

**Universidad Católica de Santa María**  
**Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y**  
**Biotechnológicas**  
**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**



**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL MAÍZ (*Zea mays* L.)  
TIPO CABANITA, DE LA REGIÓN AREQUIPA**

Tesis presentada por la Bachiller:  
**Cuba Puma, Rody**

Para optar el Título Profesional de  
**Químico Farmacéutico**

Asesor:  
**Dra. Gálvez Ranilla, Lena**

**Arequipa- Perú**  
**2023**

UCSM-ERP

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**  
**FARMACIA Y BIOQUIMICA**  
**TITULACIÓN CON TESIS**  
**DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR**

Arequipa, 17 de Enero del 2023

**Dictamen: 005667-C-EFFvB-2023**

Visto el borrador del expediente 005667, presentado por:

**2009100852 - CUBA PUMA RODY**

Titulado:

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL MAÍZ (ZEA MAYS L.) TIPO CABANITA, DE LA REGIÓN AREQUIPA**

Nuestro dictamen es:

**APROBADO**

**0376 - LOPEZ VALENCIA YENNY CANDELARIA  
DICTAMINADOR**



**1051 - VILLANUEVA SALAS JOSE ANTONIO  
DICTAMINADOR**



**2499 - DE LA FUENTE TORRES MOCITA HESET LOURDES  
DICTAMINADOR**



# EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL MAÍZ (Zea mays L.) TIPO CABANITA, DE LA REGIÓN AREQUIPA

## INFORME DE ORIGINALIDAD

12%

INDICE DE SIMILITUD

12%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

9%

TRABAJOS DEL  
ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	5%
2	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	3%
3	repositorio.inia.gob.pe Fuente de Internet	1%
4	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	www.mlsjournals.com Fuente de Internet	1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Apagado

## DEDICATORIA

*A mi familia y entorno social cercano, quienes me apoyaron sin vacilar para seguir con esta meta trazada.*



## AGRADECIMIENTO

*Gracias a mi familia, amigos y compañeros de trabajo.*

*Gracias a la Dra. Lena Gálvez Ranilla y Mg. Shaneri Marcilla Truyenque quienes me confiaron el desarrollo de esta investigación, por su paciencia y motivación en todos estos meses.*

*Gracias a la Universidad Católica de Santa María.*



La presente tesis forma parte del proyecto de investigación **ESTUDIO DEL PERFIL DE COMPUESTOS BIOACTIVOS POR UHPLC-DAD, LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* Y LA VARIABILIDAD GENÉTICA DEL MAÍZ RAZA CABANITA NATIVO DE AREQUIPA PARA LA VALORIZACIÓN DE SU BIODIVERSIDAD** con el financiamiento del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Católica de Santa María con Resolución N° 26572-R-2019.



Las muestras de maíz Cabanita utilizadas en la presente tesis y cuya información geográfica de colecta y fotos se muestran en las Tablas 3, 4 y 5 (páginas 34, 35 y 36 del presente documento) son de origen peruano y se han accedido dentro del marco del “**Contrato de acceso a recursos genéticos N° 002-2021-MIDAGRI-INIA/DGIA**”. Resolución Directoral N°0006-2021-INIA-DGIA.

Se adjunta como Anexo 7 el “**Certificado de Cumplimiento Reconocido Internacionalmente (CCRI) ABSCH-IRCC-PE-256874-1**” emitido por el Centro de intercambio de información sobre acceso y participación en los beneficios (ABSCH por sus siglas en inglés) del Convenio sobre Diversidad Biológica (CDB), en el marco del Protocolo de Nagoya, con relación a la solicitud de acceso a recursos genéticos de la especie cultivada de Maíz “Cabanita” referente al Contrato de acceso a recursos genéticos N° 002-2021-MIDAGRI-INIA/DGIA; en el marco del proyecto: “Análisis metabolómico y transcriptómico para la identificación preliminar de genes involucrados en la biosíntesis de carotenoides y polifenoles con potenciales propiedades antioxidantes e hipoglucémicas *in vitro* en la raza de maíz Cabanita”, sin fines comerciales.

## RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo determinar la capacidad antioxidante del maíz tipo Cabanita (*Zea mays* L.) proveniente de 5 puntos geográficos de la provincia de Caylloma y de la provincia de Castilla (total 10 puntos geográficos) de la región Arequipa aplicando los métodos de inhibición de los radicales libres ABTS<sup>•+</sup> (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) y DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Esta propiedad fue evaluada en las fracciones fenólicas libre, ligada, hidrofílica y lipofílica de cada muestra. Las muestras de maíz Cabanita (*Zea mays* L.) de ambas provincias presentaron mayormente granos con pericarpio de pigmentación blanca y parcialmente rojizas. Todas las muestras de maíz Cabanita (*Zea mays* L.) presentaron capacidad antioxidante con ambos métodos, siendo los valores mayores en las fracciones fenólicas ligadas (2583 a 4041  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , 642 a 948  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , con los métodos de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> y del DPPH<sup>•</sup>, respectivamente) que en las fracciones fenólicas libres (37 a 107  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , 35 a 93  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , con los métodos de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> y del DPPH<sup>•</sup>, respectivamente). Igualmente, las fracciones hidrofílicas presentaron rangos más altos de capacidad antioxidante (566 a 1069  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , 228 a 398  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , con los métodos de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> y del DPPH<sup>•</sup>, respectivamente) que las fracciones lipofílicas (63 a 87  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , 24 a 40  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , con los métodos de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> y del DPPH<sup>•</sup>, respectivamente). Las muestras de maíz Cabanita (*Zea mays* L.) de la provincia de Castilla presentaron una mayor capacidad antioxidante total (libre+ligada) con ambos métodos y en general los resultados de la capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica fueron similares entre ambas provincias. La muestra AAP (Castilla), destacó por sus altos valores de capacidad antioxidante total, hidrofílica y lipofílica con ambos métodos. Es necesaria una mayor investigación a futuro para dilucidar los factores que podrían relacionarse a esta propiedad bioactiva detectada en el maíz Cabanita (*Zea mays*

L.). Finalmente, esta información científica constituye la base bioquímica para estudios *in vivo* que confirmen la capacidad antioxidante del maíz Cabanita (*Zea mays* L.).

**Palabras claves:**

Maíz Cabanita, *Zea mays* L., capacidad antioxidante, fracción fenólica libre, fracción fenólica ligada, fracción hidrofílica, fracción lipofílica.



## ABSTRACT

The current investigation was aimed at determining the antioxidant capacity of Cabanita maize (*Zea mays* L.) from 5 geographical locations in the provinces of Caylloma and Castilla in the Arequipa region (10 locations in total) by using the methods based on the inhibition of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>) and 2-2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS<sup>•+</sup>) free radicals. This bioactive property was evaluated in the free phenolic, bound phenolic, hydrophilic, and lipophilic fractions from all maize samples. Cabanita maize (*Zea mays* L.) from both provinces generally showed white and partially-red pericarp kernels. All Cabanita maize (*Zea mays* L.) samples had antioxidant capacity with both methods and bound phenolic fractions (2583 to 4041  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , 642 to 948  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , with the ABTS<sup>•+</sup> and DPPH<sup>•</sup> methods, respectively) exhibited the higher values than free phenolic fractions (37 to 107  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , 35 to 93  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , with the ABTS<sup>•+</sup> and DPPH<sup>•</sup> methods, respectively). Likewise, hydrophilic fractions showed higher antioxidant capacity ranges (566 a 1069  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , 228 a 398  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , with the ABTS<sup>•+</sup> and DPPH<sup>•</sup> methods, respectively) than lipophilic fractions (63 to 87  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , 24 to 40  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , with the ABTS<sup>•+</sup> and DPPH<sup>•</sup> methods, respectively). Cabanita maize (*Zea mays* L.) samples had higher total antioxidant capacity (free+bound) with both methods and overall hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity ranges were similar among both provinces. Sample AAP (Castilla province) was remarkable due to its highest total, hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity values. More research is needed in the future to further elucidate the factors involved in this bioactive property in Cabanita maize (*Zea mays* L.). Finally, the current study gives the biochemical foundation for future *in vivo* studies to confirm the antioxidant capacity in Cabanita maize (*Zea mays* L.).

### Key words:

Maize Cabanita, *Zea mays* L., antioxidant capacity, free phenolic fraction, bound phenolic fraction, hydrophilic fraction, lipophilic fraction.



## ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA .....	
AGRADECIMIENTO .....	
RESUMEN .....	
ABSTRACT .....	
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS .....	4
Objetivo general .....	4
Objetivos específicos .....	4
VARIABLES E INDICADORES .....	5
HIPÓTESIS .....	6
CAPÍTULO I .....	7
1 MARCO TEÓRICO .....	7
1.1 Maíz ( <i>Zea mays</i> L.) .....	7
1.1.1 Clasificación taxonómica (11) .....	7
1.1.2 Producción: .....	8
1.1.3 Clasificación de la biodiversidad del maíz peruano: .....	9
1.1.4 Usos del maíz: .....	10
1.1.5 Composición química: .....	10
1.2 Compuestos bioactivos: .....	11
1.3 Compuestos fenólicos: .....	12
1.3.1 Ácidos fenólicos: .....	13
1.3.1.1 Ácidos hidroxibenzoicos: .....	13

1.3.1.2	Ácidos hidroxicinámicos: .....	14
1.3.2	Flavonoides:.....	15
1.3.2.1	Isoflavonas: .....	16
1.3.2.2	Flavonas: .....	16
1.3.2.3	Flavanoles: .....	17
1.3.2.4	Flavanonas: .....	17
1.3.2.5	Antocianinas: .....	17
1.3.3	Amidas polifenólicas: .....	18
1.3.4	Otros polifenoles:.....	18
1.3.5	Carotenoides: .....	18
1.4	Compuestos fenólicos y carotenoides en maíz: .....	19
1.5	Estrés oxidativo:.....	21
1.5.1	Radicales libres:.....	22
1.6	Capacidad antioxidante: .....	23
1.6.1	Métodos <i>in vitro</i> para medir capacidad antioxidante:.....	24
1.6.1.1	Métodos de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT):.....	24
1.6.1.1.1	Capacidad de absorbanza de radicales de oxígeno (ORAC): .....	24
1.6.1.1.2	Poder de captación de radicales totales (TRAP): .....	25
1.6.1.2	Métodos de transferencia de un solo electrón (SET): .....	26
1.6.1.2.1	Capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC): .....	26
1.6.1.2.2	Poder antioxidante reductor férrico (FRAP): .....	27
1.6.1.2.3	Capacidad antioxidante reductora cúprica (CUPRAC): .....	28

1.6.1.2.4	Capacidad de inhibición del radical DPPH <sup>•</sup> : .....	29
1.7	Capacidad antioxidante en maíz.....	30
CAPÍTULO II.....		33
2	MATERIALES Y MÉTODOS .....	33
2.1	Ubicación del estudio.....	33
2.2	Materiales.....	33
2.2.1	Material biológico.....	33
2.2.2	Material de laboratorio.....	37
2.2.3	Reactivos.....	37
2.2.4	Equipos e instrumentación.....	38
2.3	Métodos.....	38
2.3.1	Preparación de las muestras y obtención de los extractos .....	38
2.3.1.1	Caracterización visual del color del grano .....	38
2.3.1.2	Preparación de las muestras .....	39
2.3.1.3	Extracción de los compuestos fenólicos .....	39
2.3.1.4	Extracción de compuestos antioxidantes de la fracción hidrofílica y lipofílica: 41	
2.3.2	Métodos de análisis.....	42
2.3.2.1	Porcentaje de humedad .....	42
2.3.2.2	Análisis de capacidad antioxidante por inhibición del radical libre ABTS <sup>•+</sup> : 43	
2.3.2.3	Análisis de capacidad antioxidante por inhibición del radical libre DPPH <sup>•</sup> : . 44	
2.4	Análisis estadístico:.....	45

CAPÍTULO III.....	46
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
3.1 Caracterización visual del color del grano y análisis de humedad.....	46
3.2 Capacidad antioxidante de las fracciones fenólicas libres y ligadas del grano de maíz Cabanita .....	48
3.2.1 Inhibición del radical libre ABTS <sup>•+</sup> .....	48
3.2.2 Inhibición del radical libre DPPH <sup>•</sup> .....	53
3.3 Capacidad antioxidante de las fracciones hidrofílicas y lipofílicas del grano de maíz Cabanita.....	58
3.3.1 Inhibición del radical libre ABTS <sup>•+</sup> .....	58
3.3.2 Inhibición del radical libre DPPH <sup>•</sup> .....	60
4 CONCLUSIONES .....	64
5 RECOMENDACIONES .....	66
6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	67
7 ANEXOS.....	86

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Porcentaje de la producción de maíz amiláceo de acuerdo a la campaña agrícola, según Gerencia Regional de Agricultura, Arequipa (16). .....	8
<b>Figura 2.</b> Estructura de las principales moléculas de ácidos hidroxibenzoicos (28). ....	14
<b>Figura 3.</b> Estructura de las principales moléculas de ácidos hidroxicinámicos (30). ....	15
<b>Figura 4.</b> Estructura de las principales moléculas de los flavonoides (23). .....	16
<b>Figura 5.</b> Reacción por el método ORAC (67). .....	25
<b>Figura 6.</b> Reacción de reducción por el método TEAC (68). .....	27
<b>Figura 7.</b> Reacción de reducción por el método FRAP (64). .....	28
<b>Figura 8.</b> Reacción de reducción por el método CUPRAC (67). .....	29
<b>Figura 9.</b> Reacción de reducción por el método DPPH (68). .....	30
<b>Figura 10.</b> Esquema de trabajo para la extracción de la fracción fenólica libre y ligada .....	40
<b>Figura 11.</b> Esquema de trabajo de extracción de la fracción hidrofílica y lipofílica. ....	42
<b>Figura 12.</b> Ejemplo de microplaca con el método in vitro de inhibición del radical libre ABTS <sup>•+</sup> .....	87
<b>Figura 13.</b> Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción libre, ligada e hidrofílica aplicando el método in vitro de inhibición de radical libre ABTS <sup>•+</sup> .....	88
<b>Figura 14.</b> Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción lipofílica aplicando el método de inhibición ABTS <sup>•+</sup> .....	89
<b>Figura 15.</b> Ejemplo de microplaca con el método in vitro de inhibición del radical libre DPPH <sup>•</sup> .....	92

**Figura 16.** Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción libre, ligada e hidrofílica aplicando el método in vitro de inhibición de radical libre DPPH<sup>+</sup> ..... 93

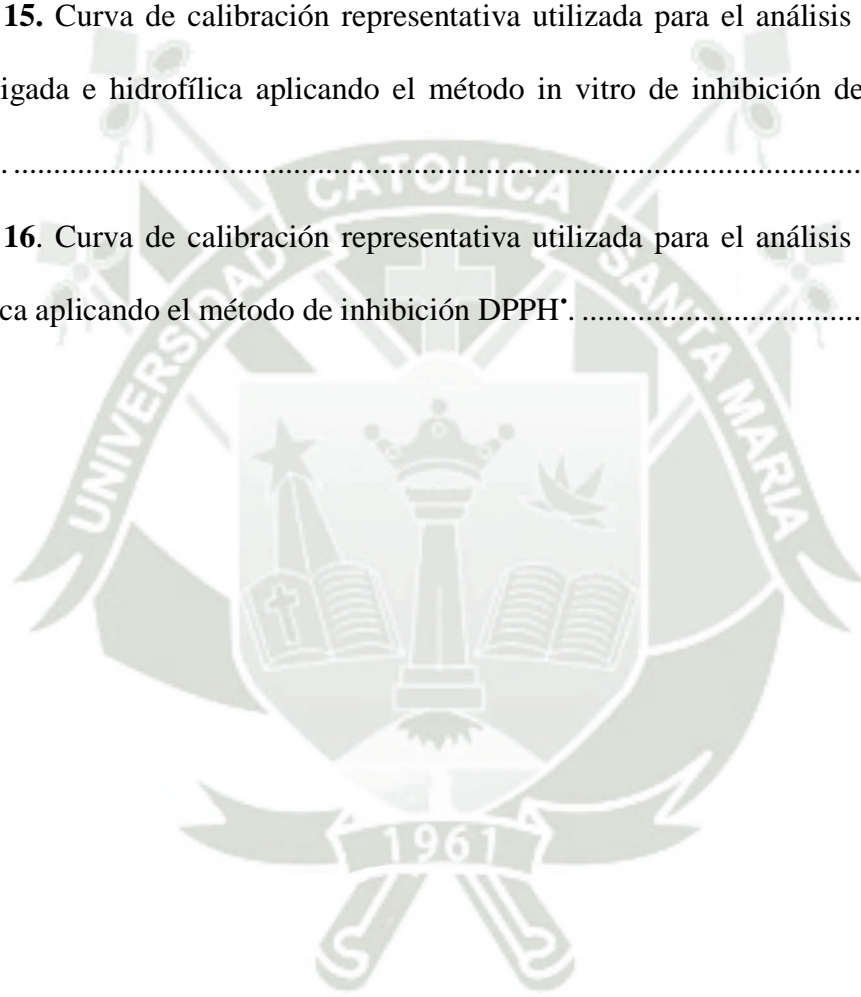
**Figura 17.** Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción lipofílica aplicando el método de inhibición DPPH<sup>•</sup> ..... 94



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición del maíz amarillo, maíz morado y pan de molde en 100 g de alimento respectivamente. ....	11
<b>Tabla 2.</b> Clasificación de radicales libres. ....	23
<b>Tabla 3.</b> Información de los puntos geográficos y códigos asignados al germoplasma colectado. ....	34
<b>Tabla 4.</b> Fotos de las muestras (mazorcas y granos) colectadas de los 5 puntos geográficos en la provincia de Caylloma. ....	35
<b>Tabla 5.</b> Fotos de las muestras (mazorcas y granos) colectadas de los 5 puntos geográficos en la provincia de Castilla. ....	36
<b>Tabla 6.</b> Porcentaje de humedad de las muestras de maíz Cabanita evaluadas. ....	47
<b>Tabla 7.</b> Capacidad antioxidante por el método de inhibición del radical libre ABTS <sup>•+</sup> ( $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ ) en las fracciones fenólicas libres y ligadas. ....	49
<b>Tabla 8.</b> Capacidad antioxidante total (fracción fenólica libre + fracción fenólica ligada) por el método de inhibición del radical libre ABTS <sup>•+</sup> de muestras de maíz y otros granos de distinto origen. ....	53
<b>Tabla 9.</b> Capacidad antioxidante por método de inhibición de radical libre DPPH <sup>•</sup> ( $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ ) en las fracciones fenólicas libres y ligadas. ....	53
<b>Tabla 10.</b> Capacidad antioxidante total (fracción fenólica libre + fracción fenólica ligada) por el método de inhibición del radical DPPH <sup>•</sup> de muestras de maíz y otros granos de distinto origen. ....	56
<b>Tabla 11.</b> Capacidad antioxidante por método de inhibición de radical libre ABTS <sup>•+</sup> y DPPH <sup>•</sup> ( $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g de bs}$ ) de las fracciones hidrofílicas y lipofílicas. ....	59
<b>Tabla 12.</b> Caylloma y Castilla, periodo agosto del 2018 a mayo del 2019. ....	86

<b>Tabla 13.</b> Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción libre, ligada e hidrofílica aplicando el método in vitro de inhibición del radical libre ABTS <sup>•+</sup> .....	87
<b>Tabla 14.</b> Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción lipofílica aplicando el método de inhibición ABTS <sup>•+</sup> .....	88
<b>Tabla 15.</b> Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción libre, ligada e hidrofílica aplicando el método in vitro de inhibición del radical libre DPPH <sup>•</sup> .....	93
<b>Tabla 16.</b> Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción lipofílica aplicando el método de inhibición DPPH <sup>•</sup> .....	94



## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Temperaturas máximas y mínimas de lugares cercanos a los puntos de colección y manejo agronómico. ....	86
<b>Anexo 2.</b> Ejemplo de microplaca y curvas de calibración con el método in vitro de inhibición del radical libre ABTS <sup>•+</sup> .....	87
<b>Anexo 3.</b> Ejemplo de cálculo para la determinación de $\mu$ moles de trolox eq/100 g BS. ....	89
<b>Anexo 4.</b> Análisis estadístico de los resultados por el método de inhibición del radical libre ABTS <sup>•+</sup> .....	90
<b>Anexo 5.</b> Ejemplo de microplaca y curvas de calibración con el método in vitro de inhibición del radical libre DPPH <sup>•</sup> .....	92
<b>Anexo 6.</b> Análisis estadístico de los resultados por el método de inhibición del radical libre DPPH <sup>•</sup> .....	95
<b>Anexo 7.</b> Certificado de Cumplimiento Reconocido Internacionalmente (CCRI) ABSCH-IRCC-PE-256874-1 .....	98

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad cada vez son más las enfermedades crónicas que se asocian al estrés oxidativo del cuerpo como las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, enfermedades neurodegenerativas y también el cáncer (1). Los elevados niveles de radicales libres ocasionan daños en los lípidos, proteínas y el ácido desoxirribonucleico celular, muchos cánceres son el resultado entre la interacción de radicales libres y el ADN, que conduciría a mutaciones que afectan el ciclo celular y que luego desencadenarían en neoplasias (1).

La diabetes mellitus tipo 1 y 2 también es una enfermedad directamente asociada a una mayor producción de radicales libres (2), además la obesidad y el sobrepeso generan un excesivo cúmulo de grasa con una gran producción de adipocitocinas, generando hipoxia en las células y desencadenando un elevado estado de estrés oxidativo sistémico, ocasionando un impacto negativo en el síndrome metabólico (3). Incluso se les atribuye a las radicales libres posibles reacciones protrombóticas en la diabetes, que conllevarían a complicaciones cardiovasculares (2).

Estos radicales libres pueden ser inhibidos por acción de antioxidantes endógenos en conjunto con antioxidantes exógenos que se obtienen a través de la dieta diaria (4). Hoy en día es mayoritario el consumo de alimentos procesados (altamente calóricos y poco balanceados a nivel nutricional), en reemplazo de alimentos naturales de origen vegetal y mínimamente procesados, con mejor valor nutritivo y que generalmente presentan compuestos antioxidantes, los cuales, a través de su consumo frecuente podrían disminuir el estrés oxidativo del cuerpo y los factores de riesgo de diferentes patologías asociadas (2).

Diferentes estudios han evidenciado la capacidad antioxidante del maíz y su relevancia como alimento funcional. En un estudio realizado en cereales, incluido el maíz, se determinó que

poseen compuestos fenólicos los cuales se correlacionaron con una actividad antioxidante *in vitro* significativa (5).

El maíz Cabanita es cultivado en la zona altoandina de la región Arequipa (6), siendo un producto característico de las provincias de Caylloma y Castilla; este maíz amiláceo podría tener un aporte importante tanto a nivel de macronutrientes como micronutrientes como otros maíces amiláceos (7), además de ello ha presentado metabolitos secundarios de interés científico (8) que podrían estar asociados a diferentes propiedades funcionales relevantes a la salud como propiedades antioxidantes u otras aún no investigadas.

Se ha reportado la presencia de compuestos fenólicos en diferentes tipos de maíz amiláceo de distintas coloraciones. González-Muñoz et al. (9) enfatiza la presencia de ácidos fenólicos, como ácido p-cumárico y ferúlico en razas de maíz local de Chile, esta información coincide con Ranilla et al. (8), que estudiaron diferentes granos incluyendo algunas muestras de maíz Cabanita.

