en su fracción libre, ligada y total

1. Variable: Fracción libre

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.2906)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0045	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

2. Variable: Fracción ligada

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.1203)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.1655	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

3. Variable: Contenido total de polifenoles (libre + ligada)

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.1979)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0038	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

Anexo 13:

Análisis estadístico para identificar diferencias significativas entre las muestras de marlo del distrito de Iray y el distrito de Chuquibamba de acuerdo al perfil fenólico por UHPLC-DAD

1. Variable: Ácido p-cumárico de la fracción ligada

Prueba T de student de varianzas heterogéneas

Prueba F, valor p (0.0325)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.1516	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

2. Variable: Derivados de ácido cumárico de la fracción ligada

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.7634)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.8291	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

3. Variable: Ácido ferúlico de la fracción ligada

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.4181)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0750	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

4. Variable: Derivados de ácido ferúlico de la fracción ligada

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.5506)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.6296	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

5. Variable: Cloruro de cianidina en fracción libre

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.4518)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0034	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

6. Variable: Quercetina en fracción libre

Prueba T de student de varianzas heterogéneas

Prueba F, valor p (0.0006)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.1365	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

7. Variable: Ácidos fenólicos totales en la fracción ligada

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.1473)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0108	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

8. Variable : Flavonoides totales en la fracción libre

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.1898)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0010	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

9. Variable: Compuestos fenólicos totales (libre + ligada)

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.8173)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0038	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo



Anexo 14:

Análisis estadístico para identificar diferencias significativas entre las muestras de grano del distrito de Iray y el distrito de Chuquibamba de acuerdo al perfil fenólico por UHPLC-DAD

1. Variable: Ácido p-cumárico en la fracción ligada

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.0604)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.3100	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

2. Variable: Ácido ferúlico en la fracción ligada

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.3126)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0266	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

3. Variable: Derivados de ácido ferúlico en la fracción ligada

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.6332)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.2976	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

4. Variable: Cloruro de cianidina en la fracción libre

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.4384)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.2030	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

5. Variable: Quercetina en la fracción libre

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.8421)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.1480	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

6. Variable: Ácidos fenólicos totales en la fracción ligada

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.2062)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0700	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

7. Variable : Flavonoides totales en la fracción libre

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.4672)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.1826	NS

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

8. Variable: Compuestos fenólicos totales (libre + ligada)

Prueba T de student de varianzas homogéneas

Prueba F, valor p (0.0943)

Contraste	Valor -p	Significación
Iray - Chuquibamba	0.0311	*

*Diferencia significativa ($p < 0.05$)

NS: No significativo

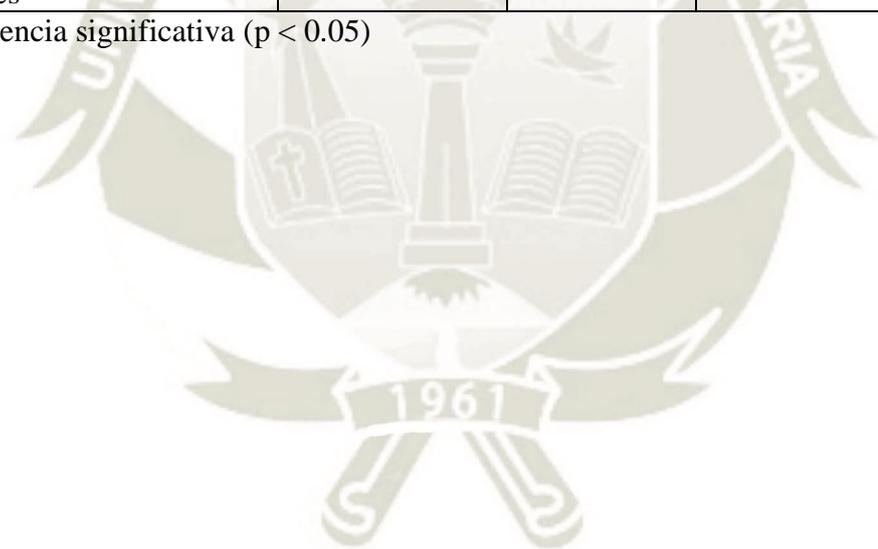
Anexo 15:

Análisis estadístico para evaluar correlaciones en muestras de marlo, de las zonas estudiadas (Iray- Chuquibamba)

Correlaciones lineales de Pearson

	Fenólicos totales (fracción libre)	Cloruro de cianidina	Flavonoides totales	Compuestos fenólicos totales
Fenólicos totales (libre)	-	-	0.8575 ^a	-
Fenólicos totales (ligada)	-	-0.9460 ^a	-0.9316 ^a	-0.8854 ^a
Fenólicos totales (libre + ligada)	0.9975 ^a	0.8184 ^a	0.8250 ^a	0.8443 ^a
Antocianinas totales	0.9888 ^a	0.8506 ^a	0.8493 ^a	0.8569 ^a
Ácido ferúlico	-	-0.8302 ^a	-0.8129 ^a	-
Ácidos fenólicos totales (libre + ligada)	-	-0.9512 ^a	-0.8953 ^a	-0.8249 ^a
Cloruro de cianidina	0.8527 ^a	-	-	-
Flavonoides totales	-	0.9807 ^a	-	-
Compuestos fenólicos totales	0.8707 ^a	0.9484 ^a	0.9903 ^a	-

^a Diferencia significativa ($p < 0.05$)



Anexo 16:

Análisis estadístico para evaluar correlaciones en muestras de grano, de las zonas estudiadas (Iray- Chuquibamba)

Correlaciones lineales de Pearson

	Fenólicos totales (libre + ligada)	Ácido ferúlico	Ácidos fenólicos totales	Compuestos fenólicos totales
Peso 100 granos	-0.8948 ^a	-0.9649 ^a	-0.9405 ^a	-0.9044 ^a
Grasa	-	-	-0.8379 ^a	-
Cenizas	0.9023 ^a	0.8521 ^a	-	-
Fenólicos totales (libre)	0.9930 ^a	0.8219 ^a	-	-
Fenólicos totales (ligada)	-	0.9046 ^a	0.9534 ^a	0.8667 ^a
Fenólicos totales (libre + ligada)	-	-	-	-
Ácido ferúlico	0.8765 ^a	-	-	-
Ácidos fenólicos totales	-	0.9872 ^a	-	-
Derivados de ácido ferúlico	-	0.8191 ^a	0.8775 ^a	-
Compuestos fenólicos totales	-	0.9712 ^a	0.9636 ^a	-

^aDiferencia significativa ($p < 0.05$)