Tanto el ácido ferúlico como el ácido p-cumárico son relevantes porque se han correlacionado directamente con la actividad antioxidante en el maíz (9). Sin embargo, los perfiles y concentraciones de estos metabolitos pueden variar en el maíz según las condiciones ambientales de cultivo entre otros factores agroclimáticos. Las zonas altas de Arequipa presentan generalmente mayor intensidad de rayos ultravioleta, además se caracterizan por tener clima seco y semiárido, con una humedad relativa promedio de 46% (10), estos factores ambientales pueden incidir tanto en las características de los componentes fitoquímicos como en sus propiedades bioactivas, consecuentemente en la actividad antioxidante. Por todo lo antes mencionado, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la capacidad antioxidante del maíz tipo Cabanita (*Zea mays* L.) cultivado en la región Arequipa, de muestras procedentes de distintos puntos geográficos de las provincias de Castilla y Caylloma. Las muestras de maíz Cabanita que fueron evaluadas en la presente tesis correspondieron a germoplasma colectado

previamente en un estudio anterior. Los resultados de esta investigación tendrían una relevancia científica, debido a que no existen antecedentes de estudios sobre los beneficios antioxidantes del maíz Cabanita, información que permitiría valorizar y conservar este recurso alimentario para evitar su posible erosión genética y consecuente pérdida de su biodiversidad.



## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Evaluar la capacidad antioxidante del maíz tipo Cabanita (*Zea mays* L.) de la región Arequipa.

### Objetivos específicos

- Determinar la capacidad antioxidante en las fracciones fenólicas libre y ligada a la fibra dietética del maíz tipo Cabanita procedente de dos provincias (Caylloma y Castilla) aplicando los métodos de inhibición de los radicales libres ABTS<sup>•+</sup> (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) y DPPH<sup>•</sup> (2,2- Difenil-1-picrilhidrazilo).
- Determinar la capacidad antioxidante en las fracciones hidrofílicas y lipofílicas del maíz tipo Cabanita procedente de dos provincias (Caylloma y Castilla) aplicando los métodos de inhibición de los radicales libres ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>.
- Evaluar si la capacidad antioxidante varía según la provincia de origen de cultivo del maíz tipo Cabanita.

### VARIABLES E INDICADORES

<b>VARIABLES</b>	<b>VARIABLE</b>	<b>INDICADORES</b>	<b>UNIDADES</b>
<b>Independientes</b>	Granos de maíz	Color Altitud	"_" m.s.n.m
<b>Dependientes</b>	Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> de las fracciones fenólicas ligadas y libres	Inhibición de los radicales libres ABTS y DPPH por las fracciones fenólicas libres y ligadas.	µmoles equivalentes de Trolox (ET) por 100 g en base seca (bs) de maíz
	Capacidad antioxidante <i>in vitro</i> de las fracciones hidrofílicas y lipofílicas	Inhibición de los radicales libres ABTS y DPPH por las fracciones hidrofílicas y lipofílicas.	µmoles ET por 100 g bs de maíz

## HIPÓTESIS

Ya que existen antecedentes de la presencia de compuestos antioxidantes como los fenólicos y carotenoides en el grano de maíz es posible que la biodiversidad del maíz tipo Cabanita de Arequipa presente una importante capacidad antioxidante *in vitro* y que existan diferencias según la provincia de origen.



## CAPÍTULO I

### MARCO TEÓRICO

#### 1.1 Maíz (*Zea mays* L.)

El maíz es considerado como la planta que más se ha domesticado y evolucionado, es catalogado como uno de los tres cereales más importantes en la dieta nutritiva mundial. El origen del maíz está en América Central, hallando la más antigua evidencia en México, este país conserva *ex situ* (en bancos de germoplasma) alrededor de 9,317 accesiones (o colecciones) de maíz, siguiendo el Perú como el segundo país con la mayor colección de accesiones de maíz a nivel mundial (3,931 accesiones) (11, 12).

Sin embargo, el Perú presenta la mayor diversidad fenotípica de maíz amiláceo, el cual se caracteriza por tener un endospermo blanco, también presenta el germoplasma más rico en rasgos morfológicos y biológicos (13).

El maíz tipo Cabanita se encuentra catalogado dentro de la familia del maíz amiláceo, es producido exclusivamente en la sierra sur peruana, este maíz es dulce y se cultiva en las regiones naturales Yunga, Quechua y Suni entre los 1500 a 3800 msnm (14). En la región Arequipa, generalmente se cultiva en la provincia de Caylloma (distrito de Cabanaconde), desde donde se ha extendido hasta varios distritos de la provincia de Castilla (6).

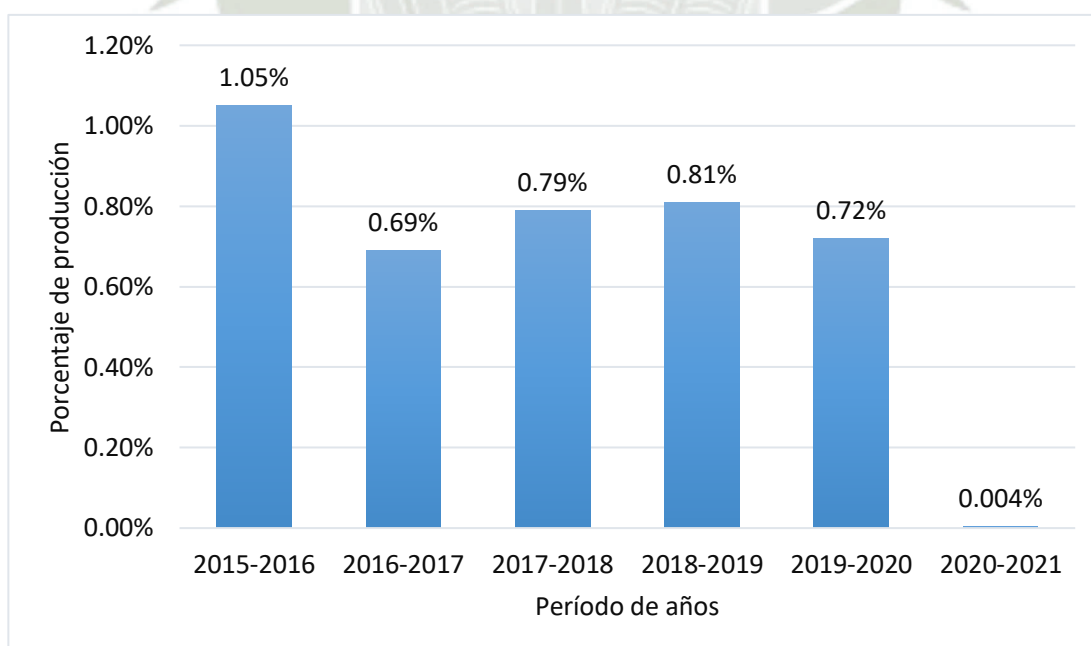
##### 1.1.1 Clasificación taxonómica (11)

Reino	: <i>Plantae</i>
División	: <i>Angiospermae</i>
Subdivisión	: <i>Pterapsidae</i>
Clase	: <i>Liliopsida</i>
Subclase	: Monocotiledóneas
Orden	: <i>Poales</i>
Familia	: <i>Poaceae</i>
Tribu	: <i>Maydeae</i>
Género	: <i>Zea</i>
Especie	: <i>Zea mays</i> L.

### 1.1.2 Producción:

El maíz ha sido catalogado como el segundo alimento con mayor producción mundial entre los cultivos primarios, siendo el primero en cuanto a cereales de consumo, según estadísticas del 2019 de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) (15). Los Estados Unidos, China y Brasil son los principales productores, mientras el Perú ocupa el número 51 en producción mundial de maíz con 1579796 toneladas anuales (15).

En el Perú la producción de este grano se concentra en la zona altoandina. En la región Arequipa, de acuerdo a datos de la campaña agrícola de la Gerencia Regional de Agricultura desde el 2015 hasta el 2021, la producción de maíz tipo chala (para forraje) es el de mayor interés pues constituye un 99,87% de la producción total, mientras que la producción de otros tipos de maíz como el amiláceo (dentro del cual se encuentra el maíz tipo Cabanita) está disminuyendo hasta menos del 1% de producción en los últimos años (figura 1) (16).



**Figura 1.** Porcentaje de la producción de maíz amiláceo de acuerdo a la campaña agrícola, según Gerencia Regional de Agricultura, Arequipa (16).

### 1.1.3 Clasificación de la biodiversidad del maíz peruano:

La biodiversidad del maíz peruano, se clasifica en razas las cuales varían según sus características físicas y morfológicas y de acuerdo a las zonas geográficas de cultivo. La raza se define como: una población que posee genes comunes que determinan sus características como rasgos morfológicos y fisiológicos habituales (17).

Tomando en cuenta datos biométricos y características citológicas, Salhuana (18) ha reportado la clasificación de las razas de maíz en cinco grupos según su grado de evolución:

- Razas primitivas: confite morocho, confite puntiagudo, kculli, confite puneño y enano.
- Razas derivadas de las primitivas: rabo de zorro, chaparriño, chullpi, huayleño, paro, morocho, huancavelicano, ancashino, shajatu, pisccorunto, Cuzco cristalino amarillo, Cuzco, granada, uchuquilla, sabanero, piricincó, mochero, pagaladroga y alazán.
- Razas de reciente derivación: huachano, chancanayo, peria, rienda, San Gerónimo huancavelicano, Cuzco gigante y sub razas, arequipeño, chimlos y marañón.
- Razas introducidas: pardo, arizona, alemán, cubano dentado amarillo y chuncho.
- Razas incipientes: jora, coruca, morocho cajabambino, morado canteño y sarco.
- Razas imperfectamente definidas: ajaleado, San Gerónimo, perlilla, tumbesino, colorado, chancayano amarillo, amarillo huancabamba, huarmaca y blanco ayabaca (18).

En una reciente actualización sobre la clasificación racial del maíz peruano realizada por el Ministerio del Ambiente se ha incluido al maíz Cabanita como una nueva raza, a pesar de que se ha venido cultivando desde tiempos pre-incas y cuyo cultivo se extendería en las zonas altoandinas de las regiones de Arequipa, Moquegua y Tacna (6). Sin embargo, aún son necesarios estudios a nivel genético y molecular para confirmar si todo el maíz cultivado en estas zonas corresponde a la raza Cabanita.

#### 1.1.4 Usos del maíz:

La FAO definió tres aplicaciones para esta planta; alimento, forraje y materia prima para la industria (11). Según datos recientes, la producción de maíz en su mayoría está destinada a ser usada como alimento animal, producción de bioetanol, consumo humano y fines industriales (15).

El maíz es una materia prima de fácil acceso, con una de las mayores producciones a nivel mundial, por ello tiene varias aplicaciones y su uso es prioritario para diferentes fines.

En el país su uso como alimento es muy amplio, desde el consumo directo de sus tallos como un tipo de caña dulce y la infinidad de formas de preparación del grano y de mazorca entera: directo como choclo (cocido), seco como tostado o mote, como harina es usada en desayunos, sopas o aperitivos, también es utilizado para la elaboración de chicha morada, chicha de jora, chicha blanca o productos fermentados similares, entre otros.

#### 1.1.5 Composición química:

En la tabla 1 se presenta la composición proximal de algunos tipos de maíz comparado con la composición del pan de molde (de consumo común) según las Tablas peruanas de composición de alimentos (7).

Se puede apreciar que, a nivel de macronutrientes como proteínas y carbohidratos totales, los valores son comparables entre los tres alimentos, sin embargo, el grano de maíz (morado o amarillo) presenta mayores contenidos de minerales como el zinc, hierro y fósforo, y de vitaminas como  $\beta$ -caroteno, vitamina A y niacina.

**Tabla 1.** Composición del maíz amarillo, maíz morado y pan de molde en 100 g de alimento respectivamente.

Componente	Maíz amarillo	Maíz morado	Pan de Molde
Calorías (kcal)	355	355	317
Proteína (g)	6,7	7,3	6,8
Grasa Total (g)	4,8	3,4	2,5
Carbohidratos Totales (g)	73,6	76,2	69,2
Calcio (mg)	6	12	13
Fósforo (mg)	267	328	60
Zinc (mg)	1,51	-	0,74
Hierro (mg)	1,92	0,20	0,40
$\beta$ -caroteno equivalentes totales ( $\mu$ g)	352	-	-
Vitamina A equivalentes totales ( $\mu$ g)	61	8	0
Tiamina (mg)	0,29	0,38	0,08
Riboflavina (mg)	0,06	0,22	0,16
Niacina (mg)	2,17	2,84	1,22
Vitamina C (mg)	0,70	2,10	0.00

**Fuente:** Adaptado de las Tablas peruanas de composición de alimentos (2017) (7).

## 1.2 Compuestos bioactivos:

Diferentes autores definen que los compuestos bioactivos son componentes químicos que se encuentran en distintos alimentos de consumo habitual pero estos constituyen un mínimo valor de su composición total, pueden ser esenciales y no esenciales, estos presentan actividad biológica, es decir su función no se limita solo al aporte nutricional, sino que tienen un efecto positivo sobre la salud humana, previniendo o disminuyendo los factores de riesgo de distintas

enfermedades crónicas cuando son consumidos de manera frecuente como parte de la dieta diaria a niveles no tóxicos (19,20,21).

Se presentan algunos ejemplos de compuestos bioactivos en alimentos de consumo habitual en la dieta humana:

- Alcaloides: cafeína.
- Compuestos fenólicos: ácido p-cumárico, ácido ferúlico.
- Carotenoides:  $\beta$ -caroteno, luteína, zeaxantina.
- Fitoesteroles: campesterol, sitostanol,  $\beta$ -sitoesterol, campestanol.
- Flavonoides: quercitina, kaempferol, catequina, epicatequina, proantocianidinas,
- Estilbenos: resveratrol (21).

Entre los que se presentan en mayor concentración y están ampliamente distribuidos en alimentos de origen vegetal, destacan los compuestos fenólicos y carotenoides, los cuales están relacionados a la capacidad antioxidante de diferentes alimentos, incluido el maíz (5, 8, 9).

### **1.3 Compuestos fenólicos:**

Son metabolitos secundarios que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas y alimentos de origen vegetal (22), pueden ser sintetizados por las vías del ácido shikímico, la pentosa fosfato y el fenilpropanoide (23). En su estructura poseen un anillo aromático, que puede tener uno o más grupos hidroxilo (24), estos grupos hidroxilo influyen directamente en su actividad antioxidante, por el número o posición que estos tengan con el grupo funcional carboxilo (23). Reducen el estrés oxidativo causado por el exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS) (24), actuando como donantes de hidrógeno o electrones, aparte de su actividad quelante de ciertos metales como hierro y cobre que favorecen reacciones de oxidación (25).

De acuerdo a su estructura química se clasifican principalmente como; ácidos fenólicos, flavonoides, amidas polifenólicas y otros polifenoles (24). El ácido ferúlico y otros derivados del ácido cinámico son los compuestos fenólicos más relevantes que se encuentran ampliamente en cereales integrales como; trigo, arroz, maíz, entre otros (26).

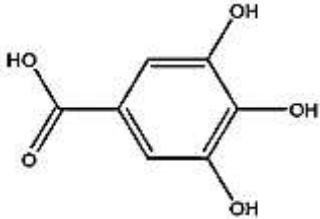
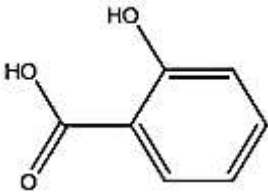
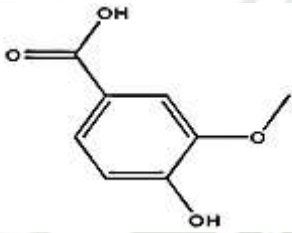
### **1.3.1 Ácidos fenólicos:**

Son aquellos compuestos fenólicos que poseen en su estructura química un grupo ácido carboxílico. Estos polifenoles están asociados al mecanismo de defensa de los cultivos vegetales contra los diferentes factores bióticos y abióticos, que influyen directamente en su contenido (26). En su mayoría se encuentran de forma ligada, unidos a macromoléculas como amidas, ésteres o glucósidos (27), en granos y semillas se encuentran ligados principalmente a la fibra dietética por lo que para ser liberados requieren una hidrólisis ácida o alcalina o mediante enzimas, siendo la hidrólisis alcalina la que da mejores resultados (24). Aunque en menor cantidad estos compuestos también pueden hallarse en su forma libre, que son fácilmente extraíbles con distintos solventes (27, 24).

Los ácidos fenólicos se pueden dividir en dos tipos principales:

#### **1.3.1.1 Ácidos hidroxibenzoicos:**

Poseen una estructura general comprendida por siete átomos de carbono ( $C_6-C_1$ ) (28,29), son derivados del ácido benzoico, poseen variaciones en su anillo aromático como hidroxilaciones y metoxilaciones (25), entre los más importantes se encuentran; ácido gálico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido salicílico, ácido vanílico, etc (figura 2) (28,29). Diferentes alimentos contienen estos compuestos como cereales, bayas, nueces, frutas como la granada, verduras y tés (29,25). En su mayoría se hallan en forma ligada a ácidos orgánicos, glicosilados o unidos a la celulosa, proteína o lignina de las células vegetales (29), además de su capacidad antioxidante, poseen un efecto hepatoprotector (25).

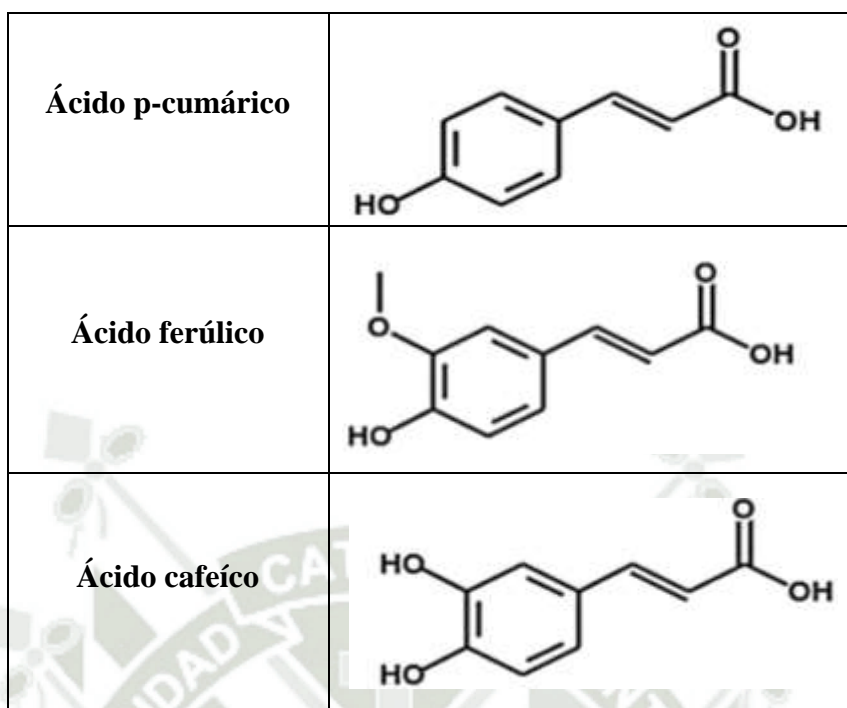
Ácido gálico	
Ácido salicílico	
Ácido vanílico	

**Figura 2.** Estructura de las principales moléculas de ácidos hidroxibenzoicos (28).

### 1.3.1.2 Ácidos hidroxicinámicos:

Su estructura básica es un fenilpropanoide ( $C_3-C_6$ ), con un doble enlace en la cadena lateral la cual puede tener una configuración cis o trans, son derivados del ácido cinámico (figura 3) (29, 25). Estos pueden hallarse ligados a la fibra vegetal, también pueden estar conjugados o en otros casos esterificados (30). Destacan el p-cumárico, ácido ferúlico, ácido cafeico, y ácido clorogénico (31).

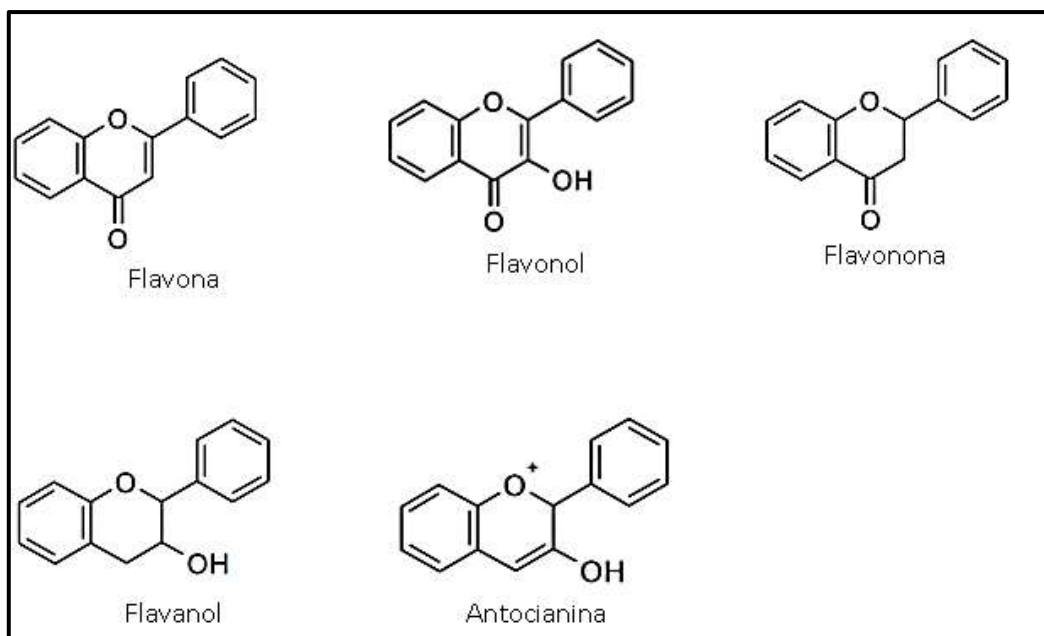
Sus principales fuentes son frutas, como manzana, cereza, bayas, melocotones y algunos cítricos (25), de igual forma están presentes en vegetales como brócoli, tomate, lechuga, también en cereales, semillas y especias (28). Además de poseer capacidad antioxidante, se ha reportado que algunos ácidos hidroxicinámicos presentan propiedades antiproliferativas en células cancerígenas (5, 25).



**Figura 3.** Estructura de las principales moléculas de ácidos hidroxicinámicos (30).

### 1.3.2 Flavonoides:

Tienen una estructura general de 15 átomos de carbono ( $C_6-C_3-C_6$ ) (24) (figura 4), distribuidos como anillos, donde A y B son anillos aromáticos que se enlazan por un puente de tres carbonos, en su mayoría en forma de anillo heterocíclico, denominado anillo C (24, 25). Estos compuestos poseen un bajo peso molecular y son derivados de aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y tirosina (32), además son considerados el grupo más grande de compuestos fenólicos, puesto que representan a más de la mitad de los aproximadamente 8000 compuestos fenólicos (25). Se considera que son los responsables del mecanismo de defensa de las plantas, ya sea a factores ambientales, como el clima o los rayos ultravioleta, también contra ciertos depredadores como plagas o insectos, además de atribuirle el control en el traslado de las hormonas vegetales llamadas auxinas relacionadas con el crecimiento y desarrollo de las plantas (33).



**Figura 4.** Estructura de las principales moléculas de los flavonoides (23).

Los principales flavonoides son los siguientes:

#### 1.3.2.1 Isoflavonas:

La diferencia en su estructura base es que el anillo B está unido en la posición C<sub>3</sub>, los más representativas son la genisteína y la daidzeína (24). Conocidas también como fitoestrógenos, se ha reportado que pueden regular el ciclo menstrual, disminuir el riesgo de padecer cáncer de mamá y ayudar en las complicaciones de la menopausia.

En las plantas algunos de estos compuestos poseen propiedades insecticidas (34). Se encuentran presentes en legumbres, principalmente en la soja y tréboles rojos (24).

#### 1.3.2.2 Flavonas:

También se conocen como 2-fenilcromonas (34), poseen en su estructura un grupo cetona entre el carbono 2 y 3, además en C<sub>2</sub> se encuentra unido el anillo B (32), las más comunes son la apigenina y la luteolina que se encuentra en especias, hierbas, frutas, verduras y cereales (25). Pueden tener propiedades antiinflamatorias, antiespasmódicas, antibacterianas y antioxidantes (34).

### 1.3.2.3 Flavanoles:

Son conocidos también como flavan-3-oles y como catequinas, en su estructura no poseen un doble enlace entre el carbono 2 y 3 como en la mayoría de flavonoides (24), las más conocidas son las catequinas, epicatequina y derivados (24), y se les atribuye en su mayoría una coloración roja (25). Estos compuestos se diferencian por no encontrarse de forma glicosilada en alimentos (34). Los alimentos donde se encuentran son té, vino, chocolate, frutas, se les ha atribuido propiedades anticancerígenas, antiescleróticas, antidiabéticas, entre otros (34).

### 1.3.2.4 Flavanonas:

Suelen ser incoloras, blancas o parduzcas y tienen baja solubilidad en agua (21). Se encuentran en especias, hierbas, frutos secos, verduras, semillas, legumbres, cereales, frutas cítricas, tomates (21, 34). Sus principales propiedades son como antioxidantes, anticancerígeno, cardiovascular y antivirales (34).

### 1.3.2.5 Antocianinas:

Estos compuestos difieren de los demás flavonoides por ser capaces de generar cationes flavilio, esta estructura es muy relevante puesto que la actividad antioxidante de las antocianinas está asociada a este catión (35, 36), son responsables de la pigmentación roja, azul y violeta en flores, frutas y verduras, al igual que en algunos granos como el arroz negro, frejol negro o el maíz morado (24). Estos colores son resultado del número y orientación que poseen los grupos hidroxilo y metoxilo en su estructura molecular, de igual forma influyen en su capacidad antioxidante (35). En las plantas comúnmente se encuentran a 6 antocianidinas (sin azúcar): pelargonidina, peonidina, cianidina, malvidina, petunidina y delphinidina, las cuales en general se unen a solo un glucósido para formar las antocianinas, siendo la cianidina 3-glucósido la que se encuentra comúnmente en diversas plantas, pero esto depende de la fuente (37). Estas son solubles en disolventes polares, usando comúnmente metanol con pequeñas cantidades de ácido

clorhídrico o fórmico, también se usa acetona (37). Disminuyen la tendencia de enfermedades oculares, cardiovasculares, obesidad, pueden contrarrestar la diabetes, tienen actividad anticancerígena, poseen un efecto neuroprotector (35, 36). Se encuentran en mayor cantidad en arándanos, cerezas, fresas, uvas y vino tinto (35).

### **1.3.3 Amidas polifenólicas:**

Son polifenoles que poseen en su estructura una amida, tienen grupos funcionales con nitrógeno, los más conocidos son los capsaicinoides que otorgan el picor a diferentes frutos como chile, rocoto, entre otros, y se asocian a propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (38). Las avenantramidas son amidas polifenólicas propias de la avena y han sido asociadas de igual forma con actividad antioxidante y la inhibición de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (38, 39).

### **1.3.4 Otros polifenoles:**

El resveratrol que se encuentra en uvas, el ácido elágico y derivados comúnmente encontrado en fresas, frambuesas, los lignanos que se encuentran en el lino, sésamo y distintos granos, entre otros de importancia para la salud humana (24).

### **1.3.5 Carotenoides:**

Estos conocidos antioxidantes son un subgrupo de compuestos de isoprenoides y se han caracterizado más de 600 (39). Generalmente tienen una estructura básica formada por cuarenta átomos de carbono, también conocida como tetraterpeno, donde se distribuyen enlaces dobles conjugados a lo largo de su cadena de carbono (40). Son pigmentos vegetales liposolubles, en su mayoría generan coloraciones que van entre amarillo, rojo, rosa y naranja (37), debido a su presencia resulta la pigmentación de animales, plantas, frutas, verduras y microorganismos (41). Predomina en la naturaleza su configuración trans que resulta más estable

termodinámicamente en comparación de la configuración cis, pudiendo existir más configuraciones debido a la isomería de los dobles enlaces (42).

Se dividen en dos grupos:

- Xantófilas: Son derivados oxigenados de los carotenos como la luteína, capsantina, violaxantina, neoxantina y zeaxantina (37,42).
- Carotenos: Son hidrocarburos lineales que pueden tener anillos cíclicos en uno o ambos extremos de la molécula (37), el más representativo es el  $\beta$ -caroteno, siendo este precursor de la vitamina A, se encuentran en diferentes alimentos, como zanahorias, calabazas, espinacas, tomates, sandías y frambuesas, entre otros (39).

#### **1.4 Compuestos fenólicos y carotenoides en maíz:**

En el caso de los granos incluyendo los cereales como el maíz, los compuestos fenólicos en su mayoría se encuentran de forma ligada a la pared celular constituyendo alrededor de un 80% del contenido de compuestos fenólicos, mientras que las formas libres solo se presentan entre 18% a 23% del contenido total (5,9,43,44). Los compuestos fenólicos ligados o fracción ligada se extraen comúnmente de este tipo de muestras a través de la aplicación de una hidrólisis alcalina para liberarlos de la fibra dietética (45,46,47), mientras que la fracción fenólica libre, conformada principalmente por antocianinas y otros flavonoides en granos pigmentados (morado, rojo y variantes) se extraen con diferentes solventes polares (37,48). Generalmente los compuestos fenólicos en su forma libre permanecen solubles en el intestino delgado donde son absorbidos parcialmente, mientras que los compuestos fenólicos ligados pasan al intestino grueso junto con la fibra dietética a la cual se encuentran asociados, donde son parcialmente liberados por las enzimas de la microbiota del colon ejerciendo una serie de efectos biológicos benéficos (44).

Los compuestos fenólicos que destacan en el maíz, son el ácido ferúlico, seguido del ácido p-cumárico que se encuentran en el pericarpio del grano (5,9,44,49,50,51,52), también se encuentran carotenoides, antocianinas y fitoesteroles (49).

En 4 accesiones de maíz de Italia se detectaron compuestos fenólicos del tipo flavonoide, aunque solo 3 muestras correspondientes al maíz más tradicional presentaron cantidades bajas de  $\beta$ -caroteno y el contenido total de carotenoides osciló entre 19.55 a 22.94  $\mu\text{g/g}$  dando relevancia al consumo de las variedades locales que podrían brindar beneficios para la salud (43). Los carotenoides más representativos en maíz son la luteína y zeaxantina los cuales se extraen con solventes orgánicos como acetona, éter dietílico, y diclorometano (5,43,49).

El ácido ferúlico y el ácido p-cumárico son los ácidos fenólicos más relevantes en las fracciones fenólicas ligadas del maíz, así lo han demostrado diferentes estudios. En un trabajo realizado en México, se evaluaron 18 accesiones de maíz que presentaron un contenido de ácido ferúlico muy similar concentrándose en la fracción fenólica ligada, y fue el compuesto que presentó una mayor concentración seguido del ácido p-cumárico (44). Estos resultados fueron similares a otra investigación donde se evaluaron 15 genotipos nativos del mismo país (50). Igualmente, el ácido ferúlico y p-cumárico fueron los fenólicos mayoritarios en 33 accesiones de maíz correspondientes a 14 razas de Chile, además se correlacionó la presencia de ácido ferúlico con la capacidad antioxidante *in vitro* determinada con los métodos de inhibición de los radicales libres por DPPH<sup>\*</sup> y ABTS<sup>++</sup> (9). Los mismos autores reportaron concentraciones menores de ácidos fenólicos o sus derivados como la vainillina, ácido vanílico y ácido protocatéquico en las fracciones fenólicas libres de algunas accesiones de maíz.

El contenido fenólico total (libre + ligada) es variable en las investigaciones mencionadas, el maíz blanco presentó 170 mg Equivalentes de Ácido Gálico (EAG)/100 g base seca (bs) (44) y 410 mg EAG/g bs (50), siendo estos valores inferiores al maíz de pigmentación amarilla que presentó un valor de 551 mg EAG/100 g bs (44) y de 467 mg EAG/100 g bs (50). En el caso

de las muestras de maíz de Chile de diversa pigmentación (desde de blanco a rojo) se reportaron contenidos fenólicos totales entre 132 a 263 mg EAG/100 g bs (9).

Recientemente en el 2019 se caracterizó por primera vez la composición fenólica de muestras de maíz peruano incluyendo 5 razas de maíz de la región Arequipa, entre ellas el maíz tipo Cabanita (8). En este estudio se reportó que los compuestos fenólicos se encuentran principalmente ligados a la fibra dietética (79-86%), aunque los maíces con pigmentación morada (raza Kculli) presentaron una alta concentración de fenólicos libres, principalmente antocianinas que se correlacionaron significativamente con una elevada capacidad antioxidante y otras propiedades biológicas como potencial hipoglucémico y anti-obesidad usando métodos analíticos *in vitro* (8).

### **1.5 Estrés oxidativo:**

Definido como un fenómeno que es causado por un desequilibrio entre la producción excesiva de las especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS) y su inhibición por el sistema antioxidante endógeno, este desequilibrio altera la estructura y función en cualquier célula u órgano, provocan daño celular y tisular (53,54,55). Su ocurrencia en el cuerpo humano ha sido relacionada con diferentes patologías crónicas como enfermedades cardíacas, respiratorias, óseas, multiorgánicas, la diabetes, enfermedades neurodegenerativas y el cáncer (1,4,56).

Las ROS en cantidades excesivas producen la oxidación de distintas macromoléculas importantes, entre ellas se encuentran las proteínas puesto que los ROS oxidan los aminoácidos que las componen y en consecuencia afectan su estructura, actividad y función (54). En cambio, si las ROS oxidan ácidos grasos poliinsaturados se desencadena la lipoperoxidación, dañando la membrana celular, además de modificar su estructura y ocasionando su muerte celular (4).

El ácido desoxirribonucleico (ADN) también puede ser alterado por este fenómeno, al generar errores en la transcripción y traducción de ácido ribonucleico (ARN), debido al rompimiento de una o ambas cadenas del ADN como consecuencia de la liberación de bases nitrogenadas unidas a la desoxirribosa por un radical hidroxilo (4,57).

Este proceso puede ser inducido por diferentes factores como el estilo de vida, el sedentarismo, el consumo mayoritario de alimentos altamente procesados, la contaminación ambiental, el humo del cigarrillo, productos químicos industriales y además ciertos medicamentos, entre otros factores (1).

### 1.5.1 Radicales libres:

Estas especies químicas pueden ser átomos, moléculas o inclusive iones, que pueden tener uno o más electrones no apareados en su capa externa, debido a su alta reactividad estos radicales libres pueden extraer electrones de otras moléculas a su alrededor (1,58,59,60). Se les atribuye a estos radicales libres roles que benefician en el cuerpo humano siempre y cuando estos se encuentren en concentraciones bajas, por ejemplo, como señalizadores celulares (58), pero en concentraciones altas son perjudiciales para diferentes procesos fisiológicos del cuerpo humano (59).

En la tabla 2 se presenta la clasificación de los radicales libres según Sharma et al. (61). En la vida diaria son varias las formas en que se genera un radical libre, internamente mediante el proceso metabólico de las células del cuerpo humano, por ejemplo, la autooxidación por procesos metabólicos aeróbicos, oxidación enzimática, estallido respiratorio que se refiere al uso excesivo de oxígeno en el desarrollo de la fagocitosis (1,2). También es inducido por factores exógenos como el uso de drogas, la radiación solar, solventes industriales, pesticidas, contaminación ambiental, además de enfermedades que generan un estrés celular y en consecuencia diferentes radicales libres (1,4,59,61).

**Tabla 2.** Clasificación de radicales libres.

ROS	RNS	Especies misceláneas
Anión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ )	Óxido nítrico ( $NO^{\bullet}$ )	Hidrógeno ( $H^{\bullet}$ )
Peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ )	Dióxido de nitrógeno ( $NO_2^{\bullet}$ )	Metilo ( $CH_3^{\bullet}$ )
Hidroxilo ( $OH^{\bullet}$ )	Peroxinitrito ( $NO_3^{\bullet}$ )	Metilo
Peroxilo ( $ROO^{\bullet}$ )	Anión nitroxilo ( $HNO$ )	Glutatil ( $GS^{\bullet}$ )
Hidroperoxilo ( $HOO^{\bullet}$ )		Halógeno ( $H^{\bullet}$ )
Alcoxilo ( $RO^{\bullet}$ )		Tricloruro de Carbono ( $CCL_3^{\bullet}$ )
		Iones ferrilo ( $FeOO_2^{\bullet+}$ )

**Fuente:** Adaptado de Sharma et al. (61).

### 1.6 Capacidad antioxidante:

La capacidad antioxidante mide la cantidad de radicales libres que pueden ser estabilizados por un antioxidante. Los antioxidantes son compuestos químicos que aún en bajas concentraciones inhiben, detienen o controlan la oxidación de un sustrato, estos pueden ser orgánicos o inorgánicos, se clasifican en antioxidantes primarios y secundarios (62,63). Los antioxidantes primarios pueden actuar donando un átomo de hidrógeno (HAT) o también pueden transferir un solo electrón (SET), y son necesarias pocas cantidades de estos antioxidantes para poder neutralizar los radicales libres existentes, mientras que los antioxidantes secundarios actúan neutralizando a catalizadores pro oxidantes (62,63).

La capacidad antioxidante no puede ser reflejada con precisión, ni puede ser directamente medida, pero se puede determinar estudiando los efectos del compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlada (46,63).

### **1.6.1 Métodos *in vitro* para medir capacidad antioxidante:**

Ninguno de estos métodos ya sean realizados de forma independiente o en conjunto, puede recrear lo que podría ocurrir en el cuerpo humano. Sin embargo, estos métodos, son útiles para estudiar el potencial antioxidante de los compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos y también son muy utilizados para realizar análisis de muchas muestras con el fin de focalizar la investigación en las muestras más relevantes, así como para determinar posibles diferencias entre ellas debido a distintos factores (64).

Pueden ser clasificados principalmente en los dos siguientes métodos:

#### **1.6.1.1 Métodos de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT):**

Estos métodos miden la capacidad del antioxidante de donar átomos de hidrógeno para neutralizar los radicales libres y producir una especie no radical estable, estos métodos no se ven afectados por el tipo de solvente o el pH. Se presentan algunos métodos a continuación (64):

##### **1.6.1.1.1 Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC):**

Es un método fluorimétrico que utiliza un azo-iniciador (esta sustancia puede generar especies radicales y también promueve reacciones oxidativas), siendo el azo-iniciador más usado el diclorhidrato de 2,2'-azobis (2-amidino-propano) con siglas AAPH, el cual genera radicales peroxilo debido a su descomposición térmica en medio de un tampón acuoso (figura 5) (63). Los radicales peroxilo generados reaccionan en presencia de una molécula fluorescente y producen una pérdida de fluorescencia, los antioxidantes en este método retrasarán la pérdida de la fluorescencia y se determina su capacidad antioxidante usando un fluorímetro y una sonda como molécula fluorescente (64,65). Los resultados de la capacidad antioxidante son cuantificados por el área bajo la curva (AUC), puesto que este método se basa en el tiempo y porcentaje de inhibición (64,65,66).

Posee una alta especificidad y puede responder a distintos antioxidantes de muestras biológicas y alimentos, la desventaja es que demora más tiempo que otros métodos, adicional a ello es muy cuestionado por el uso del AUC y la baja reactividad de la fluoresceína (63,65). Además, los resultados pueden ser no fiables debido a la posible formación de complejos de antioxidantes con iones metálicos, dando resultados posiblemente subestimados (67).

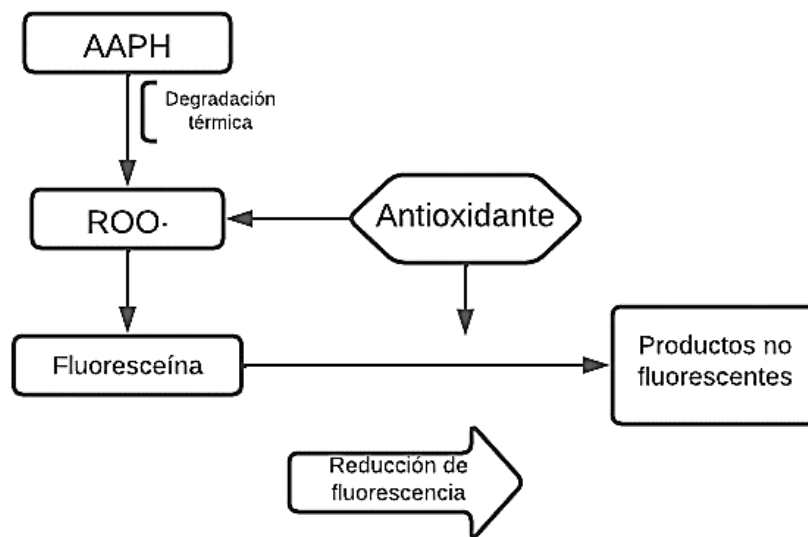


Figura 5. Reacción por el método ORAC (67).

#### 1.6.1.1.2 Poder de captación de radicales totales (TRAP):

Este método al igual que el ORAC usa un azo-iniciador, la diferencia es que no mide la pérdida de fluorescencia sino que cuantifica el oxígeno consumido durante la reacción en presencia de una molécula diana (64,67), el azo-iniciador más usado en este método es el 2,2 azobis (2-amidinopropano) diclorhidrato con siglas ABAP, los resultados de este método se calculan con un estándar de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2- ácido carboxílico), este método es sensible a todos los oxidantes que rompen cadenas y es mayormente usado para ensayos en plasma, suero o sangre humana, el problema es que no resulta comparable con los resultados hallados entre laboratorios porque no está definido un tiempo específico para tomarlo como punto final de la reacción (63,67).

### 1.6.1.2 Métodos de transferencia de un solo electrón (SET):

Estos métodos presentan la capacidad de transferir un electrón del compuesto antioxidante, reduciendo el radical libre a una forma más estable, presenta un cambio de color característico cuando reduce al compuesto oxidante. El valor de pH del medio tiene un efecto importante en la capacidad reductora del compuesto antioxidante siendo esta propiedad mayor en condiciones básicas, estos métodos necesitan un tiempo determinado para los resultados ya que su reacción es lenta (60,62).

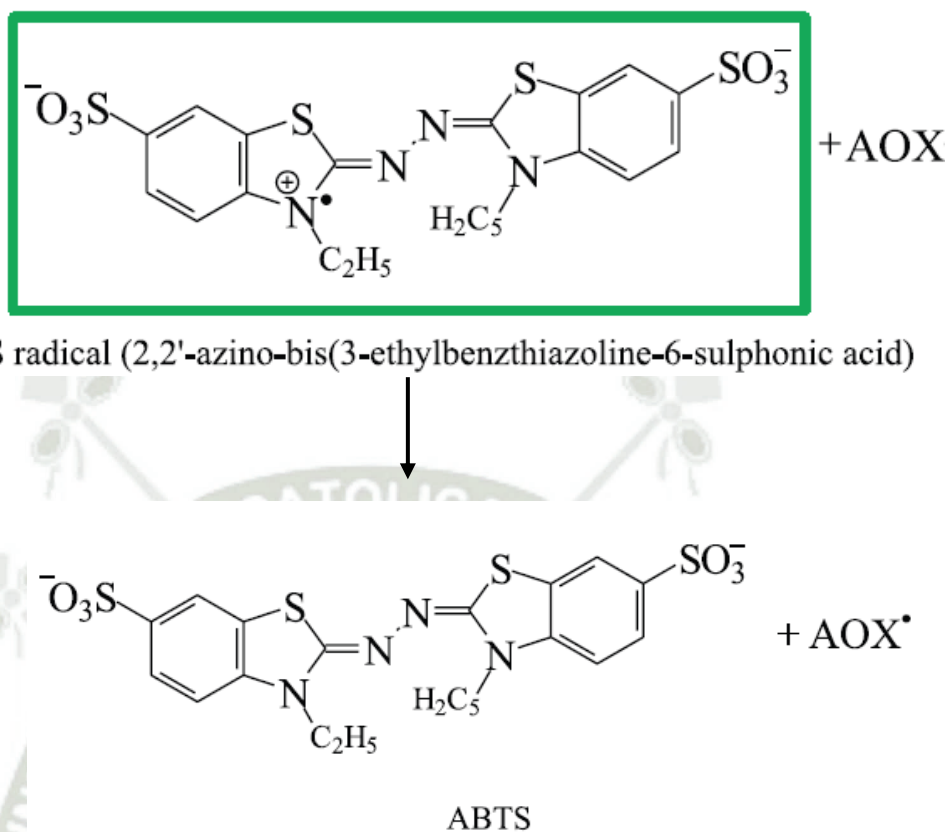
#### 1.6.1.2.1 Capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC):

También conocida como capacidad de inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>, es una técnica espectrofotométrica que se basa en el mecanismo de transferencia de electrones (62). La reacción entre el ABTS (no radical) y el persulfato de potasio genera el cromóforo ABTS<sup>•+</sup> (radical libre) el cual presenta tres máximos de absorción a longitudes 645 nm, 734 nm y 815 nm (63).

En presencia del compuesto antioxidante, el radical ABTS<sup>•+</sup> se reduce a ABTS, lo cual se manifiesta en una decoloración del reactivo. De tal forma que el grado de decoloración está relacionado con el porcentaje de captación de radical catión ABTS<sup>•+</sup>, por el antioxidante (ver figura 6). Los resultados se expresan en equivalentes de Trolox (62,63,64,67).

Es un ensayo simple y permite realizarlo en un amplio rango de pH, la limitación de este método es que solo se caracteriza la capacidad de reacción ABTS<sup>•+</sup> con la muestra, es decir permite verificar la capacidad de reducción del antioxidante mas no necesariamente la inhibición de todo el proceso oxidativo (63,67).

Este método destaca por emplear radicales libres sintéticos que poseen una estructura molecular que se diferencia ampliamente de los derivados reactivos del oxígeno (68).



**Figura 6.** Reacción de reducción por el método TEAC (68).

#### 1.6.1.2.2 Poder antioxidante reductor férrico (FRAP):

También es un método espectrofotométrico, mide la reducción de un complejo amarillo de tripiridil-triazina férrica (TPTZ) a complejo ferroso azul por acción de antioxidantes que ceden electrones (64) (figura 7). Se realiza en un pH ácido, el color resultante entre azul y púrpura se mide a 593 nm en un determinado tiempo, y es linealmente relacionado con la capacidad reductora debido a que la reacción química lleva horas y por ende el cambio de la absorbancia (65).

Es un ensayo simple y económico, la desventaja es que cualquier compuesto que done electrones podría reaccionar a este ensayo, inclusive si este no posee propiedades antioxidantes, generando resultados altos, pero inexactos (63,65).

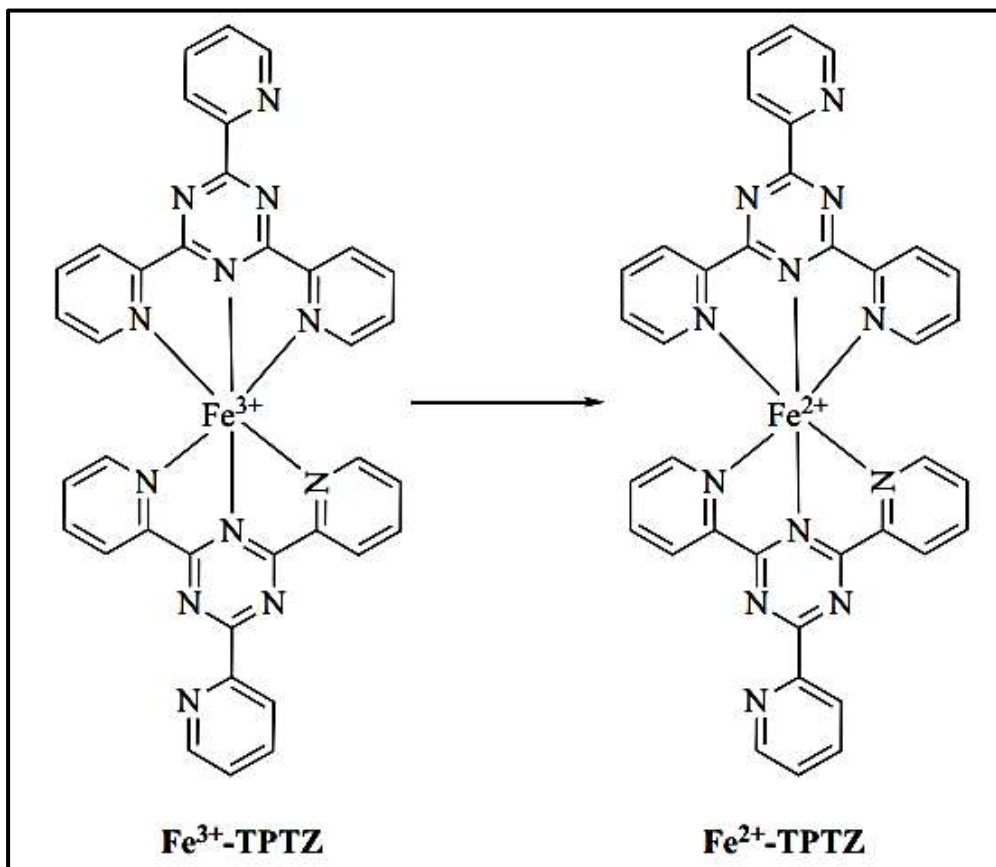
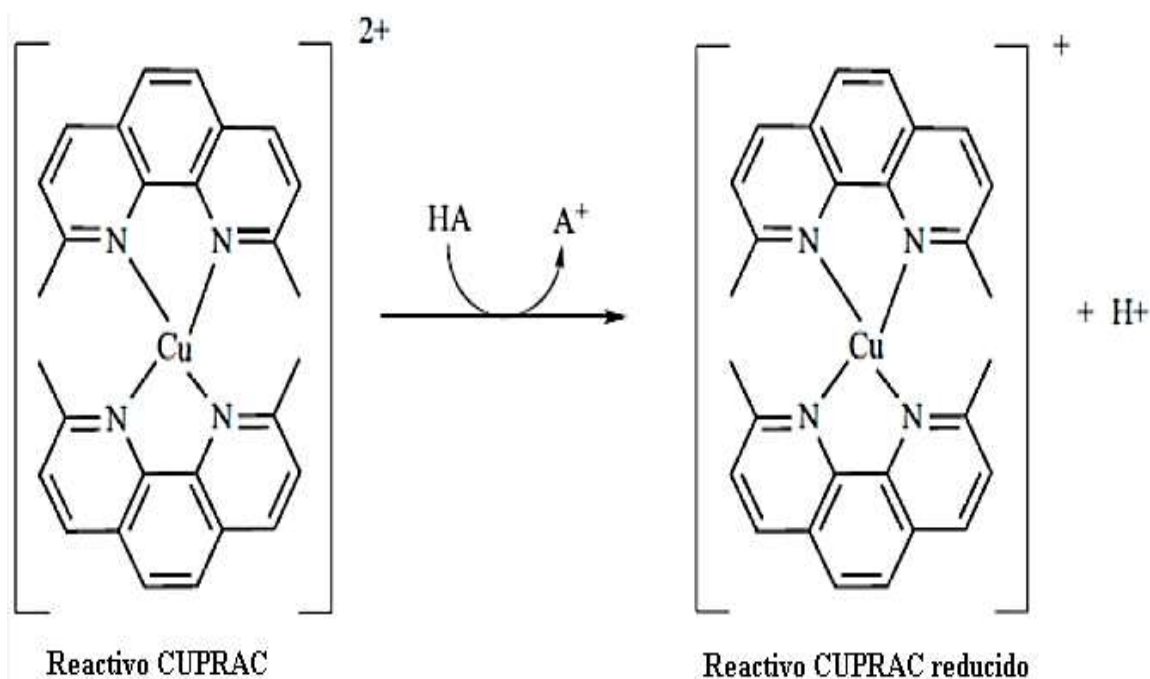


Figura 7. Reacción de reducción por el método FRAP (64).

#### 1.6.1.2.3 Capacidad antioxidante reductora cúprica (CUPRAC):

Este se basa en la reducción del cobre (II) a cobre (I), por efecto del compuesto antioxidante, se mide a 450 nm (69) (figura 8). Los resultados con polifenoles son comparables con los obtenidos por el método TEAC (62), se considera un método simple en el cual sus reactivos son estables y los resultados obtenidos son reproducibles (65), su desventaja es que aún no se tiene un tiempo de reacción definido (62).



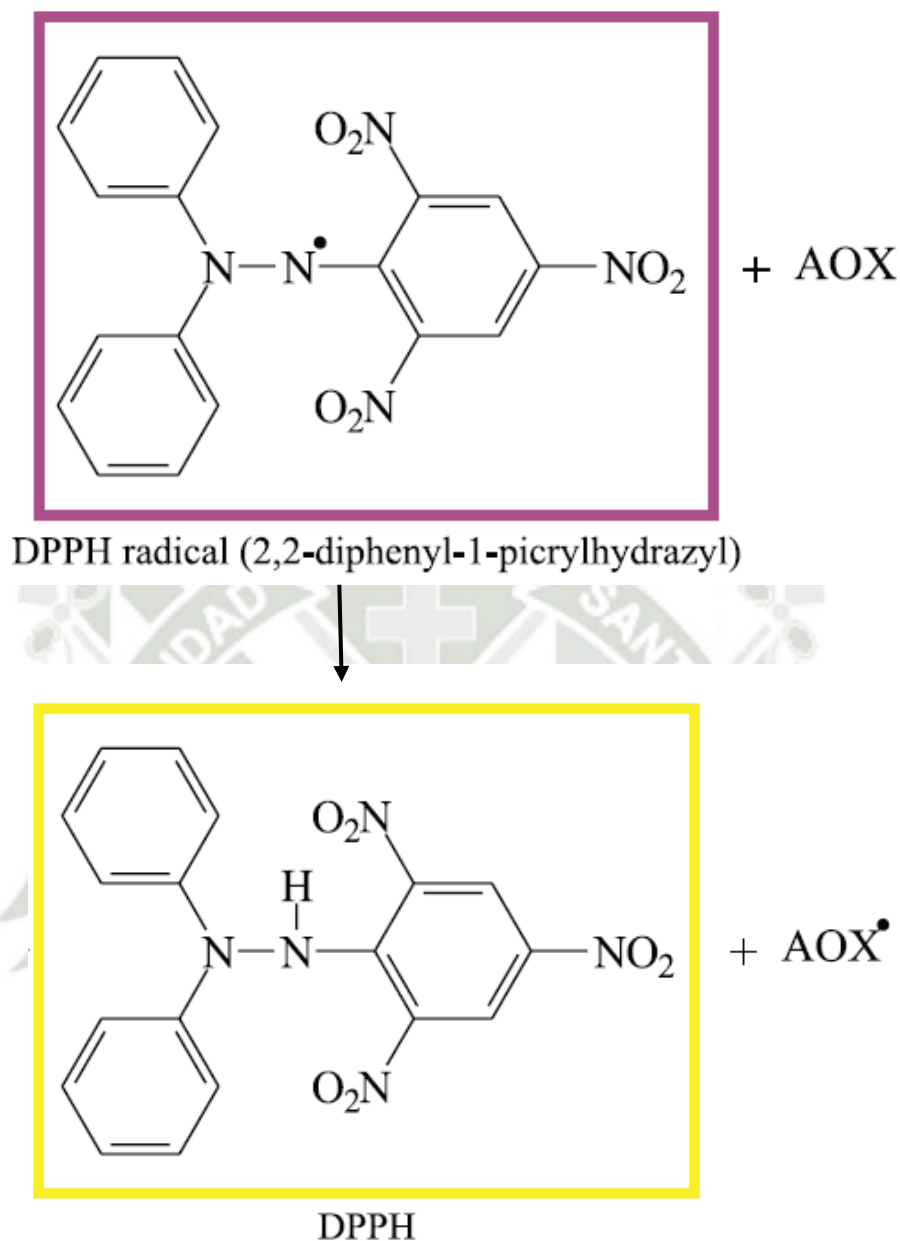
**Figura 8.** Reacción de reducción por el método CUPRAC (67).

#### 1.6.1.2.4 Capacidad de inhibición del radical DPPH $^{\bullet}$ :

Esta técnica también es espectrofotométrica, el DPPH $^{\bullet}$  es caracterizado como un radical de nitrógeno orgánico estable debido a que su electrón libre se encuentra localizado de tal forma que sus moléculas no se dimerizan como la mayoría de los demás radicales libres (65). Debido a la localización del electrón libre, da lugar a un color violeta intenso con una absorbancia alrededor de 520 nm diluido en etanol (69).

Cuando la solución de DPPH $^{\bullet}$  reacciona con una sustancia que puede transferir átomos de hidrógeno, se reduce y da como resultado una decoloración, debido a la conversión del DPPH $^{\bullet}$  de un hidrazil a una hidracina, este cambio de color es estequiométrico en relación al número de electrones libres de DPPH $^{\bullet}$  que han sido neutralizados por la transferencia de átomos de hidrógeno (62) (figura 9).

Es un método rápido, simple, económico y ampliamente usado para la medición de la capacidad antioxidante, se puede utilizar disolventes orgánicos acuosos y apolares, también se pueden determinar antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos (63).



**Figura 9.** Reacción de reducción por el método DPPH (68).

### 1.7 Capacidad antioxidante en maíz

Entre las propiedades asociadas a los compuestos bioactivos reportados en el maíz destaca su capacidad antioxidante (8,9), que está relacionada principalmente a la presencia de compuestos antioxidantes como los fenólicos (ácidos fenólicos y flavonoides) y los carotenoides como luteína y zeaxantina (22,33).

De acuerdo a la evidencia científica investigada, existe un mayor interés en estudiar el maíz morado por su composición fenólica y propiedades biológicas, en especial por sus propiedades antioxidantes, que han sido ampliamente estudiadas usando métodos analíticos *in vitro* (70,71) e *in vivo* (70), esto debido a sus altos contenidos de antocianinas, que están asociadas directamente a propiedades antioxidantes. Sin embargo, la biodiversidad del maíz peruano es muy grande y podría constituir una fuente importante de diferentes compuestos antioxidantes y con otras propiedades biológicas aún muy poco estudiadas.

Existen antecedentes de estudios realizados con germoplasma de maíz de otras procedencias que han determinado una correlación positiva entre la presencia de compuestos fenólicos y carotenoides con la capacidad antioxidante *in vitro* a través de diferentes métodos. Así los compuestos fenólicos detectados en las fracciones fenólicas libres (33 a 680 mg/100 g) y ligadas (136 a 2720 mg/100 g) contribuyeron significativamente a la capacidad antioxidante determinada con el método de inhibición de los radicales DPPH<sup>\*</sup> y ABTS<sup>\*\*</sup> en muestras de maíz amiláceo de diversas pigmentaciones (entre amarillo, rojo y negro) procedentes de México, siendo la fracción fenólica ligada la que presentó la actividad más alta (44). En otro estudio con maíz de Italia se determinó que el maíz amarillo procedente de la zona y el comercial obtuvieron las más bajas concentraciones de antocianinas, flavan-4-ols y ácido ascórbico, pero aún con niveles bajos de antocianinas y carotenoides se obtuvo una significativa capacidad antioxidante concluyendo que otros compuestos no estudiados además de los fenólicos podrían también contribuir con la capacidad antioxidante *in vitro* evaluada (43).

En la única investigación publicada sobre el maíz peruano, donde se evaluaron algunas muestras del maíz tipo Cabanita procedentes de la región Arequipa, se reportó que presentaron la segunda mayor capacidad antioxidante medida con el método ORAC después del maíz morado (8). El contenido fenólico total fue mayor en la fracción ligada (110 a 134 mg GAE/100 g bs) que en la fracción libre (21 a 32 mg GAE/100 g bs), detectando por UPLC-PDA (Cromatografía

líquida de ultra alto rendimiento – detector de arreglo de fotodiodos) ácido ferúlico, p-cumárico y ácido cafeico en bajas concentraciones, además de compuestos derivados de estos ácidos fenólicos, los cuales en conjunto podrían haber contribuido con su elevada capacidad antioxidante (8).



## CAPÍTULO II

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1 Ubicación del estudio

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Ciencia de Alimentos (F-404) del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Católica de Santa María (Campus central).

#### 2.2 Materiales

##### 2.2.1 Material biológico

El maíz Cabanita evaluado en la presente tesis correspondió a muestras que fueron colectadas previamente en un estudio anterior (72). A continuación, se describe el proceso de colecta aplicado.

Se colectaron las muestras de maíz tipo Cabanita en los meses de mayo y junio del 2019 de 5 puntos geográficos de la provincia de Castilla y de igual forma de Caylloma, entre 10 a 15 mazorcas maduras por punto geográfico, fueron clasificadas según la intensidad de su pigmentación, obteniendo 3 a 4 subgrupos por punto geográfico que corresponden respectivamente a una réplica biológica (72).








































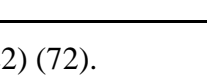
En la tabla 3 se presenta la procedencia de cada muestra y la información de las coordenadas geográficas de colecta, en las tablas 4 y 5 se presentan las imágenes de cada subgrupo y su código por réplica biológica.

**Tabla 3.** Información de los puntos geográficos y códigos asignados al germoplasma colectado.

Punto geográfico	Caylloma					Castilla				
	Código	Distrito	Anexo	Coordenadas	Altitud (m.s.n.m)	Código	Distrito	Anexo	Coordenadas	Altitud (m.s.n.m)
1	BCL		Cusqui	S: 15° 37' 05.6" W: 072° 00' 37.8"	2964	AAP	Andagua	Ajocha	S 15°29'57.2" W 072°20'45.8"	3399
2	BAL		Auqui	15° 37' 30.9" W: 072° 00' 04.1"	3110	AHP		Huancarani	S 15°29'50.7" W 072°20'48.6"	3347
3	BHL		Huancce	S: 15° 38' 01.6" W: 071° 58' 49.0"	3332	CAL		Alleachaya	S 15°30'4.1" W 072°16'10.7"	3070
4	BLL		Liguay	S: 15° 37' 41.6" W: 071° 58' 49.5"	3266	CPL	Chachas	Pullguaya	S 15°30'5.1" W 072°16'14.4"	3043
5	BOL		Occollina	S: 15° 37' 21.7" W: 071° 58' 35.2"	3310	YSL	Ayo	Subna	S 15°33'27.5" W 072°14'16.3"	2845











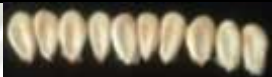




























**Fuente:** Elaboración propia, información adaptada según Fuentes (2022) (72).

**Tabla 4.** Fotos de las muestras (mazorcas y granos) colectadas de los 5 puntos geográficos en la provincia de Caylloma.

Código	Réplica biológica	Código de réplica biológica	Fotos de granos	Fotos de mazorcas <sup>(72)</sup>
<b>BCL</b> 	1	BCL-a		
	2	BCL-b		
	3	BCL-c		
	4	BCL-d		
<b>BAL</b> 	1	BAL-a		
	2	BAL-b		
	3	BAL-c		
<b>BHL</b> 	1	BHL-a		
	2	BHL-b		
	3	BHL-c		
<b>BLL</b> 	1	BLL-a		
	2	BLL-b		
	3	BLL-c		
	4	BLL-d		
<b>BOL</b> 	1	BOL-a		
	2	BOL-b		
	3	BOL-c		
	4	BOL-d		

**Fuente:** Elaboración propia, fotos según Fuentes (2022) (72).

**Tabla 5.** Fotos de las muestras (mazorcas y granos) colectadas de los 5 puntos geográficos en la provincia de Castilla.

Código	Réplica biológica	Código de réplica biológica	Fotos de granos	Fotos de mazorcas <sup>(72)</sup>
<b>AAP</b> 	1	AAP-a		
	2	AAP-b		
	3	AAP-c		
	4	AAP-d		
<b>AHP</b> 	1	AHP-a		
	2	AHP-b		
	3	AHP-c		
<b>CAL</b> 	1	CAL-a		
	2	CAL-b		
	3	CAL-c		
	4	CAL-d		
<b>YSL</b> 	1	YSL-a		
	2	YSL-b		
	3	YSL-c		
<b>CPL</b> 	1	CPL-a		
	2	CPL-b		
	3	CPL-c		

### 2.2.2 Material de laboratorio

- Balón de rotaevaporación, 250 mL
- Frascos de vidrio, 100 mL y 500 mL.
- Matraz volumétrico, 10 mL, 25 mL, 50 mL y 100 mL.
- Micropipetas, 20-200  $\mu$ L, 100-1000  $\mu$ L y 500-5000  $\mu$ L.
- Microplacas de poliestireno, 96 pocillos de 350 $\mu$ L.
- Microplacas de polipropileno, 96 pocillos de 350 $\mu$ L.
- Pipeta graduada, 10mL.
- Probetas, 50 mL, 100 mL y 500 mL.
- Puntas para micropipeta, 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L, 5000  $\mu$ L.
- Microtubos de centrifuga, 1.5 mL y 2 mL.
- Tubos de polipropileno para centrifuga, 15 mL y 50 mL.
- Vaso precipitado, 50 mL, 100 mL.

### 2.2.3 Reactivos

- ABTS (ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico), 98%, para Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), SIGMA ALDRICH, Alemania.
- Acetona, para análisis, MERCK, Alemania.
- Acetato de etilo, para análisis, MERCK, Alemania.
- Ácido clorhídrico 37%, para análisis, MERCK, Alemania.
- Diclorometano, para análisis, MERCK, Alemania.
- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), para análisis, SIGMA ALDRICH, Alemania.
- Etanol absoluto, para análisis, MERCK, Alemania.
- Hidróxido de sodio pellets, para análisis, MERCK, Alemania.
- Metanol, para análisis, MERCK, Alemania.

- Peroxodisulfato de potasio, para análisis, MERCK, Alemania.
- Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2- ácido carboxílico), 97%, para análisis, SIGMA ALDRICH, Alemania.

#### **2.2.4 Equipos e instrumentación**

- Agitador Orbital, MaxQ 2000, THERMO SCIENTIFIC, Estados Unidos.
- Agitador Vortex Multiuso 0-3000rpm, Wizard, VELP, Italia.
- Balanza analítica, EX2250, OHAUS, Estados Unidos.
- Bomba de vacío, V100, BUCHI, Alemania.
- Campana de extracción, FH18000(P), BIOBASE, Estados Unidos.
- Centrifuga Universal, 320R, HETTICH, Alemania.
- Estufa esterilizadora, UF 55, MEMMERT, Alemania.
- Lector de microplacas, Synergy HTX multi-mode microplate reader, BIOTEK INSTRUMENTS, Estados Unidos.
- Potenciómetro, HI 3220, HANNAH INSTRUMENTS, Italia.
- Purificador de agua, MILI-Q, Alemania.
- Refrigerador, Eco-TT423 IXL, BOSCH, Alemania.
- Rotavapor con bomba de vacío y baño maría, R100, BUCHI, Alemania.
- Ultrasonido, 2800, BRANSON, Estados Unidos.

### **2.3 Métodos**

#### **2.3.1 Preparación de las muestras y obtención de los extractos**

##### **2.3.1.1 Caracterización visual del color del grano**

La evaluación de cada réplica biológica fue de tipo visual, tomando 12 granos representativos para la observación y se describió el color cualitativamente en el

pericarpio y el pedicelo, luego se tomaron las fotos respectivas. El pericarpio (también conocida como cubierta fructífera, que cumple una función protectora contra el estrés abiótico y biótico, en su estructura se encuentran diversos fitoquímicos) y el pedicelo (se considera la prolongación de la mazorca este une al grano con la mazorca y tiene forma puntiaguda al desprender el grano) (78).

### 2.3.1.2 Preparación de las muestras

La preparación de muestras de maíz fue realizada en un estudio anterior (72). Las mazorcas una vez colectadas se trasladaron al laboratorio de Ciencia de Alimentos (F-404) de la Universidad Católica de Santa María, se procedió a secarlas a temperatura ambiente, una vez secas se desgranaron y se almacenaron como grano seco en cámara de refrigeración (5-8 °C). Parte de los granos de cada muestra se molieron hasta un tamaño de partícula de 500 µm con un molino analítico para granos, siendo almacenadas con protección a la luz a una temperatura de -20 °C (72).

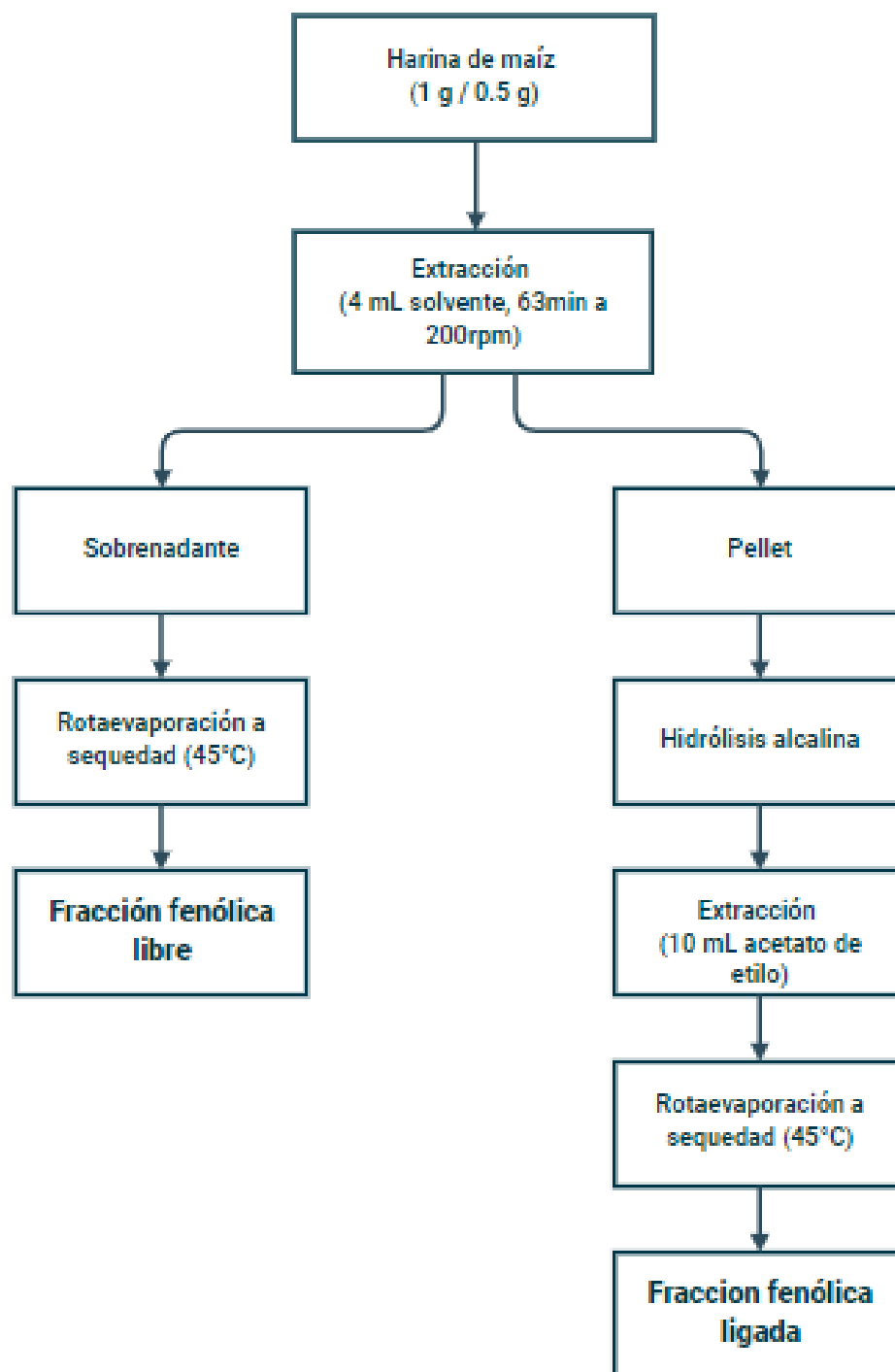
### 2.3.1.3 Extracción de los compuestos fenólicos

#### a) *Fracción fenólica libre (Compuestos fenólicos libres)*

Se realizó de acuerdo al método informado por González-Muñoz et al. (9) modificado por Ranilla et al. (73), se usó como solvente una mezcla volumen/volumen de metanol:acetona:agua (45:45:10) con HCl equivalente al 0.1%, se pesó 1 g en la balanza analítica de cada muestra correspondiente en tubos de polipropileno para centrífuga y se añadió 4 mL del solvente de extracción, procediendo a una agitación a 200 rpm a temperatura ambiente durante 63 minutos.

La mezcla fue centrifugada a 6000 rpm a 15 °C por 10 minutos, y el sobrenadante se separó en un balón de rotaevaporación. La extracción se repitió en el residuo bajo las mismas condiciones por un tiempo de 30 minutos. Los sobrenadantes se juntaron y se

concentraron al vacío hasta sequedad a 45 °C en un equipo de rotaevaporación. El concentrado obtenido se resuspendió en 2.5 mL de agua ultra pura y se almacenó a -20 °C hasta su análisis.



**Figura 10.** Esquema de trabajo para la extracción de la fracción fenólica libre y ligada

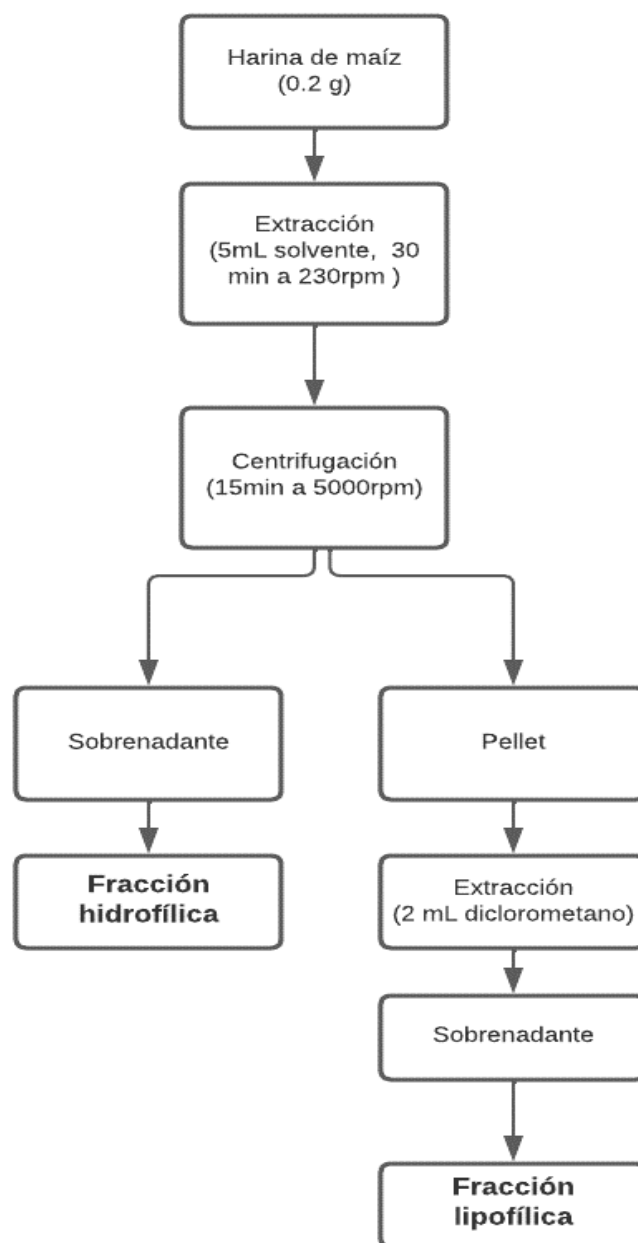
**b) Fracción fenólica ligada (Compuestos fenólicos ligados)**

El pellet resultante de la extracción de la fracción fenólica libre (0.5g) se sometió a una hidrólisis alcalina con 20 mL de hidróxido de sodio 3 N en ambiente de nitrógeno gaseoso, a temperatura ambiente por 88 minutos bajo agitación a 200 rpm, luego de la hidrólisis, el pH de la mezcla se llevó hasta aproximadamente 3.0 (2.9 a 3.2) con HCl 37%. Posteriormente se procedió a extraer los compuestos fenólicos con 10 mL de acetato de etilo con agitación manual de 1 minuto, se centrifugó por 5 minutos a 14 °C a 6000 rpm y la fracción de acetato de etilo se separó en un balón de destilación. La extracción se realizó 6 veces con el mismo solvente, las fracciones separadas se juntaron y se evaporaron al vacío hasta sequedad a 45 °C. El concentrado obtenido se resuspendió en 5 mL de agua ultra pura y se almacenó a -20 °C hasta su análisis (9,73).

**2.3.1.4 Extracción de compuestos antioxidantes de la fracción hidrofílica y lipofílica:**

Se utilizó el método de Fuentealba et al. (75) con algunas modificaciones y el esquema del proceso de extracción se presenta en la figura 11. Se pesaron 0.2 g de muestra en un tubo de polipropileno de centrífuga de 50 mL, se añadió 5 mL de metanol 80% en agua y se sometió a agitación durante 30 minutos a 230 rpm a temperatura ambiente. La mezcla se centrifugó a 5000 rpm por 15 minutos a 4 °C, el sobrenadante resultante se separó y se almacenó a -20 °C hasta su análisis, esta fracción correspondió a la fracción hidrofílica.

Al pellet resultante de la extracción de la fracción hidrofílica se le adicionó 2 mL de diclorometano, se sometió a agitación a 230 rpm por 30 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó a 5000 rpm por 15 minutos a 4 °C. El sobrenadante se separó y se almacenó -20 °C hasta su análisis (75). Estos extractos correspondieron a la fracción lipofílica.



**Figura 11.** Esquema de trabajo de extracción de la fracción hidrofílica y lipofílica.

## 2.3.2 Métodos de análisis

### 2.3.2.1 Porcentaje de humedad

Se procedió según lo indicado en la Norma Técnica Peruana 205.002:1979 (74), que establece el método usual para determinar el contenido de humedad en cereales, expresando los resultados en porcentaje peso/peso. Una vez molidos los granos y obtenida la harina de maíz se pesó 5 g de cada muestra en una placa y se sometió a secado en una estufa durante 20 horas a 80 °C con presión atmosférica normal, se dejó enfriar en el

dsecador (72,76). La humedad se determinó para poder expresar los resultados en base seca (bs).

### 2.3.2.2 Análisis de capacidad antioxidante por inhibición del radical libre

#### ABTS<sup>•+</sup>:

Se aplicó el método de Fuentealba et al. (75). El radical libre ABTS<sup>•+</sup> se preparó a partir de la reacción del ABTS (78.4 mg/10 mL) con peroxodisulfato de potasio (13.2 mg/10 mL), ambos reactivos fueron diluidos en agua ultrapura, se mezclaron ambas soluciones y se procedió a dejar bajo agitación por 12 horas, previamente protegido a la luz, la solución resultante fue diluida con etanol absoluto hasta llegar a una absorbancia entre 0.68 a 0.75 a 734 nm de longitud de onda. Luego se procedió a la reacción de 250 µL de este reactivo con 40 µL de los extractos de las muestras (fracciones fenólicas libre y ligada, y fracciones hidrofílicas y lipofílicas).

La reacción se realizó en una microplaca de poliestireno en caso de las fracciones fenólicas libres, ligadas e hidrofílicas, para las fracciones lipofílicas se utilizó una microplaca de polipropileno. Luego de un periodo de incubación de 30 minutos a 20 °C, se midió la absorbancia a 734 nm en un lector de microplacas. En cada corrida analítica, se consideró un control (metanol en fracciones fenólicas libres, ligadas e hidrofílica, diclorometano en caso de las fracciones lipofílicas), la curva de trolox y las muestras seleccionadas. El % de inhibición se calculó aplicando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(Abs C - Abs M) \times 100}{Abs C}$$

Donde:

Abs C = absorbancia del control

Abs M = absorbancia de la muestra o punto de la curva

Los resultados se expresaron en  $\mu$ moles equivalentes de trolox (ET) por 100 g de maíz en base seca (bs), utilizando una curva de calibración del estándar de trolox a diferentes concentraciones versus el % de inhibición. Se utilizó un rango de concentraciones de 20 a 160  $\mu$ M de trolox para el análisis de las fracciones fenólicas libres, ligadas e hidrofílicas, mientras que para las fracciones lipofílicas se utilizó un rango de 10 a 160  $\mu$ M de trolox (75) (Anexo 2).

### 2.3.2.3 Análisis de capacidad antioxidante por inhibición del radical libre

#### DPPH<sup>•</sup>:

Se aplicó el método de Duarte-Almeida (77). Se preparó una solución stock de radical DPPH<sup>•</sup> en metanol (12.5 mg/100 mL), a partir de la cual se realizó una dilución en metanol hasta llegar a una absorbancia entre 0.58 a 0.64 a 520 nm, luego se procedió a la reacción de 250  $\mu$ L de este reactivo con 40  $\mu$ L de los extractos de las muestras (fracciones fenólicas libres y ligadas, y fracciones hidrofílicas y lipofílicas). La reacción se realizó en una microplaca de poliestireno en el caso de las fracciones fenólicas libres, ligadas e hidrofílicas, para las fracciones lipofílicas se utilizó una microplaca de polipropileno. Luego de un periodo de incubación de 25 minutos a 20 °C se midió la absorbancia a 520 nm en un lector de microplacas. Al igual que en el método anterior, en cada corrida analítica se consideró un control (metanol en fracciones fenólicas libres, ligadas e hidrofílicas y diclorometano en caso de las fracciones lipofílicas), la curva de trolox y las muestras seleccionadas. El % de inhibición se calculó aplicando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(Abs C - Abs M) \times 100}{Abs C}$$

Donde:

Abs C = absorbancia del control

Abs M = absorbancia de la muestra o punto de la curva

Los resultados se expresaron en  $\mu$ moles equivalentes de trolox (ET) por 100 g de maíz en base seca (bs), utilizando una curva de calibración del estándar de trolox construida a diferentes concentraciones versus el % de inhibición. En el caso del análisis de las fracciones fenólicas libres, ligadas y fracciones hidrofílicas se utilizó una curva de trolox de 20 a 160  $\mu$ M mientras que para el análisis de los extractos de las fracciones lipofílicas fue de 10 a 160  $\mu$ M de trolox (75) (Anexo 4).

#### **2.4 Análisis estadístico:**

Los resultados se expresaron como promedio  $\pm$  desviación estándar (considerando las réplicas biológicas por punto geográfico). Se aplicó un Análisis de Varianza o el test no paramétrico de Kruskal-Wallis según se cumplieron los supuestos de homogeneidad de la varianza con el test de Levene's y la normalidad de los datos con el test de Shapiro-Wilk a un  $\alpha=0,05$ . Se exploraron posibles correlaciones entre las variables evaluadas a través de la determinación de los coeficientes de Pearson. Se utilizó el software Statgraphics Centurion XVI (StatPoint In., USA) y el programa R 4.1.2 (Aspen Technology, Inc., Bedford, MA, USA).

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Caracterización visual del color del grano y análisis de humedad

En la tabla 6 se describe la coloración del pericarpio y el pedicelo observados en los granos evaluados y el contenido de humedad de los mismos. Esta descripción se realizó con la finalidad de evaluar alguna posible relación entre la pigmentación del grano y los resultados de capacidad antioxidante a ser estudiados.











El contenido de humedad fue determinado en una previa investigación por Fuentes et al. (72), ya que evaluaron las mismas muestras como se indicó anteriormente, estos valores se han considerado en la presente tesis con el fin de expresar los resultados de capacidad antioxidante en base seca. Todos los valores obtenidos se encuentran dentro del valor recomendado por la FAO que recomienda una humedad del 15% (masa/masa) como máximo (79), para asegurar una mejor estabilidad y conservación de la harina de maíz.

El color blanco fue el predominante en la mayoría de granos, se aprecian granos totalmente blancos (BAL, BHL, BLL, AHP) o parcialmente con coloraciones rojizas (BCL, CAL, YSL), algunas muestras presentaron también coloraciones blanco-amarillas (AAP) y en general la pigmentación de los granos fue similar entre ambas provincias, sin embargo, dos muestras se diferenciaron en comparación de todos los granos, la muestra BOL de Caylloma fue la única que presentó granos con coloración naranja mientras que la muestra CPL de Castilla tuvo una pigmentación mixta incluyendo un fondo blanco con manchas moradas. Esta diferencia en la pigmentación del pericarpio podría estar relacionada con la presencia de perfiles diferentes de compuestos bioactivos como compuestos fenólicos u otros, lo cual debe ser evaluado en investigaciones futuras.

Las características de pigmentación del pericarpio de las muestras evaluadas coinciden en su mayoría con lo reportado por Ranilla et al. (8), quienes estudiaron diferentes razas

de maíz peruano, incluyendo 6 muestras de la raza Cabanita, las cuales presentaron coloraciones parecidas a las del actual estudio (blanco, rojizo).

**Tabla 6.** Porcentaje de humedad de las muestras de maíz Cabanita evaluadas.

Provincia	Código	Fotos	Color del grano	Porcentaje de Humedad (%) (72)
Caylloma	BCL		Pericarpio rojo hasta mitad del grano y blanco hasta la punta, pedicelo color blanco.	12.04 ± 1.52
	BAL		Pericarpio blanco en todo el grano, pedicelo blanco.	10.02 ± 0.39
	BHL		Pericarpio blanco en todo el grano, pedicelo blanco. Algunos granos presentaron mezclas de coloraciones.	9.80 ± 0.24
	BLL		Pericarpio blanco en todo el grano, pedicelo blanco. Algunos granos presentaron puntos negros y una coloración casi azul.	10.44 ± 0.19
	BOL		Pericarpio amarillo, anaranjado y rojizo, pedicelo blanco.	10.14 ± 0.21
Castilla	AAP		Pericarpio amarillo y blanco, pedicelo blanco.	11.50 ± 0.16
	AHP		Pericarpio blanco, algunos con manchas negras, otros con ligero rosado, pedicelo blanco.	11.45 ± 0.32
	CAL		Pericarpio rojo hasta mitad del grano y blanco hasta la punta, pedicelo color blanco.	11.29 ± 0.37
	YSL		Pericarpio rojo hasta mitad del grano y blanco hasta la punta, algunos granos fueron naranjas, pedicelo color blanco.	11.25 ± 0.27
	CPL		Pericarpio blanco con manchas moradas, pedicelo color blanco.	11.03 ± 0.57

### 3.2 Capacidad antioxidante de las fracciones fenólicas libres y ligadas del grano de maíz Cabanita

#### 3.2.1 Inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>

Los resultados de la capacidad antioxidante por el método de inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup> de las fracciones fenólicas libres y ligadas se presentan en la Tabla 7, en el anexo 3 se presenta un ejemplo de los cálculos realizados para la obtención de los valores presentados, de la misma forma se procedió en todas las fracciones y en el siguiente método.

Los valores variaron desde 37 a 107  $\mu\text{moles ET}/100\text{ g bs}$  en la fracción fenólica libre y de 2583 a 4041  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$  en la fracción ligada. La muestra CPL de la provincia de Castilla presentó el mayor valor en la fracción libre, mientras que la muestra AAP de la misma provincia, presentó la mayor capacidad antioxidante en la fracción ligada de todas las muestras evaluadas.

Se ha reportado en distintos estudios una mayor capacidad antioxidante de la fracción fenólica libre en granos de maíz con coloración de pericarpio más oscuro (rojo, púrpura y morado) en comparación con granos de pigmentación más claras (blanco y amarillo) (8, 9, 46). Esto se confirma con los resultados de la muestra CPL de Castilla, la cual presentó una pigmentación de grano combinada de coloración blanca y morada y tuvo la mayor capacidad antioxidante en la fracción libre entre todas las muestras (107  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ ), seguido de la muestra BCL (103  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ ) de la provincia de Caylloma que presenta un grano de coloración parcialmente rojo.

Independiente de la pigmentación de los granos, las muestras de maíz de la provincia de Castilla poseen mayores rangos de capacidad antioxidante en la fracción ligada (3304 a 4041  $\mu\text{moles ET}/100\text{ g bs}$ ) en comparación con las muestras de la provincia de Caylloma (2583 a 3229  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ ).

**Tabla 7.** Capacidad antioxidante por el método de inhibición del radical libre ABTS<sup>+</sup> (μmol ET/100 g bs) en las fracciones fenólicas libres y

ligadas.

Código	Caylloma						Castilla					
	BCL**	BAL*	BHL*	BLL**	BOL**	AAP**	AHP*	CAL**	YSL*	CPL*		
Fracción Libre	103 ± 28 <sup>a</sup>	41 ± 6 <sup>b</sup>	53 ± 5 <sup>b</sup>	37 ± 9 <sup>b</sup>	46 ± 11 <sup>b</sup>	63 ± 22 <sup>b</sup>	44 ± 4 <sup>b</sup>	49 ± 8 <sup>b</sup>	57 ± 3 <sup>b</sup>	107 ± 21 <sup>a</sup>		
Fracción Ligada	3229 ± 135 <sup>bcde</sup>	2585 ± 228 <sup>ef</sup>	2951 ± 238 <sup>cdef</sup>	2824 ± 96 <sup>def</sup>	2583 ± 327 <sup>f</sup>	4041 ± 284 <sup>a</sup>	3801 ± 321 <sup>ab</sup>	3810 ± 177 <sup>ab</sup>	3519 ± 380 <sup>abc</sup>	3304 ± 206 <sup>bcd</sup>		
Total	3332 ± 157 <sup>bcd</sup>	2626 ± 224 <sup>e</sup>	3005 ± 238 <sup>cte</sup>	2860 ± 90 <sup>de</sup>	2629 ± 323 <sup>e</sup>	4104 ± 280 <sup>a</sup>	3845 ± 317 <sup>ab</sup>	3859 ± 182 <sup>ab</sup>	3576 ± 383 <sup>abc</sup>	3411 ± 221 <sup>bcd</sup>		

\*n= 3, \*\*n=4. Letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa (p<0.05).

Los resultados del presente estudio son mayores a los obtenidos por Ranilla et al. (8) quienes evaluaron por primera vez algunas muestras (6 muestras) de maíz de la raza Cabanita de Arequipa y presentaron los siguientes valores en la fracción fenólica libre 46 a 63  $\mu\text{moles ET}/100 \text{ g bs}$  y ligada 1832 a 2896  $\mu\text{moles ET}/100 \text{ g bs}$  utilizando el mismo método. En la presente investigación se trabajó con un mayor número de muestras de maíz Cabanita colectadas *in situ* de diferentes puntos geográficos de Caylloma y Castilla. La capacidad antioxidante fue mayor en el extracto fenólico ligado que en el libre, lo cual podría relacionarse con la mayor presencia de compuestos fenólicos antioxidantes unidos a la fibra dietética en un aproximado de un 85% de los fenoles totales como se ha reportado en el caso del maíz y otros cereales (46).

Ranilla et al. (8) determinó que la fracción fenólica ligada de las muestras de maíz Cabanita evaluadas está compuesta por ácidos fenólicos como el ácido p-cumárico, ácido ferúlico, compuestos derivados de estos ácidos y algunos derivados del ácido cafeico, siendo la fracción fenólica ligada la de mayor concentración (146 a 180  $\text{mg}/100 \text{ g bs}$ ) en comparación con la fracción fenólica libre (4.2 a 7.6  $\text{mg}/100 \text{ g bs}$ ). En otro estudio con muestras de maíz procedentes de México se encontraron mayores valores de ácido ferúlico en la fracción ligada (138 a 161  $\text{mg}/100 \text{ g}$ ) que en la libre (1.57 a 2.42  $\text{mg}/100 \text{ g}$ ) (44).

Das et al. (80) han reportado en germoplasma de maíz de la India, la presencia de diferentes ácidos fenólicos en la fracción fenólica libre como ácido cafeico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico, en menor cantidad y solo algunas muestras presentaron ácido p-hidroxibenzoico, ácido vanílico, ácido siríngico y ácido isoferúlico, también se evidenció en algunas muestras la presencia de flavonoides como cianidina-3-glucósido, kaempferol y quercetina. Mientras que, en la fracción ligada, la concentración de los ácidos fenólicos anteriormente mencionados es mayor que en la libre. Asimismo,

determinaron que el 50% de los fenoles libres se encuentran en el germen, mientras que el pericarpio contiene el 74 a 83% de los fenólicos ligados y el endospermo solo un 10% de los compuestos fenólicos totales (80).

Distintos autores indican que en diferentes granos de legumbres, semillas y cereales como el maíz (5,24,25,33,80), los compuestos fenólicos se encuentran ligados a la pared celular, en especial en las moléculas de la fibra dietética como la hemicelulosa y celulosa (11), a través de enlaces covalentes, éter, éster y carbono-carbono (33), cumpliendo funciones de protección contra factores externos o abióticos como la radiación solar, los rayos ultravioleta, temperatura y clima, también pueden atraer polinizadores, además proporciona que la estructura de la pared celular tenga una mayor rigidez (29,33).

Los resultados obtenidos son comparables con los reportados en muestras de diferentes países. González-Muñoz et al. (9) evaluaron maíz chileno de distinta pigmentación con el método de inhibición del radical ABTS<sup>•+</sup> y obtuvieron rangos de capacidad antioxidante de 76.9 a 344  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción libre y de 1096 a 1696  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción ligada. Por otro lado, Rodríguez-Salinas et al. (50) reportaron valores de 689 a 878  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción libre y 2138 a 3263  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción ligada, al analizar maíces de pigmentaciones entre blanco a rojizo procedentes de México. Asimismo, Redaelli et al. (81) obtuvo resultados similares en la capacidad antioxidante total de 988 a 3235  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ .

Sin embargo, Das et al. (80) reportó valores mucho más altos en muestras de maíz de la India (383  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción libre y 24981  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción ligada), y esto se debe a que los resultados se refieren a cada parte del grano, es decir pericarpio, endospermo y germen, los cuales fueron evaluados por separado, además de posibles diferencias por la procedencia, y el método aplicado (purificación y

concentración de los compuestos antioxidantes con columnas Sep-Pack C18 antes del análisis). En el estudio actual, la evaluación se realizó en el grano entero.

En ciertas variedades de maíz pigmentado como el morado y negro, los valores de capacidad antioxidante son significativamente más elevados, debido a la presencia de altas concentraciones de antocianinas (70,71).

Los maíces evaluados en la presente investigación tuvieron una coloración de grano entre blanco y parcialmente rojo, lo que podría indicar una menor cantidad de antocianinas que el maíz morado, lo cual debe ser investigado en estudios futuros. Esto explicaría los menores rangos de capacidad antioxidante presentados en la fracción fenólica libre en comparación con los reportados por otros autores que incluyeron muestras de maíz morado y rojo (8,9,50).

Según los resultados obtenidos en el presente estudio, la capacidad antioxidante total del maíz Cabanita (libre + ligada) es mayor que los reportados en algunos maíces de diferente procedencia con una coloración similar a los granos evaluados y en comparación con otros cereales y alimentos (Tabla 8). Pang et al. (82), reportó una capacidad antioxidante de 13.0 a 25.0  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción libre y de 256 a 328  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción ligada en granos de arroz blanco.

Un estudio en sorgo rojo reportó valores de 124 a 380  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción libre y en la fracción ligada de 148 a 328  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  (81). Li et al. (84) estudió la capacidad antioxidante en quinua dando resultados de 861  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción libre y 502  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción ligada, Xiang et al. (85) presentaron un estudio en mijo obteniendo valores de 1559 a 3539  $\mu\text{moles ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción libre y 656 a 1470  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción ligada.

**Tabla 8.** Capacidad antioxidante total (fracción fenólica libre + fracción fenólica ligada) por el método de inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup> de muestras de maíz y otros granos de distinto origen.

Coloración	Muestra	Origen	μmol ET/100 g bs	Referencia
Blanco a rojo	Maíz	Caylloma	2626 a 3332	Estudio actual
Blanco a rojo	Maíz	Castilla	3411 a 4104	Estudio actual
Blanco, naranja.	Maíz	Perú	1613 a 3064	(8)
Blanco, naranja.	Maíz Cabanita	Perú	1879 a 2800	(8)
Blanco a negro	Maíz	Chile	1307 a 1850	(9)
Blanco a púrpura	Maíz	México	2827 a 4033	(50)
Blanco a púrpura	Maíz	Italia	988 a 3235	(91)
Blanco	Arroz	China	269 a 342	(82)
No específica	Quinua	Varios	1269	(84)
No específica	Mijo	Malawi	2352 a 5009	(85)

### 3.2.2 Inhibición del radical libre DPPH<sup>•</sup>

Los resultados de la capacidad antioxidante por el método de inhibición del radical libre DPPH<sup>•</sup> de las fracciones fenólicas libre y ligada se muestran en la Tabla 9. Los valores de capacidad antioxidante por el método de inhibición del radical libre DPPH<sup>•</sup> variaron desde 35 a 93 μmol ET/100 g bs en la fracción fenólica libre y de 642 a 948 μmol ET/100 g bs en la fracción ligada. En general las muestras presentaron tendencias similares a las observadas con el método de inhibición del radical ABTS<sup>•+</sup>.

La muestra CPL de la provincia de Castilla presentó el mayor valor en la fracción libre, mientras que la muestra AAP de la misma provincia, presentó una mayor capacidad antioxidante en la fracción ligada respecto a todas las muestras evaluadas.

**Tabla 9.** Capacidad antioxidante por método de inhibición de radical libre DPPH\* ( $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ ) en las fracciones fenólicas libres y ligadas.

Código	Caylloma						Castilla					
	BCL**	BAL*	BHL*	BLL**	BOL**	AAP**	AHP**	CAL**	YSL*	CPL*		
Fracción Libre	82 $\pm$ 19 <sup>a</sup>	61 $\pm$ 4 <sup>ab</sup>	42 $\pm$ 3 <sup>ab</sup>	35 $\pm$ 2 <sup>b</sup>	39 $\pm$ 3 <sup>ab</sup>	58 $\pm$ 10 <sup>ab</sup>	43 $\pm$ 9 <sup>ab</sup>	56 $\pm$ 6 <sup>ab</sup>	60 $\pm$ 3 <sup>ab</sup>	93 $\pm$ 13 <sup>a</sup>		
Fracción Ligada	836 $\pm$ 30 <sup>abc</sup>	674 $\pm$ 80 <sup>cd</sup>	760 $\pm$ 52 <sup>bcd</sup>	776 $\pm$ 34 <sup>bcd</sup>	642 $\pm$ 50 <sup>d</sup>	948 $\pm$ 93 <sup>a</sup>	898 $\pm$ 62 <sup>ab</sup>	901 $\pm$ 36 <sup>ab</sup>	828 $\pm$ 139 <sup>abc</sup>	832 $\pm$ 24 <sup>abc</sup>		
Total	919 $\pm$ 36 <sup>bc</sup>	735 $\pm$ 80 <sup>cd</sup>	802 $\pm$ 54 <sup>bcd</sup>	811 $\pm$ 34 <sup>bcd</sup>	681 $\pm$ 49 <sup>d</sup>	1006 $\pm$ 92 <sup>a</sup>	941 $\pm$ 68 <sup>ab</sup>	957 $\pm$ 37 <sup>ab</sup>	888 $\pm$ 136 <sup>abc</sup>	925 $\pm$ 36 <sup>ab</sup>		

\*n= 3, \*\*n=4. Letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa ( $p<0.05$ ).

En relación a la fracción fenólica libre, las muestras con pigmentaciones más oscuras (rojizo a parcialmente morado) presentaron mayores valores, así la muestra CPL mostró la mayor inhibición del radical libre DPPH<sup>\*</sup> (93  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ ), seguido de BCL (82.4  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ ) procedente de la provincia de Caylloma (coloración parcialmente roja). Las muestras de Castilla presentaron mayores rangos de capacidad antioxidante en la fracción ligada (828 a 948  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ ), que las de Caylloma (642 a 836  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ ) y los valores fueron mayores en esta fracción.

El actual estudio es el primero en evaluar la capacidad antioxidante por el método de inhibición del radical libre DPPH<sup>\*</sup> en muestras de maíz de raza Cabanita, y los valores obtenidos son similares a los reportados por González-Muñoz et al. (9) quienes determinaron la capacidad antioxidante en maíz amiláceo originarios de Chile con coloraciones similares a las muestras estudiadas en la presente investigación (31.9 a 171  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción libre y de 471 a 923  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción fenólica ligada). En granos de maíz procedentes del norte de México con pigmentación blanca a roja, Rodríguez-Salinas et al. (50) reportaron valores de capacidad antioxidante libre mayores al actual estudio, pero comparables en cuanto a lo observado en la fracción fenólica ligada (497 a 620  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción libre y 502 a 988  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la ligada).

Los resultados de capacidad antioxidante total (libre + ligada) son comparables a los encontrados en maíz de otras procedencias y en otros granos diferentes al maíz, como la quinua y el sorgo rojo (Tabla 10). Sin embargo, los resultados son superiores a lo reportado en cereales comunes como el arroz y el trigo (Tabla 10). En el caso de otros granos, Pang et al. (82) determinó una capacidad antioxidante de 5.0 a 19.0  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción libre y de 100 a 165  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción ligada en granos de arroz blanco. En el caso del sorgo rojo, se han reportado valores de 132 a 719  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción libre y de 100 a 165  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción ligada.

ET/100 g bs en la fracción libre y en la fracción ligada de 220 a 567  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  (81). Li et al. (82) estudió la capacidad antioxidante en quinua obteniendo resultados de 522  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción libre y 677  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción ligada. Kunklin et al. (86) reportaron valores de 372  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  como capacidad antioxidante total en trigo.

**Tabla 10.** Capacidad antioxidante total (fracción fenólica libre + fracción fenólica ligada) por el método de inhibición del radical DPPH<sup>\*</sup> de muestras de maíz y otros granos de distinto origen.

Coloración	Grano	Origen	$\mu\text{mol ET}/ 100 \text{ g bs}$	Referencia
Blanco a rojo	Maíz	Caylloma	681 a 919	Estudio actual
Blanco a rojo	Maíz	Castilla	888 a 1006	Estudio actual
Blanco a negro	Maíz	Chile	569 a 980	(9)
Blanco a púrpura	Maíz	México	1128 a 1608	(50)
Blanco a púrpura	Maíz	Italia	459 a 2040	(91)
Blanco	Arroz	China	110 a 182	(82)
No especifica	Quinua	Varios	1027	(84)
No especifica	Trigo	Tailandia	372	(86)

Al analizar de manera integral todos los resultados obtenidos por ambos métodos se ha encontrado que existe una correlación significativa entre los valores de capacidad antioxidante de la fracción ligada con los valores de capacidad antioxidante total (libre + ligada) ( $r= 0.9989$  y  $r= 0.9868$  con los métodos de inhibición de los radicales de ABTS<sup>++</sup> y DPPH<sup>\*</sup>, respectivamente), lo que confirma que la fracción fenólica ligada aporta de manera mayoritaria a la capacidad antioxidante total del maíz Cabanita. Adicionalmente, los rangos de capacidad antioxidante total por ambos métodos son mayores en las muestras de Castilla respecto a las de Caylloma, se destaca la muestra AAP procedente

del distrito de Andagua de la provincia de Castilla, la cual posee los valores más altos (4104  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  y 1006  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  con los métodos del ABTS<sup>++</sup> y DPPH<sup>\*</sup>, respectivamente). De acuerdo a la Tabla 3, esta muestra procede de plantas de maíz cultivado en una zona de mayor altitud (3399 m.s.n.m.) en comparación del resto de muestras de la misma provincia, contrastando con las muestras YSL y CPL que presentaron una menor capacidad antioxidante total y se desarrollaron a menor altitud. En el Anexo 1, se muestra que las temperaturas en el distrito Andahua durante el periodo de cultivo de las muestras analizadas, presentaron los promedios más bajos de 4.69 °C (mínimo) y 17.77 °C (máxima), respecto a los otros distritos como Cabanaconde (Caylloma), Ayo y Chachas (ambos de Castilla). Posiblemente estos factores climáticos de estrés abiótico (mayor altura y radiación, temperaturas frías) durante el crecimiento de la planta, estarían influenciando una mayor biosíntesis de compuestos antioxidantes en la planta para contrarrestar los radicales libres u otras especies oxidantes y en consecuencia promoviendo una mayor respuesta antioxidante (87,88,89,90).

El manejo agronómico (Anexo 1) fue similar en las dos provincias y en general es del tipo orgánico, por ejemplo, respecto al empleo de fertilizantes, para la preparación de la tierra y a veces durante el crecimiento del maíz se utiliza principalmente estiércol y a veces humus, compost y biol. Algunos estudios han mostrado que el uso de concentraciones diferentes de fertilizantes a base de (nitrógeno y fosfatos) no influye significativamente en la concentración de compuestos fenólicos y por lo tanto en la capacidad antioxidante (91,92). Sin embargo, la composición de la tierra (no analizada en el presente estudio) y del agua utilizada (de diferente procedencia: ya que en Caylloma se usa el agua del canal de Majes y en Castilla el agua del canal de Andahua), podrían también tener alguna influencia (87,93,94). Las diferencias encontradas en los resultados obtenidos podrían estar también asociadas a factores genéticos (95,96). En consecuencia,

son necesarios más estudios en el maíz Cabanita para determinar la influencia de estos factores en la síntesis de los diferentes compuestos antioxidantes que contribuyen a sus diferentes propiedades biológicas.




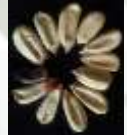






Finalmente, es importante mencionar que los valores obtenidos por el método de inhibición del radical ABTS<sup>•+</sup> fueron mayores a los reportados por el método de inhibición del radical DPPH<sup>•</sup>, esto ha sido también observado en diferentes estudios previos (9,46,70,71,73). Ambos radicales libres son los más usados para determinar la capacidad antioxidante *in vitro* debido a su estabilidad, sin embargo, la estructura del DPPH<sup>•</sup> obstaculiza el acceso de los antioxidantes pudiendo no reaccionar con todos, además que reacciona principalmente con los antioxidantes de naturaleza hidrofílica debido a su solubilidad en medios alcohólicos, a diferencia del radical ABTS<sup>•+</sup> que presenta una mayor reactividad y sensibilidad con los antioxidantes de naturaleza hidrofílica y lipofílica (97,98).

### **3.3 Capacidad antioxidante de las fracciones hidrofílicas y lipofílicas del grano de maíz Cabanita**

#### **3.3.1 Inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>**

De acuerdo a la Tabla 11, los valores de capacidad antioxidante variaron desde 566 a 1069  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción hidrofílica y de 63 a 87  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción lipofílica. Según la provincia de origen, la fracción hidrofílica de las muestras de maíz Cabanita procedentes de Caylloma presentó valores de 566 a 685  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ , valores inferiores a los obtenidos en el maíz de Castilla (652 a 1069  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ ). En el caso de la fracción lipofílica, los valores entre provincias fueron similares, los rangos variaron de 74 a 86  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  para las muestras de Caylloma, y de 63 a 87  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  para el maíz de Castilla.

**Tabla 11.** Capacidad antioxidante por método de inhibición de radical libre ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup> (μmol ET/100 g de bs) de las fracciones hidrofílicas y lipofílicas.

	Método		ABTS <sup>•+</sup>		DPPH <sup>•</sup>	
	Código		Hidrofílica	Lipofílica	Hidrofílica	Lipofílica
Caylloma	BCL**		652 ± 42 <sup>b</sup>	85 ± 6 <sup>ab</sup>	348 ± 54 <sup>ab</sup>	35 ± 3 <sup>ab</sup>
	BAL*		566 ± 11 <sup>b</sup>	74 ± 6 <sup>abc</sup>	268 ± 51 <sup>bc</sup>	24 ± 6 <sup>b</sup>
	BHL*		677 ± 32 <sup>b</sup>	82 ± 5 <sup>ab</sup>	325 ± 30 <sup>ab</sup>	35 ± 5 <sup>ab</sup>
	BLL**		618 ± 48 <sup>b</sup>	76 ± 5 <sup>abc</sup>	295 ± 27 <sup>bc</sup>	31 ± 6 <sup>ab</sup>
	BOL**		685 ± 23 <sup>b</sup>	86 ± 3 <sup>ab</sup>	336 ± 23 <sup>ab</sup>	34 ± 4 <sup>ab</sup>
Castilla	AAP**		1069 ± 90 <sup>a</sup>	87 ± 6 <sup>a</sup>	398 ± 35 <sup>a</sup>	40 ± 10 <sup>a</sup>
	AHP*		684 ± 51 <sup>b</sup>	77 ± 8 <sup>abc</sup>	228 ± 30 <sup>c</sup>	40 ± 1 <sup>ab</sup>
	CAL**		662 ± 58 <sup>b</sup>	78 ± 8 <sup>abc</sup>	266 ± 31 <sup>bc</sup>	33 ± 6 <sup>ab</sup>
	YSL*		689 ± 59 <sup>b</sup>	63 ± 5 <sup>bc</sup>	310 ± 15 <sup>abc</sup>	35 ± 5 <sup>ab</sup>
	CPL*		652 ± 38 <sup>b</sup>	72 ± 6 <sup>c</sup>	291 ± 14 <sup>bc</sup>	34 ± 3 <sup>ab</sup>

\*n= 3, \*\*n=4. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa (p<0.05).

A pesar que la información científica sobre la capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica en muestras de cereales como el maíz aún es limitada, los resultados obtenidos en la fracción hidrofílica del maíz Cabanita son mayores en comparación con los reportados por Deng et al. (100) quienes evaluaron diferentes granos y en el caso de muestras de maíz de mercados de China, obtuvieron valores de 28  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ , en sorgo 89  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  y en trigo 54  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ , Marecek et al. (97) determinaron valores de 300 y 330  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en la fracción hidrofílica de muestras de malta y cebada, respectivamente. En cuanto a la fracción lipofílica, los valores determinados en el actual estudio son bajos en relación a lo obtenido por Deng et al. (100) que obtuvo 424  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en maíz (China) y 315  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  en trigo, al igual que Konopka et al. (101) que informaron un valor de 124  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  para el trigo. El tipo de muestra (factores genéticos) y la procedencia generalmente asociada a condiciones agroclimáticas específicas serían factores relevantes en las diferencias encontradas, sin embargo, otros aspectos como la metodología de extracción aplicada (tipo de solvente que usaron los otros autores para las fracciones hidrofílicas y lipofílicas) podrían también contribuir con las diferencias observadas en los resultados.

### **3.3.2 Inhibición del radical libre DPPH<sup>•</sup>.**

Al igual que lo observado con el método de inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>, la capacidad antioxidante de las fracciones hidrofílicas del maíz Cabanita fueron mayores a los resultados de la fracción lipofílica presentando valores de 228 a 398  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ , mientras que los valores de las fracciones lipofílicas oscilaron de 24 a 40  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ . Entre ambas provincias los resultados fueron en general similares, la fracción hidrofílica de las muestras de Caylloma presentó valores de 268 a 348  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ , mientras que las de Castilla tuvieron un rango de 228 a 398  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ , en cuanto

a la fracción lipofílica el maíz de Caylloma presentó una capacidad antioxidante de 24 a 35  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  y el de Castilla de 33 a 40  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ .

Existen pocos estudios referidos a las fracciones lipofílicas mediante este método en cereales o alimentos; sin embargo, los valores de la presente tesis son comparables con los rangos obtenidos en la fracción hidrofílica de la cebada (200  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ ) y malta (330  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ ) (93), mientras que en la fracción lipofílica los valores son menores a los reportados en trigo 252 a 709  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  (102). Estas diferencias pueden explicarse por diversos factores previamente expuestos.

Los resultados presentaron tendencias similares a los obtenidos con el método de inhibición de radical  $\text{ABTS}^{*\cdot}$ , los valores son mayores en la fracción hidrofílica comparado con la fracción lipofílica y de igual forma la muestra AAP de Castilla fue la que presentó los valores más altos en ambas fracciones (398  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  y 40  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$ , fracción hidrofílica y lipofílica, respectivamente).

Al analizar todos los resultados de forma conjunta, se observa que la muestra AAP de la provincia de Castilla presentó los mayores valores de capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica por ambos métodos. Esta misma muestra también obtuvo la mayor capacidad antioxidante total con un aporte significativo de la fracción fenólica ligada. Como mencionado previamente, esta muestra procede de una zona de cultivo a mayor altura en la provincia de Castilla (distrito de Andahua, Anexo 1). Se conoce que a mayor altura existe una mayor exposición a luz solar (87) este factor sumado a los rangos de temperaturas más bajas presentadas en el periodo de crecimiento del maíz en esta zona geográfica, podrían haber influenciado una mayor biosíntesis de carotenoides, debido a que estos compuestos tienen un efecto de fotoprotección del cultivo además de ser precursores de apocarotenoides que ayudan a tolerar la ausencia de agua (105). Es posible entonces que una mayor concentración de carotenoides esté aportando de manera

importante a la capacidad antioxidante lipofílica en la muestra AAP. Esto en conjunto con una posible mayor presencia de compuestos fenólicos que también cumplen una función de protección ante factores de estrés abióticos (87), explicarían en general la mayor capacidad antioxidante (total, hidrofílica y lipofílica) presentada por la muestra AAP. Sin embargo, esto debe ser confirmado en otros trabajos de investigación a futuro.

Ambos métodos han revelado que la fracción hidrofílica es la que aporta significativamente a la capacidad antioxidante del maíz respecto a la fracción lipofílica, y esto podría explicarse por la mayor concentración de compuestos fenólicos que generalmente se encuentra en la fracción libre del maíz respecto a las concentraciones de compuestos liposolubles como los carotenoides. Así Zilic et al. (103) ha reportado un rango de fenólicos totales de 4.49-10.5 mg equivalente de ácido gálico (EAG)/g bs, mientras que el contenido de carotenoides osciló entre 0.01 a 13.89  $\mu\text{g/g}$  bs de luteína y de 0.21 a 2.42  $\mu\text{g/g}$  bs de  $\beta$ -caroteno en granos de maíz de pigmentación variable y de diferentes procedencias. En otro estudio con 4 maíces pigmentados cultivados en Italia, dos de ellos con pigmentación amarilla y roja se reportaron valores de fenólicos totales de 1359 a 4047  $\mu\text{g}$  equivalentes de catequina/g bs y carotenoides totales 3.4 a 71.6  $\mu\text{g/g}$  bs (106).

En relación al tipo de compuestos antioxidantes hidrofílicos, es posible que los compuestos fenólicos libres como ciertos ácidos fenólicos y sus derivados aporten a la capacidad antioxidante hidrofílica en el maíz Cabanita. Ranilla et al. (8) identificaron en la fracción fenólica libre de algunas muestras de maíz Cabanita derivados de ácidos fenólicos del tipo hidroxicinámico como derivados de ácido p-cumárico, de ácido ferúlico y de ácido cafeico. En el presente estudio, la capacidad antioxidante de la fracción lipofílica fue mayor en los granos de pigmentación amarillo-blanca, naranja y parcialmente roja. Esto podría estar relacionado con la presencia de compuestos más

apolares, principalmente carotenoides como: luteína, zeaxantina,  $\beta$ -caroteno (103,106). Song et al (107) realizó un estudio más amplio en el cual reportó trans-luteína, trans-zeaxantina, trans- $\alpha$ -criptoxantina, trans- $\beta$ -criptoxantina y violaxantina, además de diferentes isómeros de estos compuestos en menores concentraciones (107). Otros compuestos lipofílicos como homólogos de tocoferol (80), además de fitoesteroles como  $\beta$ -sitosterol, campesterol y estigmasterol (104) también han sido reportados en diferentes muestras de maíz. A través de estudios a futuro se podrían determinar los perfiles y contenidos de los compuestos antioxidantes presentes en las muestras de maíz Cabanita evaluados en el presente estudio.



## CONCLUSIONES

- Las muestras de maíz Cabanita procedente de 10 puntos geográficos en total de las provincias de Caylloma y Castilla en la región Arequipa presentaron capacidad antioxidante en sus fracciones fenólicas libre, ligada, hidrofílica y lipofílica con los métodos de inhibición de los radicales libres ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>, constituyendo por lo tanto un potencial alimento saludable para los consumidores.
- La capacidad antioxidante del maíz Cabanita evaluada con ambos métodos fue mayor en las fracciones fenólicas ligadas a la fibra dietética (2583 a 4041  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , 642 a 948  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , con los métodos de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> y del DPPH<sup>•</sup>, respectivamente) que en las fracciones libres (37 a 107  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , 35 a 93  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , con los métodos de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> y del DPPH<sup>•</sup>, respectivamente), contribuyendo significativamente a los valores de capacidad antioxidante total.
- La capacidad antioxidante de las fracciones hidrofílicas (566 a 1069  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , 228 a 398  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , con los métodos de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> y del DPPH<sup>•</sup>, respectivamente) del maíz Cabanita procedente de Caylloma y Castilla determinada con ambos métodos fue más alta que en las fracciones lipofílicas (63 a 87  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , 24 a 40  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ , con los métodos de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> y del DPPH<sup>•</sup>, respectivamente).
- Los rangos de capacidad antioxidante total (fracción fenólica libre + fracción fenólica ligada) fueron mayores en el maíz procedente de la provincia de Castilla comparados con los de Caylloma. La capacidad antioxidante hidrofílica y lipofílica fue en general

similar en las muestras de ambas provincias, aunque el rango de capacidad antioxidante de la fracción hidrofílica con el método de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> fue mayor en las muestras de Castilla que en las de Caylloma.

- La muestra AAP (Castilla) presentó los mayores valores de capacidad antioxidante en la fracción fenólica ligada (4041  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  con el método de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> y 948  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  con el método de inhibición del DPPH<sup>•</sup>), en la fracción hidrofílica (1069  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  con el método de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> y 398  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  con el método de inhibición del DPPH<sup>•</sup>), y en la fracción lipofílica (87  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  con el método de inhibición del ABTS<sup>•+</sup> y 40  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$  con el método de inhibición del DPPH<sup>•</sup>), presentando por lo tanto un potencial para su aplicación en programas de reproducción de semillas a futuro.

## RECOMENDACIONES

- Es necesario investigar el tipo de compuestos antioxidantes presentes en el maíz Cabanita y su correlación con los resultados de capacidad antioxidante *in vitro* obtenidos en el presente trabajo de investigación.
- Llevar a cabo estudios que determinen la posible influencia de los factores genéticos, agroclimáticos, los procedimientos experimentales y demás factores abióticos que podrían influir en el contenido de los compuestos antioxidantes y su relación con la actividad antioxidante.
- Con los resultados obtenidos con estos métodos *in vitro*, se tiene una base para proceder con estudios *in vivo* a futuro.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sharifi-Rad M, Anil Kumar NV, Zucca P, Varoni EM, Dini L, Panzarini E, et al. Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: Back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Front Physiol.* 2020;11:694. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>
2. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging.* 2018;13:757–72. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2147/cia.s158513>
3. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2004;114(12):1752–61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1172/JCI21625>
4. Aguilar-Paredes OA, Castillo-Guevara C, Díaz-Godínez R, Nieto-Camacho A, Méndez-Iturbide D. Antioxidantes e inhibición de radicales libres: lipoperoxidación y carbonilación. *Mex J Biotechnol.* 2018;3(1):60–72. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.29267/mxjb.2018.3.1.60>
5. Van Hung P. Phenolic compounds of cereals and their antioxidant capacity. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2016;56(1):25–35. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2012.708909>
6. Línea de base de la diversidad genética del maíz peruano con fines de bioseguridad [Internet]. Gob.pe. [citado el 20 de octubre de 2021]. Disponible en

<https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2019/01/Linea-de-base-ma%C3%ADz-LowRes.pdf>

7. Tabla de composición de alimentos. Gob.pe. [citado el 20 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/20.500.14196/1034/tablas-peruanas-QR.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
8. Ranilla LG, Huamán-Alvino C, Flores-Báez O, Aquino-Méndez EM, Chirinos R, Campos D, et al. 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):2909–24. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-019-03748-z>
9. González-Muñoz A, Quesille-Villalobos AM, Fuentealba C, Shetty K, Gálvez Ranilla L. Potential of Chilean native corn (*Zea mays* L.) accessions as natural sources of phenolic antioxidants and *in vitro* bioactivity for hyperglycemia and hypertension management. J Agric Food Chem. 2013;61(46):10995–1007. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/jf403237p>
10. Senamhi. Datos hidrometeorológicos a nivel nacional. Gob.pe. [citado el 8 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://www.senamhi.gob.pe/?&p=estaciones>
11. El maíz en la nutrición humana - Introducción. Fao.org. [citado el 20 de octubre de 2021]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/t0395s/T0395S02.htm>

12. Salhuana W. Estado actual de las accesiones y plan de regeneración. En CIMMYT; 2003.
13. Kuleshov NN. The geographical distribution of the vari-etal diversity of maize in the world. Bull Appl Bot Genet Plant Breed. 1929;20:425–510. Disponible en: <https://eurekamag.com/research/025/804/025804300.php>
14. Requerimientos agroclimáticos del cultivo de maíz amiláceo-Ficha técnica N°7.Gob.pe. [citado el 08 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/419900/ficha-tecnica-07-cultivo-amilaceo.pdf>
15. FAO. Faostat: FAO Statistical Databases [Internet]. Rome, Italy: Food & Agriculture Organization of the United Nations (FAO); 2000 [citado el 20 de octubre de 2021]. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>
16. Gobierno Regional de Arequipa. Estadística agrícola [Internet]. Gob.pe. 2016 [citado el 20 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://www.agroarequipa.gob.pe/index.php/agricol/a>
17. Ripley D, Mayr E. Systematics and the origin of species. Bird-band. 1943;14(3):89. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2307/4509787>
18. Salhuana W. Diversidad y descripción de las razas de maíz en el Perú. En: Cincuenta años del programa Cooperativo de Investigaciones en Maíz (PCIM). 2004;204–251. Disponible en:

[https://www.ars.usda.gov/ARSTUserFiles/50301000/Races\\_of\\_Maize/Diversidad%20y%20razas%20de%20maiz%20en%20Peru.pdf](https://www.ars.usda.gov/ARSTUserFiles/50301000/Races_of_Maize/Diversidad%20y%20razas%20de%20maiz%20en%20Peru.pdf)

19. Biesalski H-K, Dragsted LO, Elmadfa I, Grossklaus R, Müller M, Schrenk D, et al. Bioactive compounds: definition and assessment of activity. *Nutrition*. 2009;25(11–12):1202–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.023>
20. Martirosyan D, Miller E. Bioactive compounds: The key to functional foods. *Bioactive Compounds in Health and Disease*. 2018;1(3):36. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.31989/bchd.v1i3.539>
21. Konstantinidi M, Koutelidakis AE. Functional foods and bioactive compounds: A review of its possible role on weight management and obesity's metabolic consequences. *Medicines (Basel)*. 2019;6(3):94. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/medicines6030094>
22. Tsimogiannis D, Oreopoulou V. Classification of phenolic compounds in plants. In: *Polyphenols in plants*. Elsevier; 2019. p. 263–84. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128137680000268>
23. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem*. 2006;99(1):191–203. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>

24. Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2010;2(12):1231–46. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/nu2121231>
25. Vuolo MM, Lima VS, Maróstica Junior MR. Phenolic compounds: structure, classification, and antioxidant power. In: *Bioactive Compounds*. Elsevier; 2019. p. 33–50. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814774-0.00002-5>
26. Călinoiu LF, Vodnar DC. Whole grains and phenolic acids: A review on bioactivity, functionality, health benefits and bioavailability. *Nutrients*. 2018;10(11):1615. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/nu10111615>
27. Kumar N, Goel N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnol Rep (Amst)*. 2019;24(e00370):e00370. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>
28. Rashmi HB, Negi PS. Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. *Food Res Int*. 2020;136(109298):109298. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109298>
29. de la Rosa LA, Moreno-Escamilla JO, Rodrigo-García J, Alvarez-Parrilla E. Phenolic Compounds. En: *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Elsevier; 2019. p. 253–71. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-04653-3>
30. Alam MA, Subhan N, Hossain H, Hossain M, Reza HM, Rahman MM, et al. Hydroxycinnamic acid derivatives: a potential class of natural compounds for the

management of lipid metabolism and obesity. *Nutr Metab (Lond)*. 2016;13(1):27.

Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12986-016-0080-3>

31. Maurya DK, Devasagayam TPA. Antioxidant and prooxidant nature of hydroxycinnamic acid derivatives ferulic and caffeic acids. *Food Chem Toxicol*. 2010;48(12):3369–73. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2010.09.006>
32. Gutiérrez-Grijalva EP, Picos-Salas MA, Leyva-López N, Criollo-Mendoza MS, Vazquez-Olivo G, Heredia JB. Flavonoids and phenolic acids from oregano: occurrence, biological activity and health benefits. *Plants*. 2017;7(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/plants7010002>
33. Shahidi F, Yeo J. Insoluble-bound phenolics in food. *Molecules*. 2016;21(9):1216. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules21091216>
34. Brodowska KM. Natural flavonoids: Classification, potential role, and application of flavonoid analogues. 2017. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.545778>
35. Ullah R, Khan M, Shah SA, Saeed K, Kim MO. Natural antioxidant anthocyanins- A hidden therapeutic candidate in metabolic disorders with major focus in neurodegeneration. *Nutrients*. 2019;11(6):1195. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/nu11061195>
36. Tena N, Martín J, Asuero AG. State of the art of anthocyanins: Antioxidant activity, sources, bioavailability, and therapeutic effect in human health.

- Antioxidants (Basel). 2020;9(5):451. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.3390/antiox9050451>
37. Kong J-M, Chia L-S, Goh N-K, Chia T-F, Brouillard R. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*. 2003;64(5):923–33. Disponible en:  
[http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422\(03\)00438-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422(03)00438-2)
38. Singla RK, Dubey AK, Garg A, Sharma RK, Fiorino M, Ameen SM, et al. Natural polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *J AOAC Int* 2019;102(5):1397–400. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.1093/jaoac/102.5.1397>
39. Bogacz-Radomska L, Harasym J.  $\beta$ -Carotene—properties and production methods. *Food Qual Saf.* 2018;2(2):69–74. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.1093/fqsafe/fyy004>
40. Elvira-Torales LI, García-Alonso J, Periago-Castón MJ. Nutritional importance of carotenoids and their effect on liver health: A review. *Antioxidants (Basel)*. 2019;8(7):229. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox8070229>
41. Young A, Lowe G. Carotenoids—Antioxidant Properties. *Antioxidants (Basel)*. 2018;7(2):28. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox7020028>
42. Ribeiro D, Freitas M, Silva AMS, Carvalho F, Fernandes E. Antioxidant and pro-oxidant activities of carotenoids and their oxidation products. *Food Chem Toxicol*. 2018;120:681–99. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.060>

43. Capocchi A, Bottega S, Spanò C, Fontanini D. Phytochemicals and antioxidant capacity in four Italian traditional maize (*Zea mays* L.) varieties. *Int J Food Sci Nutr.* 2017;68(5):515–24. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/09637486.2016.1261809>
44. Lopez-Martinez LX, Oliart-Ros RM, Valerio-Alfaro G, Lee C-H, Parkin KL, Garcia HS. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *Lebenson Wiss Technol.* 2009;42(6):1187–92. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2008.10.010>
45. Madhujith T, Shahidi F. Antioxidant potential of barley as affected by alkaline hydrolysis and release of insoluble-bound phenolics. *Food Chem.* 2009;117(4):615–20. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.055>
46. Wang Z, Li S, Ge S, Lin S. Review of distribution, extraction methods, and health benefits of bound phenolics in food plants. *J Agric Food Chem.* 2020;68(11):3330–43. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06574>
47. Coco MG Jr, Vinson JA. Analysis of Popcorn (*Zea mays* L. var. everta) for Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content. *Antioxidants (Basel).* 2019;8(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox8010022>

48. Francavilla A, Joye IJ. Anthocyanins in whole grain cereals and their potential effect on health. *Nutrients*. 2020;12(10):2922. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/87559129.2022.2027438>
49. Mishra M, Sushma, Sharma R. Corn (*Zea mays*) as a nutrient source and diet: a review. *J Pharm Res Int*. 202;299–303. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.9734/jpri/2021/v33i52b33629>
50. Rodríguez-Salinas PA, Zavala-García F, Urías-Orona V, Muy-Rangel D, Heredia JB, Niño-Medina G. Chromatic, nutritional and nutraceutical properties of pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico. *Arab J Sci Eng*. 2020;45(1):95–112. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s13369-019-04086-0>
51. Zavala-López M, Flint-García S, García-Lara S. Compositional variation in trans-ferulic, p-coumaric, and diferulic acids levels among kernels of modern and traditional maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Front Nutr*. 2020;7:600747. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fnut.2020.600747>
52. Bento-Silva A, Vaz Patto MC, do Rosário Bronze M. Relevance, structure and analysis of ferulic acid in maize cell walls. *Food Chem*. 2018;246:360–78. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.012>
53. Elsayed Azab A, A Adwas A, Ibrahim Elsayed AS, A Adwas A, Ibrahim Elsayed AS, Quwaydir FA. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J Appl Biotechnol Bioeng*. 2019;6(1):43–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00173>

54. Ito F, Sono Y, Ito T. Measurement and clinical significance of lipid peroxidation as a biomarker of oxidative stress: Oxidative stress in diabetes, atherosclerosis, and chronic inflammation. *Antioxidants (Basel)*. 2019;8(3):72. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox8030072>
55. Hayes JD, Dinkova-Kostova AT, Tew KD. Oxidative stress in cancer. *Cancer Cell*. 2020;38(2):167–97. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccell.2020.06.001>
56. Sies H. Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(9):852. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox9090852>
57. Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol*. 2014;24(10):R453-62. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034>
58. Wang X-Q, Wang W, Peng M, Zhang X-Z. Free radicals for cancer theranostics. *Biomaterials [Internet]*. 2021;266(120474):120474. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120474>
59. Zulaikhah ST. The role of antioxidant to prevent free radicals in the body. *Sains Med*. 2017;8(1):39. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.26532/sainsmed.v8i1.1012>

60. Poprac P, Jomova K, Simunkova M, Kollar V, Rhodes CJ, Valko M. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends Pharmacol Sci.* 2017;38(7):592–607. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2017.04.005>
61. Sharma GN, Gupta G, Sharma P. A comprehensive review of free radicals, antioxidants, and their relationship with human ailments. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2018;28(2):139–54. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2018022258>
62. Zeb A. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *J Food Biochem.* 2020;44(9):e13394. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/jfbc.13394>
63. Karadag A, Ozcelik B, Saner S. Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Anal Methods.* 2009;2(1):41–60. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>
64. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Arch Toxicol [Internet].* 2020;94(3):651–715. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
65. Tafulo PAR, Queirós RB, Delerue-Matos CM, Sales MGF. Control and comparison of the antioxidant capacity of beers. *Food Res Int.* 2010;43(6):1702–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.05.014>

66. Amorati R, Valgimigli L. Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants. *Free Radic Res.* 2015;49(5):633–49. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3109/10715762.2014.996146>
67. Munteanu IG, Apetrei C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *Int J Mol Sci.* 2021;22(7):3380. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22073380>
68. Becker M, Nunes G, Ribeiro D, Silva F, Catanante G, Marty J. Determination of the antioxidant capacity of red fruits by miniaturized spectrophotometry assays. *J Braz Chem Soc.* 2019. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20190003>
69. Ivanova A, Gerasimova E, Gazizullina E. Study of antioxidant properties of agents from the perspective of their action mechanisms. *Molecules.* 2020;25(18):4251. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25184251>
70. Lao F, Sigurdson GT, Giusti MM. Health benefits of purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2017;16(2):234–46. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12249>
71. Ramos-Escudero F, Muñoz AM, Alvarado-Ortíz C, Alvarado Á, Yáñez JA. 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):206–15. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2010.0342>

72. Fuentes Cárdenas I. Valorización de la biodiversidad del maíz cabanita (*zea mays* L.) de la región Arequipa a través del análisis de su contenido y perfil de compuestos bioactivos (polifenoles y carotenoides) relevantes a la salud [Tesis de pregrado]. Arequipa; Universidad Católica de Santa María; 2022. <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/20.500.12920/11601>
73. Ranilla LG, 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):2968–76. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13973>
74. Mishra K, Ojha H, Chaudhury NK. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. Food Chem. 2012;130(4):1036–43. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>
75. Fuentealba C, Gálvez L, Cobos A, Olaeta JA, Defilippi BG, Chirinos R, et al. Characterization of main primary and secondary metabolites and in vitro antioxidant and antihyperglycemic properties in the mesocarp of three biotypes of Pouteria lucuma. Food Chem. 2016;190:403–11. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.111>
76. INACAL. Norma Técnica Peruana NTP 205.002:1979 (revisada el 2016). CEREALES Y MENESTRAS. Determinación del contenido de humedad. Método usual. Lima; 2016.

77. Duarte-Almeida JM, Vidal Novoa A, Fallanero Linares A, Lajolo FM, Genovese MI. Antioxidant activity of phenolics compounds from sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) juice. *Plant Foods Hum Nutr.* 2006;61(4): 187–92. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11130-006-0032-6>
78. García-Lara S, Chuck-Hernandez C, Serna-Saldivar SO. Development and structure of the corn kernel. En: *Corn.* Elsevier; 2019. p. 147–63. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00006-1>
79. FAO, OMS. Codex alimentarius. Cereales, legumbres, leguminosas y productos proteínicos vegetales. Codex STAN 154-1985. Norma del Codex para la harina integral de maíz. Roma; 2007. 39- 42. Disponible en: <https://www.fao.org/3/a1392s/a139>
80. Das AK, Singh V. Antioxidative free and bound phenolic constituents in botanical fractions of Indian specialty maize (*Zea mays* L.) genotypes. *Food Chem.* 2016;201:298–306. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.099>
81. Redaelli R, Alfieri M, Cabassi G. Development of a NIRS calibration for total antioxidant capacity in maize germplasm. *Talanta.* 2016;154:164–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.03.048>
82. Pang Y, Ahmed S, Xu Y, Beta T, Zhu Z, Shao Y, et al. Bound phenolic compounds and antioxidant properties of whole grain and bran of white, red and black rice. *Food Chem.* 2018;240:212–21. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.095>

83. Li M, Xu T, Zheng W, Gao B, Zhu H, Xu R, et al. Triacylglycerols compositions, soluble and bound phenolics of red sorghums, and their radical scavenging and anti-inflammatory activities. *Food Chem.* 2021;340(128123):128123. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128123>
84. Li L, Lietz G, Seal CJ. Phenolic, apparent antioxidant and nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds. *Int J Food Sci Technol* [Internet]. 2021;56(7):3245–54. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.14962>
85. Xiang J, Li W, Ndolo VU, Trust Beta. A comparative study of the phenolic compounds and in vitro antioxidant capacity of finger millets from different growing regions in Malawi. *J Cereal Sci.* 2019;87:143–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2019.03.016>
86. Klunklin W, Savage G. Physicochemical, antioxidant properties and in vitro digestibility of wheat-purple rice flour mixtures. *Int J Food Sci Technol.* 2018;53(8):1962–71. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/ijfs.13785>
87. Naikoo MI, Dar MI, Raghieb F, Jaleel H, Ahmad B, Raina A, et al. Role and regulation of plants phenolics in abiotic stress tolerance. En: *Plant Signaling Molecules.* Elsevier; 2019. p. 157–68. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-816451-8.00009-5>
88. Ranilla LG, Rios-Gonzales BA, Ramírez-Pinto MF, Fuentealba C, Pedreschi R, Shetty K. Primary and phenolic metabolites analyses, in vitro health-relevant bioactivity and physical characteristics of purple corn (*Zea mays* L.) grown at two

- Andean geographical locations. *Metabolites*. 2021;11(11):722. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo11110722>
89. Ordóñez-Díaz JL, Cardeñosa V, Muñoz-Redondo JM, Ferreres F, Pereira-Caro G, Medrano E, et al. Impact of abiotic stresses (nitrogen reduction and salinity conditions) on phenolic compounds and antioxidant activity of strawberries. *Processes* (Basel). 2021;9(6):1044. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/pr9061044>
90. Hwang T, Ndolo VU, Katundu M, Nyirenda B, Bezner-Kerr R, Arntfield S, et al. Provitamin A potential of landrace orange maize variety (*Zea mays* L.) grown in different geographical locations of central Malawi. *Food Chem*. 2016; 196:1315–24. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.067>
91. Giordano D, Trust Beta, 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):4300–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00326>
92. Lux PE, Freiling M, Stuetz W, von Tucher S, Carle R, Steingass CB, et al. (poly)phenols, carotenoids, and tocochromanols in corn (*Zea mays* L.) kernels as affected by phosphate fertilization and sowing time. *J Agric Food Chem*. 2020;68(2):612–22. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07009>
93. Bistgani ZE, Hashemi M, DaCosta M, Craker L, Maggi F, Morshedloo MR. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. *Ind Crops*

Prod. 2019;135:311–20. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.055>

94. Kiani R, Arzani A, Mirmohammady Maibody SAM. Polyphenols, flavonoids, and antioxidant activity involved in salt tolerance in wheat, *Aegilops cylindrica* and their amphidiploids. *Front Plant Sci.* 2021;12:646221. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2021.646221>
95. Cardeñosa V, Girones-Vilaplana A, Muriel JL, Moreno DA, Moreno-Rojas JM. Influence of genotype, cultivation system and irrigation regime on antioxidant capacity and selected phenolics of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Chem.* 2016;202:276–83. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.118>
96. Graziano S, Marando S, Prandi B, Boukid F, Marmiroli N, Francia E, et al. Technological quality and nutritional value of two durum wheat varieties depend on both genetic and environmental factors. *J Agric Food Chem.* 2019;67(8):2384–95. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06621>
97. Mareček V, Mikyška A, Hampel D, Čejka P, Neuwirthová J, Malachová A, et al. ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. *J Cereal Sci.* 2017;73:40–5. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2016.11.004>
98. Arnao MB. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends Food Sci Technol.*

- 2000;11(11):419–21. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s0924-2244\(01\)00027-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0924-2244(01)00027-9)
99. Rodríguez VM, Soengas P, Landa A, Ordás A, Revilla P. Effects of selection for color intensity on antioxidant capacity in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica*. 2013;193(3):339–45. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-013-0924-0>
100. Deng G-F, Xu X-R, Guo Y-J, Xia E-Q, Li S, Wu S, et al. Determination of antioxidant property and their lipophilic and hydrophilic phenolic contents in cereal grains. *J Funct Foods*. 2012;4(4):906–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2012.06.008>
101. Konopka I, Grabiński J, Skrajda M, Dąbrowski G, Tańska M, Podolska G. Variation of wheat grain lipid fraction and its antioxidative status under the impact of delayed sowing. *J Cereal Sci*. 2017;76:56–63. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2017.05.013>
102. Skrajda-Brdak M, Konopka I, Tańska M, Sulewska H. Lipophilic fraction and its capacity in sixteen spelt genotypes cultivated in Poland. *J Cereal Sci*. 2019;89(102809):102809. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102809>
103. Zilić S, Serpen A, Akıllıoğlu G, Gökmen V, Vančetović J. Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *J Agric Food Chem*. 2012;60(5):1224–31. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/jf204367z>

104. Burlini I, Grandini A, Tacchini M, Maresca I, Guerrini A, Sacchetti G. Different strategies to obtain corn (*Zea mays* L.) germ extracts with enhanced antioxidant properties. *Nat Prod Commun.* 2020;15(1):1934578X2090356. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1177/1934578x20903562>
105. da Silva Messias R, Galli V, Dos Anjos E Silva SD, Rombaldi CV. Carotenoid biosynthetic and catabolic pathways: gene expression and carotenoid content in grains of maize landraces. *Nutrients.* 2014;6(2):546–63. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/nu6020546>
106. Suriano S, Balconi C, Valoti P, Redaelli R. Comparison of total polyphenols, profile anthocyanins, color analysis, carotenoids and tocols in pigmented maize. *Lebenson Wiss Technol.* 2021;144(111257):111257. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111257>
107. Song J, Li D, He M, Chen J, Liu C. Comparison of carotenoid composition in immature and mature grains of corn (*Zea Mays* L.) varieties. *Int J Food Prop.* 2016;19(2):351–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2015.1031245>

## ANEXOS

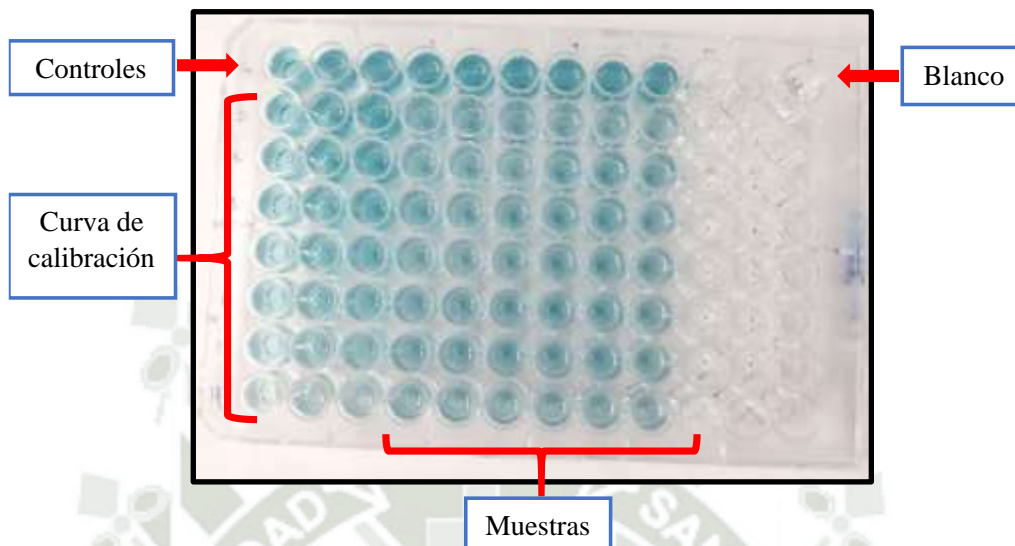
**Anexo 1.** Temperaturas máximas y mínimas de lugares cercanos a los puntos de colección y manejo agronómico.

**Tabla 12.** Caylloma y Castilla, periodo agosto del 2018 a mayo del 2019.

Provincia	Distrito	2018			2019			Promedio		Fertilizante <sup>70</sup>	Procedencia del agua <sup>70</sup>
		Temperatura °C			Temperatura °C			Temperatura °C			
		Mes	Max	Min	Mes	Max	Min	Max	Min		
Caylloma	Cabanaconde	Agosto	19.42	5.07	Enero	18.94	7.83	19,17	6,56	Biol y compost	Canal de Majes
		Setiembre	19.89	5.63	Febrero	17.68	7.82				
		Octubre	19.23	5.89	Marzo	18.23	7.50				
		Noviembre	19.83	6.37	Abril	18.99	6.98				
		Diciembre	19.90	6.64	Mayo	19.62	5.90				
Castilla	Andagua	Agosto	18.22	2.79	Enero	17.27	5.81	17,77	4,69	Abono	Canal de Andahua
		Setiembre	18.85	3.60	Febrero	16.04	6.00				
		Octubre	17.78	4.18	Marzo	17.23	5.85				
		Noviembre	18.25	4.53	Abril	17.58	5.08				
		Diciembre	18.70	5.21	Mayo	17.77	3.85				
Castilla	Chachas	Agosto	20.33	5.01	Enero	20.62	9.41	20,60	7,61	Abono	Canal de Andahua
		Setiembre	21.27	5.28	Febrero	19.23	9.47				
		Octubre	20.60	6.90	Marzo	20.45	9.41				
		Noviembre	20.98	7.45	Abril	20.28	8.23				
		Diciembre	21.89	8.59	Mayo	20.33	6.34				

**Fuente:** SENAMHI (10) y datos adaptados de Fuentes (70).

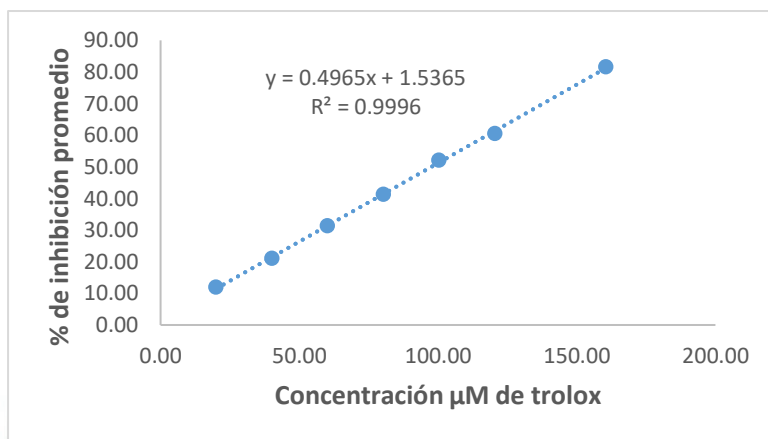
**Anexo 2.** Ejemplo de microplaca y curvas de calibración con el método in vitro de inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>.



**Figura 12.** Ejemplo de microplaca con el método in vitro de inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>.

**Tabla 13.** Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción libre, ligada e hidrofílica aplicando el método in vitro de inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>.

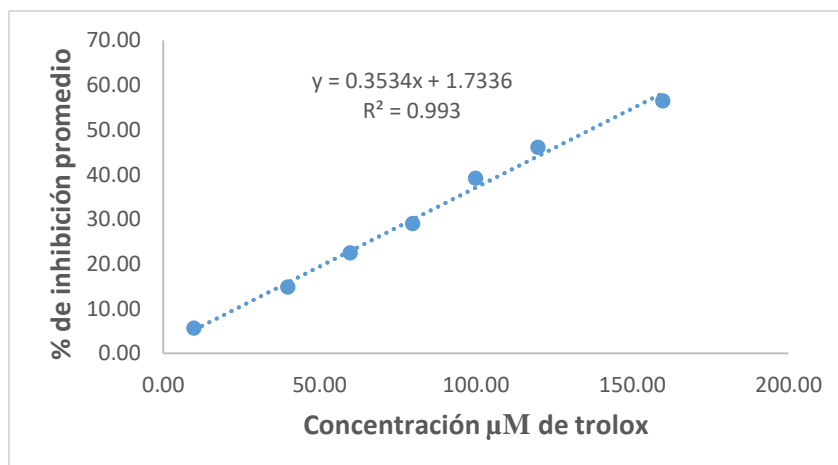
μmol equivalente de Trolox	Absorbancia promedio	% de inhibición	% de inhibición promedio	Desviación estándar
20.08	0.6050	14.67	11.88	2.53
	0.6080	11.24		
	0.6130	9.72		
40.16	0.5440	23.27	21.10	1.90
	0.5460	20.29		
	0.5450	19.73		
60.24	0.4740	33.15	31.38	1.94
	0.4680	31.68		
	0.4800	29.31		
80.32	0.4120	41.89	41.29	0.87
	0.4090	40.29		
	0.3960	41.68		
100.40	0.3420	51.76	52.05	0.56
	0.3240	52.70		
	0.3280	51.69		
120.48	0.2770	60.93	60.59	1.18
	0.2790	59.27		
	0.2610	61.56		
160.64	0.1360	80.82	81.58	1.07
	0.1210	82.34		



**Figura 13.** Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción libre, ligada e hidrofílica aplicando el método *in vitro* de inhibición de radical libre ABTS<sup>•+</sup>.

**Tabla 14.** Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción lipofílica aplicando el método de inhibición ABTS<sup>•+</sup>.

$\mu\text{mol}$ equivalente de Trolox	Absorbancia promedio	% de inhibición	% de inhibición promedio	Desviación estándar
10.00	0.7110	5.07	5.63	0.69
	0.7000	5.41		
	0.7160	6.41		
40.00	0.6390	14.69	14.80	1.88
	0.6440	12.97		
	0.6370	16.73		
60.00	0.5970	20.29	22.47	2.43
	0.5770	22.03		
	0.5730	25.10		
80.00	0.5540	26.03	29.03	3.63
	0.5330	27.97		
	0.5120	33.07		
100.00	0.4740	36.72	39.12	2.30
	0.4490	39.32		
	0.4490	41.31		
120.00	0.4360	41.79	46.04	3.78
	0.3900	47.30		
	0.3900	49.02		
160.00	0.3450	53.94	56.48	4.41
	0.3410	53.92		
	0.2940	61.57		



**Figura 14.** Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción lipofílica aplicando el método de inhibición ABTS<sup>•+</sup>.

**Anexo 3.** Ejemplo de cálculo para la determinación de  $\mu\text{moles}$  de TE/100 g BS.

Como ejemplo para los cálculos realizados se toma la fracción ligada del punto BHL-a, utilizando la curva presentada en la tabla 13 y figura 13.

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(0.6630 - 0.3000) \times 100}{0.6670} = 55.69\%$$

$$\mu\text{M trolox Eq} = \frac{(55.69 - 1.5365)}{0.4965} \times 25 = 2726.76$$

$$\mu\text{moles trolox Eq}/100\text{g} = \frac{2726.76 \times \frac{5}{1000}}{0.50004} \times 100 = 2726.54$$

$$\mu\text{moles trolox Eq}/100\text{g BS} = \frac{2726.54 \times 100}{100 - 10.07} = 3031.85$$

**Anexo 4.** Análisis estadístico de los resultados por el método de inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>.

a) Inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>: Fracción fenólica libre.

- ANOVA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medias de cuadráticas	F	P
Tratamiento	9	19564	2173.8	9.5	0.00000396

- HSD Tukey

Código	Grupo
CPL	A
BCL	A
AAP	B
YSL	B
BHL	B
CAL	B
BOL	B
AHP	B
BAL	B
BLL	B

b) Inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>: Fracción fenólica ligada.

- ANOVA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medias de cuadráticas	F	P
Tratamiento	9	8983551	998172	16.25	2.26E-08

- HSD Tukey

Código	Grupo
AAP	A
CAL	Ab
AHP	Ab
YSL	Abc
CPL	Bcd
BCL	Bcde
BHL	Cdef
BLL	Def
BAL	Ef
BOL	F

c) Inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>: Fracción fenólica total (libre + ligada).

- ANOVA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medias de cuadráticas	F	P
Tratamiento	9	9163614	1018179	16.39	2.08E-08

- HSD Tukey

Código	Grupo
AAP	A
CAL	Ab
AHP	Ab
YSL	Abc
CPL	Bcd
BCL	Bcd
BHL	Cde
BLL	De
BOL	E
BAL	E

d) Inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>: Fracción hidrofílica.

- ANOVA / Kruskal Wallis

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medias de cuadráticas	F	P
Tratamiento	9	650763	72307	27.59	7.99E-11

- HSD Tukey

Código	Grupo
AAP	A
YSL	B
BOL	B
AHP	B
BHL	B
CAL	B
CPL	B
BCL	B
BLL	B
BAL	B

e) Inhibición del radical libre ABTS<sup>•+</sup>: Fracción lipofílica.

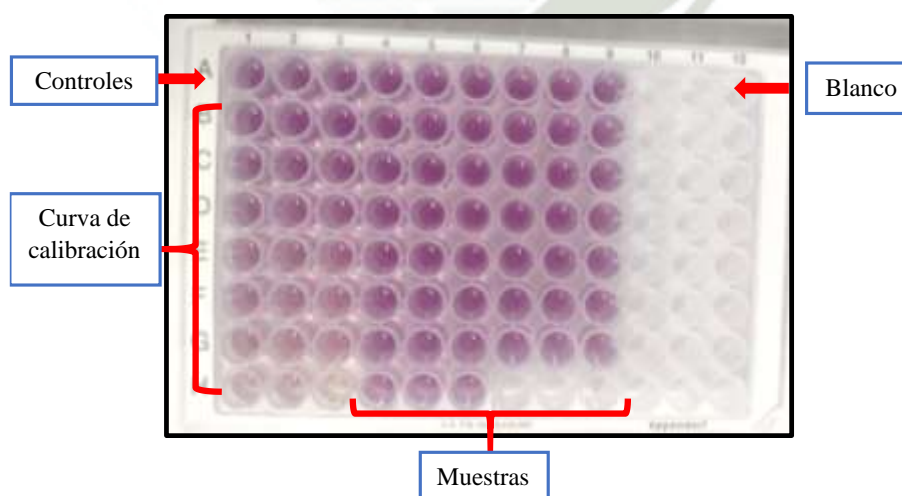
- ANOVA

Tratamiento	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medias de cuadráticas	F	P
	9	1712.7	190.3	5.658	2.76E-04

- HSD Tukey

Código	Grupo
AAP	A
BOL	Ab
BCL	Ab
BHL	Ab
CAL	Abc
AHP	Abc
BLL	Abc
BAL	Abc
CPL	Bc
YSL	C

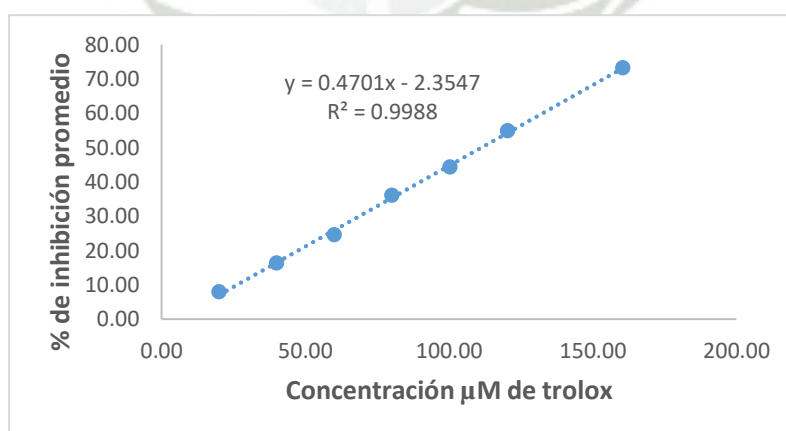
**Anexo 5.** Ejemplo de microplaca y curvas de calibración con el método *in vitro* de inhibición del radical libre DPPH<sup>•</sup>.



**Figura 15.** Ejemplo de microplaca con el método *in vitro* de inhibición del radical libre DPPH<sup>•</sup>.

**Tabla 15.** Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción libre, ligada e hidrofílica aplicando el método *in vitro* de inhibición del radical libre DPPH<sup>•</sup>.

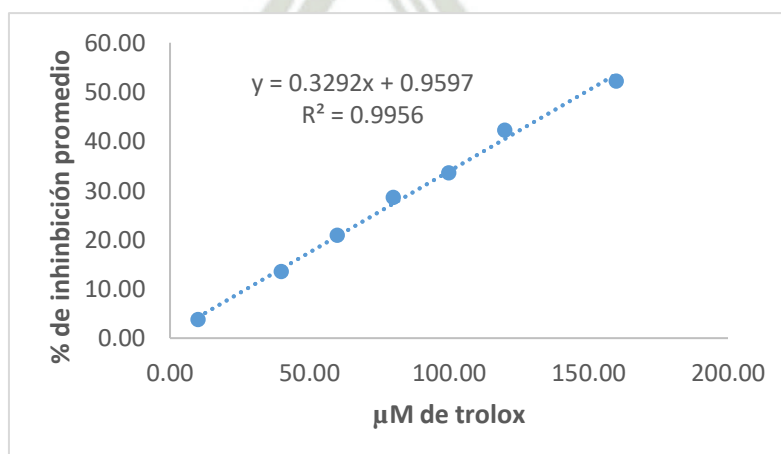
μmol equivalente de Trolox	Absorbancia promedio	% de inhibición	% de inhibición promedio	Desviación estándar
20.08	0.5650	8.43	7.97	0.41
	0.5730	7.88		
	0.5700	7.62		
40.16	0.5090	17.50	16.27	1.40
	0.5190	16.56		
	0.5260	14.75		
60.24	0.4750	23.01	24.57	1.40
	0.4620	25.72		
	0.4630	24.96		
80.32	0.4030	34.68	36.10	1.26
	0.3950	36.50		
	0.3880	37.12		
100.40	0.3420	44.57	44.34	0.24
	0.3460	44.37		
	0.3450	44.08		
120.48	0.2750	55.43	54.80	0.96
	0.2880	53.70		
	0.2760	55.27		
160.64	0.1690	72.61	73.22	0.76
	0.1680	72.99		
	0.1600	74.07		



**Figura 16.** Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción libre, ligada e hidrofílica aplicando el método *in vitro* de inhibición de radical libre DPPH<sup>•</sup>.

**Tabla 16.** Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción lipofílica aplicando el método de inhibición DPPH\*.

μmol equivalente de Trolox	Absorbancia promedio	% de inhibición	% de inhibición promedio	Desviación estándar
10.00	0.6090	3.94	3.74	0.29
	0.6280	3.53		
40.00	0.5640	11.04	13.49	2.15
	0.5530	15.05		
	0.5540	14.37		
60.00	0.5080	19.87	20.85	1.49
	0.5200	20.12		
	0.5010	22.57		
80.00	0.4750	25.08	28.50	3.18
	0.4620	29.03		
	0.4440	31.38		
100.00	0.4480	29.34	33.46	4.45
	0.4370	32.87		
	0.4000	38.18		
120.00	0.3870	38.96	42.16	2.97
	0.3730	42.70		
	0.3570	44.82		
160.00	0.3260	48.58	52.15	3.78
	0.3140	51.77		
	0.2840	56.11		



**Figura 17.** Curva de calibración representativa utilizada para el análisis de la fracción lipofílica aplicando el método de inhibición DPPH\*.

**Anexo 6.** Análisis estadístico de los resultados por el método de inhibición del radical libre DPPH<sup>•</sup>.

a) Inhibición del radical libre DPPH<sup>•+</sup>: Fracción fenólica libre.

- Kruskal - Wallis

Tratamiento	Grados de libertad	Chi-cuadrado	P
	9	29.644	0.0005043

- Dunn test con arreglo de Bonferroni

Código	Grupo
CPL	a
BCL	a
BAL	ab
YSL	ab
AAP	ab
CAL	ab
AHP	ab
BHL	ab
BOL	ab
BLL	b

b) Inhibición del radical libre DPPH<sup>•</sup>: Fracción fenólica ligada.

- ANOVA

Tratamiento	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medias de cuadráticas	F	P
	9	317615	35291	8.09	0.0000161

- HSD Tukey

Código	Grupo
AAP	a
CAL	ab
AHP	ab
BCL	abc
CPL	abc
YSL	abc
BLL	bcd
BHL	bcd
BAL	cd
BOL	d

c) Inhibición del radical libre DPPH<sup>\*</sup>: Fracción fenólica total (libre + ligada).

▪ ANOVA

Tratamiento	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medias de cuadráticas	F	P
	9	364344	40483	9.086	0.00000588

▪ HSD Tukey

Código	Grupo
AHP	a
CAL	ab
AHP	ab
CPL	ab
BCL	ab
YSL	abc
BLL	bcd
BHL	bcd
BAL	cd
BOL	d

d) Inhibición del radical libre DPPH<sup>\*</sup>: Fracción hidrofílica.

▪ ANOVA

Tratamiento	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medias de cuadráticas	F	P
	9	75352	8372	7.298	0.0000381

▪ HSD Tukey

Código	Grupo
AAP	a
BCL	ab
BOL	ab
BHL	ab
YSL	abc
BLL	bc
CPL	bc
BAL	bc
CAL	bc
AHP	c

e) Inhibición del radical libre DPPH<sup>\*</sup>: Fracción lipofílica.

▪ ANOVA

Tratamiento	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medias de cuadráticas	F	P
	9	603	67	2.105	0.0686

▪ HSD Tukey

Código	Grupo
AAP	a
AHP	ab
YSL	ab
BCL	ab
BHL	ab
BOL	ab
CPL	ab
CAL	ab
BLL	ab
BAL	b

**Anexo 7.** Certificado de Cumplimiento Reconocido Internacionalmente (CCRI) ABSCH-  
IRCC-PE-256874-1



Access and Benefit-Sharing Clearing-House (ABSCH)

**ABSCH-IRCC-PE-256874-1**  
**Internationally recognized certificate of compliance**  
**constituted from information on the permit or its**  
**equivalent made available to the Access and**  
**Benefit-sharing Clearing-House**

In accordance with Article 17, paragraph 2, of the Nagoya Protocol on Access and Benefit-sharing, a permit or its equivalent issued in accordance with Article 6, paragraph 3 (e) and made available to the Access and Benefit-sharing Clearing-House, shall constitute an internationally recognized certificate of compliance.

### General Information

**Issuing country**

PERU

**Verification link (view latest version)**

<https://absch.cbd.int/database/ABSCH-IRCC-PE-256874>

**ABS-CH Unique Identifier (UID)**

ABSCH-IRCC-PE-256874-1

### Issuing Authority

- **Competent National Authority:** ABSCH-CNA-PE-203840-6

**COMPETENT NATIONAL AUTHORITY**

Instituto Nacional de Innovación Agraria

Av. La Molina, N° 1981, La Molina Lima  
Peru  
Phone: +1 511.240.2100  
Email: jefatura@inia.gob.pe  
Website: <http://www.inia.gob.pe>  
? ABSCH-CNA-PE-203840-6

## Details of the permit or its equivalent

### Reference number of the permit or its equivalent

00030PER/INIA-2021

### Additional national references or identifiers

Resolución Directoral N° 0006-2021-INIA-DGIA de fecha 23 de junio de 2021, publicada en El Peruano el 26 de junio de 2021, la cual autoriza la suscripción el Contrato de Acceso a Recursos Genéticos N° 002-2021-MIDAGRI-INIA/DGIA realizada el 23 de junio de 2021.

### Date of issuance of the permit or its equivalent

27 Jun 2021

### Date of expiry of the permit or its equivalent

27 Jun 2024

## Prior Informed Consent (PIC) Information

### Confirmation that prior informed consent (PIC) obtained or granted

YES

**Provider** The person or entity that holds the right to grant access to the genetic resources in accordance with domestic legislation.

- **Competent National Authority:** ABSCH-CNA-PE-203840-6

**COMPETENT NATIONAL AUTHORITY**

Instituto Nacional de Innovación Agraria  
Av. La Molina, N° 1981, La Molina Lima  
Peru  
Phone: +1 511.240.2100  
Email: jefatura@inia.gob.pe  
Website: <http://www.inia.gob.pe>  
? ABSCH-CNA-PE-203840-6

#### Entity to whom PIC was granted

- **Organization:** Universidad Católica de Santa María

##### ORGANIZATION

Universidad Católica de Santa María  
Academic or research institute  
Urb. San José s/n Umacollo Arequipa  
Peru  
Phone: +51 54 382038  
Email: [ucsm@ucsm.edu.pe](mailto:ucsm@ucsm.edu.pe)

## Mutually Agreed Terms (MAT) Information

#### Confirmation that mutually agreed terms (MAT) have been established

YES

#### Additional information about the mutually agreed terms

Contrato de Acceso a Recursos Genéticos N° 002-2021-MIDAGRI-INIA/DGIA.

## Subject-matter

#### Subject-matter or genetic resources covered:

El acceso cubre recursos genéticos y derivados contenidos en mazorcas de la raza "cabanita" de maíz (*Zea mays*), proveniente de la Región Arequipa, obtenidas en condiciones in situ en parcelas de agricultores que otorgaron su consentimiento fundamentado previo. La solicitud de acceso a los recursos genéticos fue aprobada mediante Resolución Directoral N° 0006-2021-INIA-DGIA de fecha 23 de junio de 2021.

## Information on the utilization of the genetic resource(s)

### Type of use allowed by the permit or its equivalent

Non-Commercial

### Specific uses covered by the permit or its equivalent or use restrictions:

La USUARIA tiene derecho a acceder a los recursos genéticos de maíz (*Zea mays*), para el cumplimiento de los objetivos del proyecto: "Análisis metabolómico y transcriptómico para la identificación preliminar de genes involucrados en la biosíntesis de carotenoides y polifenoles con potenciales propiedades antioxidantes e hipoglucémicas in vitro en la raza de maíz (*Zea mays* L.) Cabanita de la región Arequipa", sin fines comerciales, con el objetivo general de contribuir a la valorización de esta raza de maíz, particularmente, por los compuestos bioactivos relevantes para la salud que contiene.

Cualquier modificación en la utilización de los recursos genéticos y sus derivados accedidos, que implique la variación de las actividades no comerciales a actividades comerciales, requiere el inicio de un nuevo procedimiento de acceso ante la AAE.

La USUARIA no podrá reclamar derechos de propiedad sobre los recursos genéticos y sus derivados objeto del Contrato. Asimismo, el contrato no otorga, expresa o implícitamente, a la USUARIA derechos de propiedad intelectual.

### Conditions for third party transfer:

La USUARIA no debe transferir los recursos genéticos y sus derivados objeto del contrato a terceros, sin la autorización de la AAE. (7.6)

La USUARIA no debe trasladar las muestras del recurso genético y sus derivados objeto del contrato fuera del país, salvo para los servicios que se ejecutarán en la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (Chile) y MACROGEN (Corea del Sur) para el análisis que se requiere en el marco del proyecto, debiendo gestionar los correspondientes permisos y controles de ley (Aduanas, SENASA, entre otros).

En el caso excepcional que la USUARIA requiera la salida del material genético, deberá gestionar ante la AAE la autorización correspondiente.

Asimismo, la USUARIA debe destruir los remanentes de los recursos genéticos y sus derivados accedidos, resultado de la ejecución y/o culminación del proyecto con la finalidad de evitar el uso indebido de tales recursos, bajo responsabilidad. Deberá acreditar la referida destrucción con un informe documentado que incluya la prueba fehaciente de tal hecho.

## Amendment History

Date	Action	Comment	Unique identifier

25 AUG 2021  
17:23

CURRENT  
VERSION

Permit information published to the  
ABS clearing-house and certificate  
constituted.

ABSCH-IRCC-PE-256874-1

## Further Information

Questions about the permit or its equivalent constituting an internationally recognized certificate of compliance should be addressed to the competent national authority issuing the permit or its equivalent. Additional information about the permit or its equivalent may be available in the Access and Benefit-Sharing Clearing House ( <https://absch.cbd.int/>).

Questions about the Nagoya Protocol on Access and Benefit-sharing or the operation of the Access and Benefit-sharing Clearing-House may be directed to the Secretariat of the Convention on Biological Diversity.

### Secretariat of the Convention on Biological Diversity

413 rue Saint-Jacques, suite 800  
Montreal, Québec, H2Y 1N9  
Canada  
Fax: +1 514 288-6588  
Email: