



**Universidad Autónoma de Sinaloa**  
**Facultad de Ciencias Químico Biológicas**  
**Programa Regional de Posgrado en Biotecnología**  
**Maestría en Ciencias con Orientación en Biotecnología**

**Incremento en Actividad Antioxidante,  
Compuestos Bioactivos y Valor Nutricional  
Mediante la Optimización de las Condiciones de  
Germinación de Maíz (*Zea mays* L) Azul**

# **T E S I S**

que presenta

**IBQ Christian Denisse Chavarín Martínez**

Para obtener el grado de  
**Maestría en Ciencias con  
Orientación en  
Biotecnología de Alimentos**

**Director de Tesis  
Dr Cuauhtémoc Reyes Moreno  
Dr Roberto Gutiérrez Dorado**

**Culiacán de Rosales, SIN, MEX**

**Junio 2016**

## INDICE GENERAL

Pág

INDICE GENERAL  
INDICE DE CUADROS  
INDICE DE FIGURAS

### I RESUMEN

ABSTRACT

### II INTRODUCCIÓN

### III REVISIÓN DE LA LITERATURA

A MAÍZ (*Zea mays* L)

- 1 Origen
- 2 Taxonomía y aspectos botánicos
  - a Clasificación taxonómica
  - b Descripción botánica de la semilla
- 3 Razas de maíz en México
  - a Generalidades
  - b Maíces nativos de Sinaloa
- 4 Maíz azul
  - a Maíces azules en México
  - b Composición química del maíz azul
    - 1) Proteínas
    - 2) Carbohidratos
    - 3) Fibra dietaria
    - 4) Almidón
    - 5) Lípidos
    - 6) Vitaminas
    - 7) Minerales
  - c Valor nutricional de maíz azul
    - 1) Aminoácidos esenciales
    - 2) Valor biológico
    - 3) Relación de eficiencia proteínica
  - d Fitoquímicos en maíz azul
    - 1) Compuestos fenólicos
      - a) Antocianinas
  - e Propiedades nutraceuticas del maíz azul
    - 1) Capacidad antioxidante
    - 2) Actividad anticarcinogénica
    - 3) Otras propiedades
  - f Procesamiento del maíz azul
    - 1) Generalidades
    - 2) Nixtamalización
    - 3) Extrusión
    - 4) Fermentación en estado sólido
    - 5) Germinación

## B GERMINACIÓN

- 1 Generalidades
- 2 Etapas de la germinación
  - a Imbibición
  - b Reanudación del metabolismo energético y reparación
  - c Síntesis de proteínas
  - d Metabolismo de hormonas
  - e Cambios en el embrión
  - f Relación entre el embrión y la estructura circundante
- 3 Factores que influyen en la germinación
  - a Tiempo de cosecha
  - b Remojo
  - c Temperatura / tiempo de germinación
  - d Inhibidores microbianos
  - e Estrés osmótico
- 4 Cambios durante la germinación
  - a Composición química
    - 1) Proteínas
    - 2) Carbohidratos
    - 3) Fibra dietaria
    - 4) Almidón
    - 5) Lípidos
    - 6) Vitaminas y minerales
  - b Valor nutricional
    - 1) Aminoácidos esenciales
    - 2) Valor biológico
  - c Perfiles y niveles de fitoquímicos
    - 1) Compuestos fenólicos
  - d Propiedades nutraceuticas
    - 1) Actividad antioxidante
    - 2) Actividad anticarcinogénica
    - 3) Otras propiedades

## IV JUSTIFICACIÓN

### V HIPOTESIS

### VI OBJETIVOS

A OBJETIVO GENERAL

B OBJETIVOS ESPECÍFICOS

### VII MATERIALES Y MÉTODOS

A MATERIALES

B MÉTODOS

- 1 Características físicas de los granos de maíz azul
  - a Dimensiones (largo, ancho, grosor)
  - b Peso de 100/100 granos
  - c Peso hectolítrico

- 2 Composición química
  - a Humedad
  - b Proteína cruda
  - c Grasa cruda
  - d Minerales
  - e Carbohidratos
  - f Fibra dietaria total
- 3 Propiedades fisicoquímicas de harina de maíz azul
  - a Color
  - b Actividad de agua (Aw)
  - c pH
  - d Densidad aparente
  - e Índice de solubilidad en agua (ISA)/ Índice de absorción de agua
  - f Índice de absorción de aceite
  - g Índice de dispersabilidad
  - h Formación y estabilidad de espuma
  - i Actividad y estabilidad de emulsión
- 4 Actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos y antocianinas de harina de maíz azul
  - a Obtención de extractos
    - 1) Extractos de fitoquímicos libres
    - 2) Extractos de fitoquímicos ligados
  - b Determinación de actividad antioxidante (AAox)
    - 1) Método ORAC
    - 2) Método ABTS
    - 3) Método DPPH
  - c Compuestos fenólicos totales (CFT)
  - d Antocianinas (Ant)
- 5 Optimización del bioproceso de germinación del grano de maíz azul para conocer las mejores condiciones para elaborar HMABO
  - a Diseño experimental
  - b Obtención de harinas de maíz azul bioprocesado (HMAB)
  - c Análisis de varianza y regresión
  - d Optimización
- 6 Análisis estadístico

## **VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **A CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE GRANOS DE MAÍZ AZUL**

### **B MEJOR COMBINACIÓN DE TEMPERATURA / TIEMPO DE GERMINACIÓN PARA PRODUCIR HARINA DE MAÍZ AZUL BIOPROCESADA OPTIMIZADA (HMABO) CON**

VALORES MÁXIMOS DE AAox, CFT, Ant, % Prot.

1 Modelos experimentales de predicción

a Actividad antioxidante (AAox)

b Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT)

c Contenido de antocianinas (Ant)

d Porcentaje de proteínas (% Prot)

2 Optimización

C COMPOSICIÓN QUÍMICA Y PROPIEDADES  
FISICOQUÍMICAS DE HARINA DE MAÍZ AZUL  
BIOPROCESADA OPTIMIZADA (HMABO)

D ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDOS DE  
COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES Y ANTOCIANINAS  
DE HARINA DE MAÍZ AZUL BIOPROCESADA  
OPTIMIZADA

1 Capacidad antioxidante

2 Compuestos fenólicos

3 Antocianinas totales

**XI CONCLUSIONES**

**X BIBLIOGRAFIA**

Abreviaturas

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Descripción</b>	<b>Pág</b>
1	Clasificación taxonómica del maíz	
2	Composicion VláizVlca del Vláiz azul	
3	Contenido promedio de minerales del maíz azul (mg/100g)	
4	Principales categorías de nutraceuticos con maíces criollos	
5	Composición nutrimental de diversos granos crudos y germinados	
6	Diseño experimental empleado para obtener diferentes combinaciones de temperatura y tiempo de germinación (TG, tG) para la producción de harinas de maíz azul bioprocesado (HMAB)	
7	Características físicas de los granos de maíz azul	
8	Diseño experimental empleado para obtener diferentes combinaciones de temperatura y tiempo de germinación (TG, tG) para la producción de harinas de maíz azul bioprocesado (HMAB), y resultados experimentales de las variables de respuesta	
9	Coeficientes de regresión y análisis de varianza de los modelos experimentales de predicción mostrando la relación entre las variables de respuesta y variables del proceso para la producción de harinas de maíz azul bioprocesado (HMAB)	
10	Composición química y propiedades fisicoquímicas de la harina de maíz azul bioprocesado optimizado (HMABO)	
11	Actividad antioxidante y contenidos de compuestos fenólicos totales y antocianinas en harina de maíz azul bioprocesado optimizado (HMABO)	

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Pág
1	Principales partes estructurales del grano de maíz ( <i>Zea mayz</i> L)	
2	Distribución de colectas de maíces nativos en México, escala 1:250 000	
3	a) Granos de maíz de raza Cónica sin pericarpio; y b) eliminada la capa de la aleurona pigmentada	
4	Clasificación de compuestos fenólicos	
5	Antocianidinas más comunes en flores y frutos	
6	Estructura de antocianinas. (a) Estructura general, (b) Cianidina, se observa la adición de los radicales hidroxilo e hidrogeno, y (c) Cianidina-3 glucósido, Se observa la adición de la molécula de	
7	Eventos físicos y metabólicos durante la germinación	
8	Diagrama de flujo para la obtención de fitoquímicos libres y ligados para la determinación de capacidad antioxidante y	
9	Mecanismo de acción propuesto para el método de capacidad antioxidante (ORAC)	
10	Obtención de harinas de maíz azul bioprocesado por germinación	
11	“Caja negra” del modelo matemático que muestra la relación entre variables de proceso y de respuesta del proceso de germinación	
12	Gráficas de superficie de respuesta (A) y contornos (B) mostrando el efecto de las variables de proceso de germinación [TG: temperatura de germinación (°C), tG: tiempo de germinación (h)] sobre la capacidad antioxidante [CAox ( $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g, bs}$ )]	
13	Gráficas de superficie de respuesta (A) y contornos (B) mostrando el efecto de las variables de proceso de germinación [TG: temperatura de germinación (°C), tG: tiempo de germinación (h)] sobre el contenido de fenólicos totales [CFT (mg EAG/ 100g,	
14	Gráficas de superficie de respuesta (A) y contornos (B) mostrando el efecto de las variables de proceso de germinación [TG: temperatura de germinación (°C), tG: tiempo de germinación (h)] sobre el contenido de antocianinas [Ant (mg EC3G/ 100g,	

15	Gráficas de superficie de respuesta (A) y contornos (B) mostrando el efecto de las variables de proceso de germinación [TG: temperatura de germinación (°C), tG: tiempo de germinación (h)] sobre el porcentaje de proteína [% Prot (% <sub>bs</sub> )] de las	140
16	Gráfica de deseabilidades individuales (di) para las variables de respuesta (CAox= Capacidad antioxidante; CFT= Compuestos fenólicos totales; Ant = Antocianinas; % Prot = % Proteína) y deseabilidad global obtenidas durante la optimización del proceso de germinación para la obtención de harina de maíz azul	142
17	Gráfica de contornos mostrando el efecto de la temperatura (TG) y tiempo de germinación (tG) sobre la deseabilidad global de las variables de respuesta (CAox, CFT, Ant y % Prot) empleada para la optimización del proceso de germinación para la obtención de	143



## I RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L) es una planta de América Central y al igual que el trigo y el arroz es considerado uno de los cereales más importantes del mundo, siendo una materia prima básica de la industria de la transformación. En México, es el cultivo más importante, desde el punto de vista alimentario, económico, político y social. México es considerado como uno de los principales centros de origen del maíz, la diversidad que existe en el país sobre esta gramínea es muy amplia, y así lo demuestran las más de 59 razas de maíz descritas; en el estado de Sinaloa representa el cultivo de mayor importancia económica, observándose en los últimos años un crecimiento acelerado en superficie, producción y rendimiento; encontrándose 13 de las 59 razas de maíz descritas para México. En muchas de estas razas se presentan variantes de grano pigmentado con coloraciones que van desde el negro hasta el rosa pálido, siendo los colores rojo y azul/morado los más comunes. El color se determina por el contenido de pigmentos encontrados, como los carotenoides en los granos amarillos y las antocianinas y flobafenos en los azules o rojos, estos compuestos han despertado el interés en estas variedades de maíces debido al potencial nutracéutico que pueden brindarles, de esta manera, el maíz azul posee un papel importante como maíz especial. Las propiedades nutraceuticas del maíz azul están íntimamente ligadas con su composición fitoquímica, y actualmente representan una línea de investigación de gran interés científico, constituye una fuente de diversidad fenotípica y genotípica por explorar, porque contiene gran cantidad de compuestos con relevantes propiedades nutraceuticas. La germinación ha sido reconocida como un proceso que genera grandes cambios nutricionales comparados con la semilla sin germinar, debido a que mejora la calidad de las proteínas, mejora distribución de aminoácidos, alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, incrementa la biodisponibilidad de minerales y vitaminas, así como, el aumento de compuestos fenólicos, asociados con un aumento de la capacidad antioxidante, además de disminución de factores antinutricionales como fitatos e inhibidores de tripsina. Actualmente no hay estudios sobre el efecto de la optimización del bioproceso de germinación para

incrementar la capacidad antioxidante, el contenido de compuestos fenólicos totales, antocianinas y % de proteína de este grano. Por lo tanto, este estudio se realizó para obtener una harina funcional con altos valores de capacidad antioxidante (CAox), contenido de compuestos fenólicos totales (CFT), antocianinas (Ant) y porcentaje de proteína (% Prot).

Para optimizar el proceso biotecnológico de germinación, se aplicó la metodología de superficie de respuesta. Se utilizó un diseño experimental central compuesto rotatable con dos factores [temperatura de germinación (TG), 20-40 °C; tiempo de germinación (tG), 12- 220 h] y cinco niveles (13 tratamientos). La semilla de maíz azul se sometió a remojo en agua destilada (25 °C) antes de la germinación. Los brotes de cada tratamiento se secaron (40 ° C / 16 h), se enfriaron, y molieron para obtener harina de maíz azul bioprocesado (germinado) (HMAB). Se seleccionó la mejor combinación de variables del proceso de germinación [TG = 25.5 °C / tG= 220 h] para la producción de harina de maíz azul bioprocesado optimizada (HMABO). El proceso de germinación aumentó significativamente ( $P < 0.05$ ) el contenido de proteína (38.48%), disminuyó el contenido de lípidos (35.56%), aumentó significativamente ( $P < 0.05$ ) el contenido de minerales (83.33%), fibra dietaria insoluble (FDI) (%), fibra dietaria soluble (FDS) (%) y fibra dietaria total (FDT) (%). Asimismo aumentó significativamente ( $P < 0.05$ ) la capacidad antioxidante (CAox) (54.42%, 60.05% y 60.86% para los métodos métodos ORAC, ABTS y DPPH respectivamente), el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) (78.91%), y el contenido de antocianinas (9.88%) en maíz azul. En conclusión, la germinación podría ser una estrategia efectiva para incrementar la funcionalidad del maíz azul, debido a la mejora del contenido de proteína, fibra dietaria, la actividad antioxidante, compuestos fenólicos totales, antocianinas de este grano.

## I ABSTRACT

Maize (*Zea mays* L.) plant native to Central America, along with wheat and rice, is considered one of the most important cereals in the world, a basic material to the

transformation industry. Is the most important crop in Mexico, from the point of alimentary, economic, political and social. Mexico is considered one of the main origin centers of maize, the diversity that exists in the country on this cereal is widespread, as demonstrated by the more than 59 races of maize described. In Sinaloa is growing greater economic importance in recent years has been perceived accelerated growth in area, production and yield; owning 13 of the 59 races of maize described for Mexico. In many of these races variants grain are presented pigmented colors ranging from black to pale pink, with red and blue / purple colors as the most common. The color is determined by the content of pigments, such as carotenoids in yellow beads and anthocyanins and phlobaphenes in blue or red, these compounds have attracted interest in these varieties of maize due to the nutraceutical potential can provide, this Thus, the blue corn has an important role as a special corn. The blue corn nutraceutical properties are closely linked with their phytochemical composition, and currently represent a line of research of scientific interest, it constitutes a source of phenotypic and genotypic diversity to explore, because it contains large amount of compounds with relevant nutraceutical properties. Germination has been recognized as a process that generates large nutritional changes compared to the raw seed (without germinating), because it enhance the quality of the proteins, improve distribution of amino acids, increases polyunsaturated fatty acids, increases the bioavailability of minerals and vitamins, and, increasing phenolics, associated with an increase in antioxidant capacity, as well as decreased antinutritional factors as trypsin inhibitors phytates and. Currently there are not studies on the effect of germination bioprocess optimization to increase the antioxidant capacity, the content of total phenolic compounds, anthocyanins and % protein of the grain. Therefore, this study was performed to obtain a functional flour with high values of antioxidant capacity (CaOx), content of total phenolic compounds (CFT), anthocyanins (Ant) and protein percentage (% Prot). To optimize the bioprocess of germination, response surface methodology was applied. A central composite rotatable experimental design with two factors [germination temperature (GT), 20-40 ° C; germination time (Gt), 12- 220 h] and five levels (13 treatments).

Seed blue corn was soaked in distilled water (25 ° C) before germination. The blue corn sedes shall be soak in distilled water (25 °C) before germination. The sprouts from each treatment are going to be dried (40 ° C / 16 h), cooled, and ground to obtain germinated blue corn flours (GBCF). The best combination of germination bioprocess variables [TG = 25.5 ° C / tG = 220 h] for producing optimized germinated blue corn flours (OGBCF) with the highest AoxA, TPC, Ant and % Prot was selected.

The germination process significantly increased (P <0.05) protein content (38.48%), decreased lipid content (35.56%), and significantly increased (P <0.05) mineral content (83.33%), dietary fiber insoluble (FDI) (%), soluble dietary fiber (FDS) (%) and total dietary fiber (TDF) (%). Also increased significantly (P <0.05) antioxidant capacity (CaOx) (54.42%, 60.05% and 60.86% for methods ORAC, ABTS and DPPH methods respectively), the content of total phenolic compounds (CFT) (78.91%), and the content of anthocyanins (9.88%) in blue corn. In conclusion, the germination could be an effective strategy to increase the functionality of blue corn, due to improved protein content, dietary fiber, antioxidant activity, total phenolics, anthocyanins in this grain.

## II INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es considerado uno de los cereales más importantes del mundo, al igual que el trigo y el arroz, es una materia prima básica de la industria de transformación, con la que se producen harinas instantáneas, almidón, aislados de proteínas, aceite, bebidas alcohólicas, edulcorantes alimenticios y biocombustibles. Botánicamente el maíz (*Zea mays* L.) pertenece a la familia *Poaceae* y es una planta anual alta dotada de un amplio sistema radicular fibroso. El grano constituye aproximadamente el 42% del peso seco de la planta (Quintanar-Guzmán, 2009).

En América Latina se han descrito cerca de 220 razas de maíz, de las cuales 64 (29%) se han identificado y descrito, en su mayoría, para México. De las 64 razas que se reportan para México, 59 se pueden considerar nativas y cinco se describieron inicialmente en otras regiones [Cubano Amarillo, del Caribe, y cuatro razas de Guatemala (Nal Tel de Altura, Serrano, Negro de Chimaltenango, Quicheño)] pero se han colectado o reportado en el país. (Anderson y Cutler, 1946; Wellhausen y col, 1951; Hernández y Alanís, 1970; Goodman y McK. Bird, 1977; Sánchez, 1989; Sánchez y col, 2000; Ortega, 2003; Ruiz y col, 2008)

Desde el punto de vista alimentario, económico, político y social, el maíz representa el sector más importante de la producción agrícola en México. Este grano se produce en dos ciclos agrícolas: Primavera–Verano y Otoño–Invierno, bajo diversas condiciones agroclimáticas de humedad: secano (temporal), punta de riego y riego. El estado de Sinaloa, es uno de los principales productores de este cereal en el país. México es considerado como uno de los principales centros de origen del maíz (*Zea mays* L.); la biodiversidad de esta gramínea es muy amplia, y así lo demuestran las más de 59 razas de descritas (Sánchez y col, 2000). En muchas de estas razas se presentan variantes de grano pigmentado con coloraciones que van desde el negro hasta el rosa pálido, siendo los colores rojo y azul/morado los más comunes (Salinas y col, 2012). El color se determina por el contenido de pigmentos encontrados, como los carotenoides en los granos amarillos y las antocianinas y flobafenos en los azules o rojos (Egesel y col, 2003). Estas variedades pigmentadas

están presentes en 41 razas, ya sea por su color en el grano o bien por la presencia de antocianinas en hojas, tallo y mazorca (Ortega y col, 1991).

La variedad de maíz azul (*Zea mays* L.) posee gran cantidad de pigmentos antioxidantes y una calidad nutricional mayor que el maíz típico; blanco o amarillo. Su nivel de fibra es uno de los más elevados comparado con el resto de los cereales. Comparado con otros cereales, el maíz posee un contenido de fibra mayor. Contiene altos niveles de carbohidratos de fácil digestión y es rico en Mg, vitaminas y antioxidantes (Johnson y Jha, 1996; Vongsudin y col, 2011). Estos compuestos han despertado el interés en estas variedades de maíces debido al potencial nutraceutico que pueden brindarles, de esta manera, el maíz azul posee un papel importante como maíz especial. Las propiedades nutraceuticas del azul maíz están íntimamente ligadas con su composición fitoquímica, y actualmente representan una línea de investigación de gran interés científico, constituye una fuente de diversidad fenotípica y genotípica por explorar, porque contiene gran cantidad de compuestos con relevantes propiedades nutraceuticas. Diversos estudios han reportado actividades antioxidantes y anticarcinogénicas de sus compuestos fenólicos como ácidos Ferúlico y Cumárico y sus derivados (Zhao Z y Moghadasian, 2008; Huang W y col, 2010; Janicke B y col, 2011). Se ha reportado que extractos etanólicos de maíz morado y azul poseen actividades antimutagénicas, anticarcinogénicas y actividades contra los radicales libres; estas actividades se han asociado con las antocianinas presentes en los granos de maíz. Además, se ha informado la presencia del aminoácido no proteínico ácido  $\gamma$ -amino butírico (GABA, por su siglas en inglés), el cual posee efectos benéficos para la salud (Disminución de presión arterial y niveles de colesterol, mejora de la actividad del hígado y riñón, actividades antioxidantes y anticarcinogénicas) (Hayakawa y col, 2004; Diana y col, 2014; Polthum y Ahromrit, 2014).

Para impulsar la producción, comercialización e industrialización del maíz azul es necesario aplicar tecnologías de proceso que generen alimentos nutritivos y además mantengan sus características funcionales, al conservar los compuestos bioactivos. En los últimos años, los germinados de cereales y leguminosas,

principalmente, han recibido atención como alimentos funcionales, debido a su contenido nutrimental que incluye aminoácidos, fibra, oligoelementos y vitaminas, y a la presencia de compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides). Los germinados son ricos en fitoquímicos en comparación con los granos sin germinar. La germinación ha sido sugerida como una forma barata y eficaz para mejorar la calidad nutracéutica de cereales, pseudocereales y leguminosas (Azeke y col, 2011; Vongsudin, y col, 2011; Omary y col, 2012; Perales-Sánchez y col, 2014). Durante este proceso biotecnológico, aumenta el contenido de algunos compuestos con actividad antioxidante, principalmente polifenoles y flavonoides, que proporcionan protección contra el daño oxidativo. Los antioxidantes son uno de los componentes activos más comunes de alimentos funcionales y nutracéuticos, que pueden desempeñar un papel importante en la prevención de la oxidación y el daño celular mediante la inhibición o retrasar el proceso oxidativo. Estos son una de las razones por las que el consumo de germinados puede ser muy importante en la reducción de enfermedades asociadas al estrés oxidativo. Algunas investigaciones donde se ha informado de que la germinación es un proceso eficiente para aumentar la calidad proteínica, actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos en cereales como el maíz (Oh y Oh, 2004; Nava-Arenas y col, 2008; Sutharut y Sudarat, 2012; Olu y col, 2013; Polthum y col, 2014).

Se han reportado diversos estudios sobre la germinación de variedades distintas de maíz, incluso maíz azul; no obstante, no hay reportes en la literatura sobre la optimización del bioproceso de germinación con el propósito de incrementar valor nutrimental, potencial antioxidante y niveles de fitoquímicos de ese grano.

El objetivo de la presente investigación fue encontrar las mejores condiciones de germinación de grano de maíz azul para maximizar su actividad anitoxidante, contenidos de compuestos fenólicos totales y antocianinas y porcentaje de proteínas para la obtención de una harina funcional de maíz azul bioprocesado.

### **III REVISIÓN DE LA LITERATURA**

## **A MAÍZ (*Zea mays* L)**

El maíz, junto con el trigo y el arroz, es considerado uno de los cereales más importantes del mundo, una materia prima básica de la industria de transformación, con la que se producen harinas instantáneas, almidón, aceite y proteínas, bebidas alcohólicas, edulcorantes alimenticios y combustible.

Botánicamente el maíz (*Zea mays* L.) pertenece a la familia *Poaceae* y es una planta anual alta dotada de un amplio sistema radicular fibroso. El grano constituye aproximadamente el 42% del peso seco de la planta. El maíz es a menudo de color blanco o amarillo, aunque también hay variedades de color azul, negro, rojo y jaspeado (Quintanar-Guzmán, 2009).

El maíz (*Zea mays* L.) es el cultivo más importante de México, desde el punto de vista alimentario, económico, político y social. Este grano se produce en dos ciclos agrícolas: Primavera–Verano y Otoño–Invierno, bajo diversas condiciones agroclimáticas de humedad: secano (temporal), punta de riego y riego.

En el periodo 2014-2015 a nivel mundial se cultivaron 178.69 millones de ha de maíz, con una producción de 1,008.99 millones de ton. México cultivó 7.33 millones de ha para una producción de 25.48 millones de ton (USDA, 2016). Esto representa 39% de la superficie agrícola nacional y 63% de la superficie sembrada con granos y oleaginosas; contribuye con 8 % del producto interno de la agricultura y es el cultivo que más fuerza de trabajo ocupa (Luna-Mena y col, 2012).

### **1 Origen**

Desde finales del siglo XIX se han postulado varias hipótesis para explicar el origen del maíz. Una de las más influyentes, expone que los orígenes del maíz fueron en América Central, de donde se difundió hacia el norte hasta el Canadá, hacia el sur hasta la Argentina y el Caribe.

La evidencia más antigua de la existencia del maíz, data de unos 7,000 años de antigüedad, ha sido encontrada por arqueólogos en el valle de Tehuacán, Puebla, México. Este cereal era un alimento fundamental en las civilizaciones Maya y Azteca; tuvo un importante papel en sus creencias religiosas y festividades. A finales



del siglo XV, tras el descubrimiento de América, el grano fue introducido en Europa a través de España. Se difundió a los lugares de clima más cálido del Mediterráneo y posteriormente a Europa septentrional (Yamakake y col, 2009).

## **2 Taxonomía y aspectos botánicos**

El maíz (*Zea Mays* L.) es la única especie del género *Zea*. Se trata de una planta anual de gran desarrollo vegetativo (puede alcanzar 4 m de altura), cuyo tallo lleva de 12 a 20 hojas de limbo bien desarrollado (35 a 50 cm de longitud; 4 a 10 cm de ancho). El tallo puede emitir varios brotes. El sistema radicular de tipo fasciculado está formado por tres tipos de raíces: las raíces seminales (nacidas de la semilla), las raíces secundarias (que constituyen la casi totalidad del sistema radicular), y las raíces adventicias que aparecen en el último lugar, a nivel de los primeros nudos situados por encima de la superficie del suelo.

### **a Clasificación taxonómica**

En el **Cuadro 1** se puede apreciar la clasificación taxonómica del maíz. El cual pertenece al género *Zea*, perteneciente a su vez a la familia *POACEAE* (*GRAMÍNEAE*) que comprende más de 600 géneros. Los dos géneros del Nuevo Mundo más emparentados con el maíz son *Tripsacum* y *Zea* (Galinat, 1977; Rzedowski y col, 2001). El género *Zea* contiene cinco especies de México y Centroamérica: *Zea diploperennis* Iltis, *Zea perennis* (Hitchcock), *Zea luxurians*, *Zea mays* Linnaeus y la descrita recientemente *Zea nicaraguensis*. *Zea mays* L., es la especie a la que corresponde el maíz (forma cultivada del género), la cual debido a su estrecha relación biológica ha sido agrupada con los teocintles de las subespecies *parviglumis* y *mexicana* (Doebley e Iltis, 1980; Iltis y Doebley, 1980; Doebley, 2003 ).

### **Cuadro 1.** Clasificación taxonómica del maíz

<b>Clasificación Taxonómica</b>	
<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sub Reino</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Liliopsida</i>
<b>Subclase</b>	<i>Commelinidae</i>
<b>Orden</b>	<i>Poales</i>
<b>Familia</b>	<i>POACEAE (GRAMÍNEAE)</i>
<b>Subfamilia</b>	<i>Panicoidea</i>
<b>Tribu</b>	<i>Maydeae</i>
<b>Género</b>	<i>Zea</i>
<b>Especie</b>	<i>Mays</i>
<b>Nombre científico:</b>	<b><i>Zea mays L</i></b>

Tovar-Benítez (2008)

Con el tiempo la clasificación del género *Zea* ha cambiado, en un inicio los primeros ordenamientos emplearon aspectos morfológicos resultantes de la selección humana durante el proceso de domesticación (Harshberger, 1896; Mangelsdorf, 1974; Wilkes, 1967). Este ordenamiento permitió la diferenciación de dos secciones: la sección *Euchlaena* que incluía todos los teocintles en este grupo y, por la otra parte, la sección *Zea* que sólo incluía al maíz. Posteriormente, Doebley e Iltis (1980) elaboraron una clasificación para *Zea* con base en estructuras morfológicas neutrales, aunque un elemento clave fue la descripción de las glumas de las espiguillas en las dos especies, considerada como una estructura en la que el humano no interviene en su modificación. El resultado fue una nueva división que produjo dos secciones: *Luxuriantes* y *Zea* (Doebley e Iltis, 1980; Doebley, 2003).

En la sección *Luxuriantes* se incluyen cuatro especies silvestres: *Z. diploperennis*, *Z. perennis*, *Z. luxurians* y *Z. nicaraguensis*. Las características comunes de hábitos perennes (las dos primeras), inflorescencias menos ramificadas, pedicelos más cortos en las espigas masculinas y frutos de forma trapezoidales en arreglo exterior, las relacionan con el género *Tripsacum*.

La sección *Zea*, contiene solamente la especie *Z. mays* con cuatro subespecies (Doebley e Iltis, 1980; Iltis y Doebley, 1980), caracterizadas por poseer cromosomas con estructuras heterocromáticas en posiciones intercalares y algunas terminales, con pedicelos más largos que los de la sección *Luxuriantes*. Los teocintles anuales de la sección *Zea* tienen cápsulas de los frutos de forma triangular en su arreglo exterior. *Zea mays* agrupa cuatro subespecies: **(a)** *Zea mays* L. ssp. *Huehuetenangensis*.- Distribuida en la zona de San Antonio Huista, Buxup, Lupina y Tzisbaj en altitudes de 900-1650 m en Guatemala, **(b)** *Zea mays* L. ssp. *Mexicana*.- Comprende las Razas Chalco del Valle de México, Mesa Central en el Bajío y Nobogame en la región sur de Chihuahua (Wilkes, 1967). Este último es el más precoz de las tres razas mencionadas, **(c)** *Zea mays* L. ssp. *parviglumis* o raza Balsas según Wilkes (1967).- Se distribuye desde la Sierra Madre del Sur, Cuenca del Balsas y Oaxaca hasta Nayarit, **(d)** *Zea mays* L. ssp. *Mays*.- Es el maíz cultivado

propiamente; se distribuye en casi todo el territorio nacional (Doebley e Iltis, 1980; Doebley, 2003).

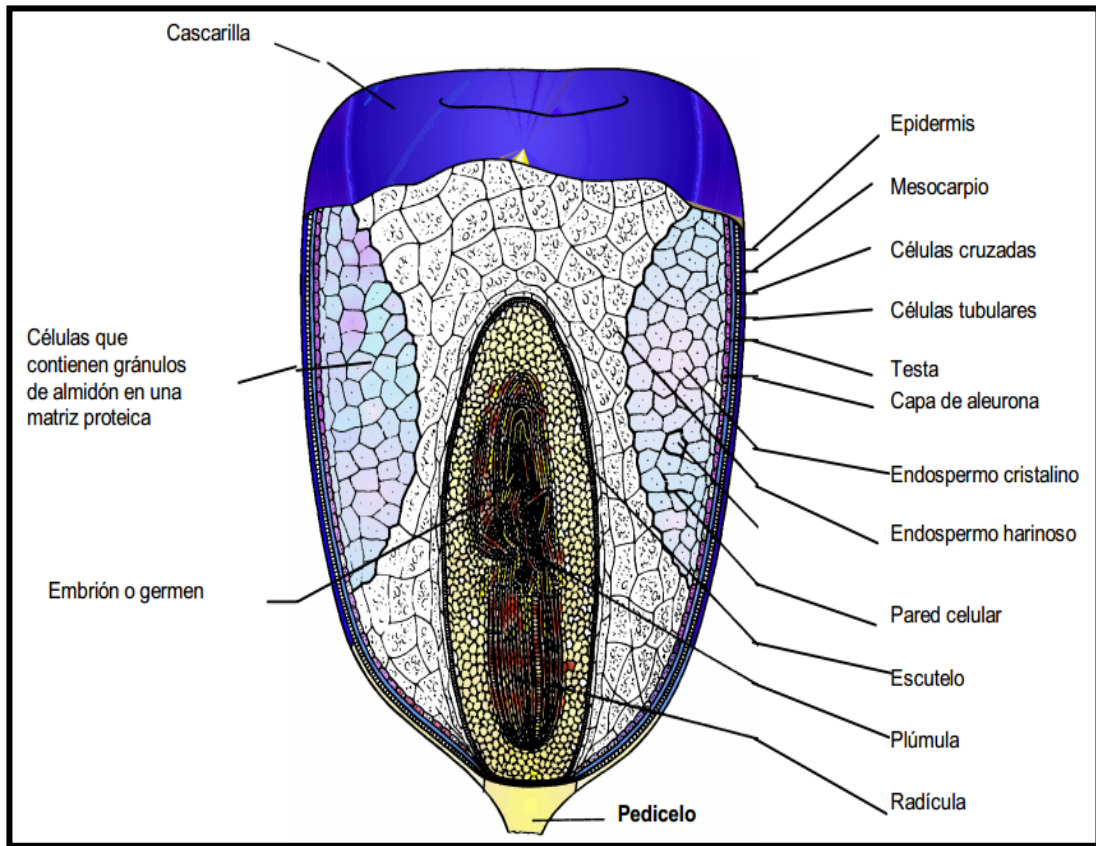
### **b Descripción botánica de la semilla**

La semilla de maíz está compuesta principalmente de cuatro partes anatómicas: **(a)** Pericarpio, **(b)** Pedicelo, **(c)** Endospermo, **(d)** Germen (**Fig 1**).

El **pericarpio** es la verdadera cubierta o cáscara del grano, compuesta por todas las capas exteriores. El pericarpio está compuesto por una capa de cutícula cerosa que cubre a la epidermis, ambas retardan la absorción de humedad al interior del grano por el mesocarpio, compuesto por células alargadas y estrechamente adheridas con numerosas cavidades que proveen interconexiones capilares entre todas las células y facilitando la absorción de agua. La porción más interna del peso seco del grano. Todas las partes del pericarpio están compuestas por células muertas que son de forma tubular (Earle y col, 1946; Watson, 1988; Jackson y Shandera, 1995).

El **pedicelo** representa aproximadamente el 0.8% del grano y es la estructura celular con la que el grano se encuentra unida al olote. Está compuesto de haces vasculares que terminan en la porción basal del pericarpio, consta de una capa exterior de abscisión que sella la punta del grano maduro. A esta capa le sigue una serie de células parenquimatosas en forma de estrellas, ligadas por sus puntas, formando una estructura frágil y porosa, conectada con la capa de células cruzadas del pericarpio. Esta estructura es responsable de la absorción de líquidos del pedicelo al pericarpio (Earle y col, 1946; Jackson y Shandera, 1995).

El **endospermo** está compuesto por células alargadas con delgadas paredes de material celulósico, empacadas con gránulos de almidón (de 5 a 30  $\mu\text{m}$ ) sumergidos en una continua matriz proteínica (almidón-proteína), es depositada y contenida en grandes estructuras celulares. La unión e integridad estructural entre la proteína y los gránulos de almidón hace completamente duro al grano de maíz



**Fig 1.** Principales partes estructurales del grano de maíz (*Zea mays* L)  
FAO (1993)

El endospermo está compuesto de dos regiones: una harinosa y otra córnea, generalmente en una relación de 2 a 1. La región harinosa del endospermo es caracterizada por células grandes, por gránulos grandes y redondos y una delgada matriz proteínica. El endospermo córneo tiene pequeñas células, pequeños gránulos de almidón y una densa matriz proteínica. El endospermo constituye aproximadamente el 82.3% del grano en peso seco y está compuesto principalmente por almidón (86.4%), (Earle y col, 1946; Watson, 1988; Jackson y Shandera, 1995).

El **germen** es el embrión u órgano reproductor del grano y está compuesto por plúmula, radícula y escutelo. El escutelo constituye el 90% del germen y funciona como un órgano o almacén de nutrientes y hormonas que son movilizados por enzimas sintetizadas durante la etapa inicial de germinación hacia la plúmula. Todas las células del embrión y el escutelo son potencialmente activadas metabólicamente durante una hidratación (Earle y col, 1946; Watson, 1988; Jackson y Shandera, 1995).

### **3 Razas de maíz en México**

El maíz como cultivo es un sistema dinámico y continuo. Su polinización es libre y hay movimiento o flujo de semilla por los agricultores año con año al mantener, intercambiar y experimentar con semilla propia o de otros vecinos de la misma localidad o de regiones distantes. A diferencia de las plantas silvestres, esto dificulta la distinción de unidades discretas para clasificar su diversidad. Una aproximación a su estudio y entendimiento ha sido seleccionar en este continuo las principales unidades (tipos o formas) que le caracterizan y a las que se han denominado razas.

El término raza se ha utilizado en el maíz y en las plantas cultivadas para agrupar individuos o poblaciones que comparten características en común, de orden morfológico, ecológico, genético y de historia de cultivo, que permiten diferenciarlas como grupo (Anderson y Cutler, 1942; Hernández y Alanís, 1970; Harlan y de Wet, 1971). Las razas se agrupan a su vez en grupos o complejos raciales, los cuales se asocian a una distribución geográfica y climática más o menos definida y a una

historia evolutiva común (Goodman y Mck Bird, 1977; Mck Bird y Goodman, 1977; Sánchez y col, 1989; 2000).

El concepto y la categoría de raza es de gran utilidad como sistema de referencia rápido para comprender la variación de maíz, para organizar el material en las colecciones de bancos de germoplasma y para su uso en el mejoramiento así como para describir la diversidad a nivel de paisaje. Sin embargo, cada raza puede comprender numerosas variantes diferenciadas en formas de mazorca, color y textura de grano, adaptaciones y diversidad genética (Wellhausen, 1990; Perales y Golicher, 2011).

Las razas se nombran a partir de distintas características fenotípicas (Cónico, por la forma de la mazorca), tipo de grano (Reventador, por la capacidad del grano para explotar y producir palomitas), por el lugar o región donde inicialmente fueron colectadas o son relevantes (Tuxpeño de Tuxpam, Veracruz; Chalqueño, típico del Valle de Chalco) o por el nombre con que son conocidas por los grupos indígenas o mestizos que las cultivan (Zapalote Chico en el Istmo de Oaxaca o Apachito en la Sierra Tarahumara) (Wellhausen y col, 1951).

En América Latina se han descrito cerca de 220 razas de maíz (Goodman y Mck. Bird, 1977), de las cuales 64 (29%) se han identificado, y descrito en su mayoría, para México (Anderson, 1946; Wellhausen y col, 1951; Hernández y Alanís, 1970; Sánchez y col, 1989; Sánchez y col, 2000; Ortega, 2003, Ruiz y col, 2008). Diversos autores e instituciones, difieren en el número de razas que se salvaguardan en México, entre 41 (Ortega-Paczka y col, 1991), 59 (Sánchez y col, 2000), 64 ó 65 (LAMP, 1991).

De las 64 razas que se reportan para México, 59 se pueden considerar nativas y 5 que fueron descritas inicialmente en otras regiones [Cubano Amarillo, del Caribe, y cuatro razas de Guatemala (-Nal Tel de Altura, Serrano, Negro de Chimaltenango y Quicheño)], pero que también se han colectado o reportado en el país. Las razas de maíz de México se han agrupado, con base en caracteres morfológicos, de adaptación y genéticos (isoenzimas) en siete grupos o complejos raciales (Goodman y Mck Bird, 1977; Sánchez y col, 2000; Ruiz y col, 2008).

### **a Generalidades**

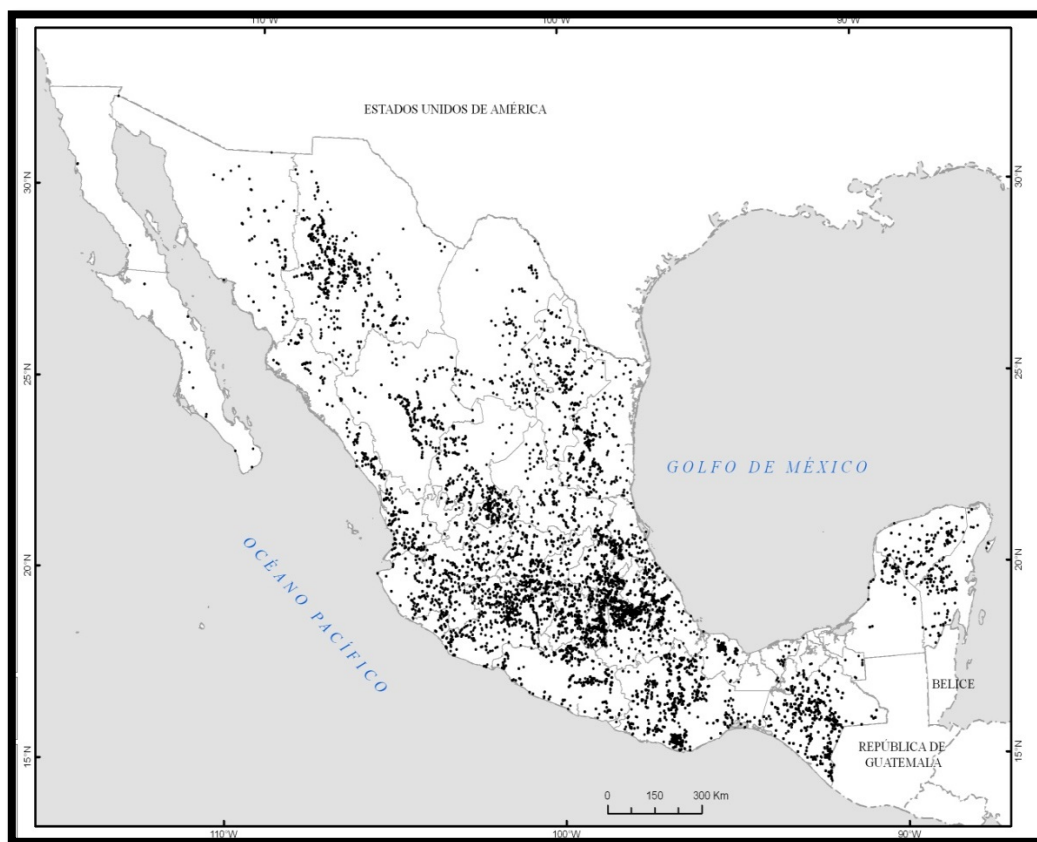
En la actualidad el maíz en México cultiva en un amplio rango de de altitud y variación climática, desde el nivel del mar hasta los 3,400 msnm (metros sobre el nivel del mar). En la **Fig 2** se aprecia la distribución de colectas de maíces nativos en México. El maíz se siembra en zonas tórridas con escasa precipitación, en regiones templadas, en las faldas de las altas montañas, en ambientes muy cálidos y húmedos, en escaso suelo, en pronunciadas laderas o en amplios valles fértiles, en diferentes épocas del año y bajo múltiples sistemas de manejo y desarrollo tecnológico. A esta gran diversidad de ambientes, los agricultores, indígenas o mestizos, mediante su conocimiento y habilidad, han logrado adaptar y mantener una extensa diversidad de maíces nativos (Hernández, 1985; Muñoz, 2003; CONABIO, 2011).

### **b Maíces nativos de Sinaloa**

El maíz es el cultivo de mayor importancia económica en Sinaloa. Durante los últimos diecisiete años, este cultivo ha observado un crecimiento acelerado en superficie, producción y rendimiento. Este crecimiento se debe al auge adquirido por el cultivo bajo condiciones de riego; sin embargo, bajo condiciones de temporal, modalidad en la que se cultivan los maíces nativos, se ha observado una continua reducción de superficie.

En el estado de Sinaloa el maíz de temporal se siembra en 15 de los 18 municipios; los de mayor importancia en cuanto a área sembrada son Sinaloa de Leyva, Culiacán, Badiraguato, San Ignacio y Cosalá que en conjunto cultivan el 69% del total en el estado. Los municipios donde el cultivo de temporal es imperceptible son Ahome, Guasave y Navolato, debido principalmente a su ubicación en planicies costeras, donde predominan las zonas irrigadas en el estado.





**Fig 2.** Distribución de colectas de maíces nativos en México (escala 1:25,000). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México CONABIO (2011).

En áreas de temporal de Sinaloa, predomina el uso de maíces nativos en mayor grado y el uso de generaciones avanzadas de variedades mejoradas de polinización libre en menor grado. Las condiciones limitantes por la escasa y errática precipitación pluvial, en que se siembran los maíces nativos, con un elevado nivel de siniestralidad (20 a 50% de la superficie sembrada), provoca que se obtengan rendimientos bajos (810 kg/ha en promedio). Dentro las áreas de temporal, con frecuencia se siembran pequeñas áreas de riego, en las cuales se utiliza semilla de híbridos de maíz, lo que favorece su infiltración en los maíces nativos (Palacios-Velarde y col, 2008).

Palacios-Velarde y col (2008) recolectaron 152 muestras de maíces nativos, pertenecientes a nueve razas (Tabloncillo, Tuxpeño, Elotero de Sinaloa, Tabloncillo Perla, Blando de Sonora, Reventador, Vandeño, Onaveño, Jala). Las razas con mayor frecuencia fueron Tabloncillo y Tuxpeño; razas con mediana frecuencia Elotero de Sinaloa, Tabloncillo Perla, Blando de Sonora; y con baja frecuencia Vandeño, Reventador, Onaveño y Jala.

En Sinaloa, persisten casi todas las razas reportadas en los antecedentes de investigación, pero en algunas razas la frecuencia es demasiado baja como es el caso de Reventador, Onaveño y Vandeño, y otras, están prácticamente extinguidas, como es el caso de la razas Chapalote, Dulcillo y Bofo.

En cuanto a las variedades pigmentadas, en el estado de Sinaloa se han identificado 11 razas de maíces pigmentados, de las cuales se han identificado 4 de ellas como nativas de la región, entre ellas la raza Elotero de Sinaloa de maíces de grano azul.

Las razas de maíz presentes en el estado de Sinaloa son: **(a)** Chapalote, **(b)** Reventador, **(c)** Tabloncillo, **(d)** Tabloncillo Perla, **(e)** Tuxpeño Norteño, **(f)** Blando de Sonora o Blandito de Sonora, **(g)** Harinoso de Ocho, **(h)** Onaveño.

El **Chapalote**, maíz típico del noroeste de México, reventador y tunicado que tiene plantas de altura intermedia (180 cm) más precoz que el Bofo, con buena resistencia a la roya y pudriciones del grano por *Fusarium*. Las mazorcas son semicilíndricas, con 10 a 16 hileras de grano pequeño de color café claro a café muy

oscuro, con una capa cristalina y endospermo blanco harinoso. Raza antigua de México, de la que posiblemente derivó el Reventador y emparentada con la raza primitiva Nal-Tel de Yucatán.

El **Reventador** es un maíz de porte bajo, tolerante a la roya, de mazorcas semicónicas con 12 hileras de grano blanco o rojo cristalino. Se ha propuesto que el Reventador derivó de una cruce entre Chapalote y Teocintle.

El **Tabloncillo** es también un maíz de altura media (180 cm), semitardío, susceptible al acame, con buena sanidad de grano y resistente a la roya. Las mazorcas son semicónicas, con 8 a 10 hileras de granos blancos recubiertos por una capa cristalina delgada y endospermo blanco harinoso. Se considera a Nayarit como el Centro de Distribución de éste maíz, que posiblemente derivó de cruzamientos entre Harinoso de Ocho y Reventador.

El **Tabloncillo Perla** es un maíz de altura intermedia (175 cm), de ciclo semitardío, tolerante al acame, buena sanidad de grano y resistente a la roya. Las mazorcas son semicilíndricas con 8 a 10 hileras de grano blanco cristalino. En éste maíz se expresa con intensidad la influencia del Reventador sobre Tabloncillo.

El **Tuxpeño Norteño** es un maíz semitardío, de porte medio (190 cm), resistente al acame, excelente sanidad de grano y resistencia a la roya. Las mazorcas son semicónicas con 10 a 14 hileras de grano blanco dentado, ocasionalmente rojizo. Deriva de la raza Tuxpeño del Golfo de México.

El **Blando de Sonora** o **Blandito de Sonora** es tardío, tiene una altura intermedia (180 cm), es menos propenso al acame, muestra baja incidencia de pudrición de mazorca y es ligeramente menos resistente a la roya que los anteriores. Las mazorcas son semicilíndricas con 10 a 14 hileras de grano suave harinoso de color blanco. Se sugiere que éste maíz puede derivar de las interacciones del Reventador y Chapalote sobre el Harinoso de Ocho.

El **Harinoso de Ocho** de la costa de Sonora es un maíz precoz de porte bajo a intermedio, con tolerancia al acame, resistente a la roya y tolerante a la pudrición de mazorca. Las mazorcas son largas semicónicas con 8 a 10 hileras de grano blanco, con cubierta delgada cristalina y endospermo harinoso. La mayor afinidad

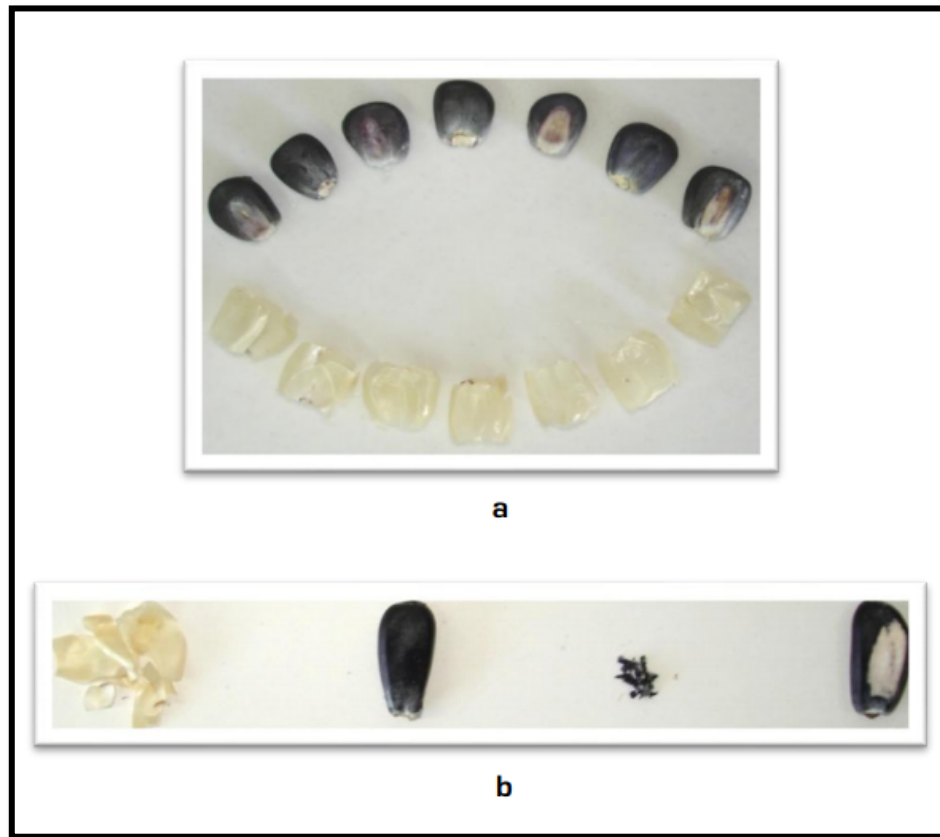
de éste maíz es con el Harinoso prehistórico introducido de América del Sur, considerando su parecido con los maíces de los Guaraní del Paraguay y con el Blanco Amazónico y Karapampa de Bolivia (Palacios-Velarde y col, 2008).

El **Onaveño** nativo de Ónavas, Sonora, es un maíz semitardío de porte intermedio (175 cm), susceptible al acame, aceptable resistencia a la pudrición de grano por *Fusarium* y a la roya. Las mazorcas son semicilíndricas con 8 a 14 hileras de grano blanco cristalino aperlado. Se considera que éste maíz pudo haber derivado del Blando de Sonora, con genes para endospermo cristalino o de la infiltración genética del Reventador en el Maíz Blando. Sánchez y col (2000) concluyeron que la mayor diversidad genética, estimada mediante el estudio bioquímico de isoenzimas, continúa existiendo en Mesoamérica y particularmente en México.

#### 4 Maíz azul

El maíz azul (*Zea mays* L.) debe su color a las antocianinas las cuales están localizadas en una capa delgada que recubre al endospermo. La mayoría de los maíces azules son típicamente de grano harinoso. El endospermo es de textura suave. El color azul se encuentra en la capa de células llamada aleurona, donde una mayor concentración de pigmentos de antocianinas hace que los granos parezcan negros (Betrán y col, 2001; Dickerson, 2003). El endospermo a su vez está formado por proteínas y gránulos de almidón (responsable de las propiedades de textura en los productos elaborados con este cereal) cuya forma y tamaño tienen influencia en sus propiedades fisicoquímicas (Lindeboom y col, 2004; Mishra y Raid, 2006).

En la **Fig 3a** se puede apreciar con claridad que el pericarpio del grano de maíz azul es translúcido, en tanto que en la **Figura 3b** se observa que al retirar el estrato unicelular que constituye la capa de aleurona, el resto del endospermo carece de pigmentación.



**Fig 3.**  
a) Granos de maíz de raza Cónica sin pericarpio;  
y b) eliminada la capa de la aleurona pigmentada  
Salinas-Moreno y col (2012)

### **a Maíces azules en México**

México es considerado como uno de los principales centros de origen del maíz (*Zea mays* L.), debido a que la diversidad que existe en el país sobre esta gramínea es muy amplia, y así lo demuestran las más de 59 razas. En muchas de estas razas se presentan variantes de grano pigmentado con coloraciones que van desde el negro hasta el rosa pálido, siendo los colores rojo y azul/morado los más comunes (Sánchez y col, 2000; Salinas y col, 2012).

Los maíces pigmentados son producidos por agricultores de subsistencia, en suelos marginales y en pequeñas superficies, y la mayor parte de su producción es para autoconsumo. Sin embargo, en estados como Puebla y México la relación beneficio/costo de la producción de maíz azul es de 2.24, superior a la razón 1.57 del maíz comercial de grano blanco (Arellano y col, 2003; Keleman y Hellin, 2009). De esta manera, el maíz azul posee un papel importante como maíz especial.

En México existe una gran diversidad de variedades de maíz azul, las cuales corresponden a varias razas. También existe variabilidad en tamaño, densidad y dureza del grano, así como en su composición química. Estas variables, están definidas por el factor genético, pero también dependen de las prácticas de cultivo, condiciones climáticas y tipo de suelo, así como la interacción entre estos factores (Agama-Acevedo y col, 2011).

En diferentes regiones del país se cultivan variedades criollas de maíz azul, en Valles Altos de la Mesa Central, predomina el maíz azul de la raza Chalqueño, para riego y Cónico para temporal, mientras que en el noroeste la raza Tabloncillo. (Agama-Acevedo y col, 2004, 2005 y 2008; Hernández-Uribe y col, 2007; Utrilla-Coello y col, 2009).

### **b Composición química del maíz azul**

En México existe una gran diversidad de variedades de maíz azul; en diferentes regiones del país se cultivan variedades criollas de este grano. La composición química del grano de maíz azul se destaca el contenido de carbohidratos y proteínas (**Cuadro 2**).

**Cuadro 2.** Composicion química del maíz azul

<b>Componente (% , bs)</b>	
Proteínas	9.9 ± 0.5
Lípidos	5.6 ± 0.1
Cenizas	1.3 ± 0.05
Carbohidratos	83.2 ± 0.3

Gaxiola-Cuevas (2010)

Las diferentes partes del maíz difieren en su composición. El pericarpio tiene un alto contenido en fibra, mientras que el endospermo es rico en almidón. El germen contiene la mayoría de las proteínas, grasas, azúcares y minerales. La coronta tiene una importante fracción de fibra, carbohidratos y minerales. En relación a los minerales del grano, su contenido de fósforo y calcio es importante (Agama-Acevedo y col, 2011).

## **1) Proteínas**

Desde el punto de vista nutricional, las proteínas son las macromoléculas más importantes. Las proteínas del maíz son consideradas de calidad bajo por sus reducidos niveles de dos aminoácidos esenciales: Lisina y Triptófano. El maíz aporta el 38.8% de las proteínas dentro de la canasta básica de consumo alimentario del mexicano promedio (Figuerola y col, 1994).

Las proteínas representan aproximadamente el 10 % del grano de maíz. Estas pueden ser Albúminas (solubles en agua), Globulinas (solubles en soluciones salinas), Prolaminas (solubles en soluciones alcohólicas) y Glutelinas (solubles en soluciones alcalinas o ácidas diluidas). Una fracción considerable de las proteínas se encuentra en el germen; el endospermo, y el pedicelo, llegan a tener hasta un 9% de proteína. En el maíz, las Prolaminas se encuentran principalmente en el endospermo y reciben el nombre de Zeínas; las Glutelinas se encuentran en la matriz proteínica de esta misma estructura. Ambas proteínas constituyen cerca del 90% del total de las proteínas presentes en el grano. Las Albúminas y Globulinas se encuentran en menor proporción en el endospermo, pero estas proteínas son predominantes en el germen (Paredes-López y col, 2006).

Estudios realizados en la Universidad Estatal de Colorado indican que el maíz azul presenta un 30% más de proteína que los maíces blancos o amarillos (Johnson y Jha, 1996). Gaxiola-Cuevas (2010) analizó distintas variedades de maíces azules cultivados en el Estado de Sinaloa, reportó contenidos de proteína de alrededor del 9.9%, bs.



## **2) Carbohidratos**

El maíz azul, como otras variedades de maíces, es una fuente importante de carbohidratos. Los azúcares constituyen aproximadamente el 2 % del peso total del grano; alrededor del 65 % de los azúcares del grano se encuentran en el germen. Los tipos de azúcares que se encuentran presentes son: Fructosa, Glucosa, Sacarosa, Maltosa, Rafinosa y algunos oligosacáridos (Boyer y Shannon, 2001).

Los carbohidratos complejos representan alrededor del 80 % del peso total del grano. Los polisacáridos más importante en el maíz son los estructurales y los de reserva. Los del tipo estructural se encuentran en las paredes del grano y son la pectina, hemicelulosa, celulosa y lignina; el polisacárido de reserva es el almidón y se encuentra en el endospermo (Boyer y Shannon, 2001).

## **3) Fibra dietaria**

La fibra es el citoesqueleto de los vegetales, de naturaleza aparentemente inerte, esto es debido a que no puede ser atacada por las enzimas digestivas, y por lo tanto absorbida en el intestino, pero se digiere, en mayor o menor medida, por las enzimas de la microflora del tracto gastrointestinal, y con características diferentes según la especie vegetal de procedencia. La fibra dietaria está constituida por carbohidratos complejos, que se encuentran asociados a la pared celular de la célula vegetal conformada por polisacáridos complejos (celulosa, hemicelulosa y pectina), lignina, almidón resistente, proteínas y algunos minerales. La proporción en la que cada uno de ellos forma parte de la pared celular es diferente para cada alimento. De acuerdo a su solubilidad en agua, la fibra dietaria se clasifica en fibra soluble e insoluble. Los alimentos ricos en fibra contienen ambos tipos en mayor o menor proporción; la respuesta fisiológica dependerá del tipo de fibra que predomine (Véles-Medina, 2004).

La fibra dietaria está presente en el maíz azul como en todas las variedades de maíz. Se encuentra mayoritariamente en el pericarpio y en las paredes celulares del endospermo. Ciertos factores como la genética, clima y altura afectan el contenido de fibra. Ortiz-Prudencio (2006) evaluó el contenido de fibra dietaria de 10

variedades criollas de maíz (2 de maíz amarillo, 2 de blanco y 6 de azul) de 7 municipios del sureste del estado de Hidalgo, reportando para las variedades azules un promedio de  $15.19 \pm 2.89$  %, bs. Uriarte-Aceves (2015) cuantificó los niveles de fibra dietaria de 15 genotipos de maíz azul mexicano; reportó contenidos de 18-25%, bs.

#### **4) Almidón**

El almidón es el principal componente químico del grano de maíz, al que corresponde hasta el 72-73% del peso del grano. Uriarte-Aceves y col (2015) reportaron un contenido de almidón en un rango del 58.1- 71.5% para maíz azul cultivado en el estado de Sinaloa.

Los maíces pigmentados se caracterizan por contener en su endospermo mayor cantidad de almidón que la encontrada en maíz blanco (0.7-0.78 g/g de muestra seca) (Kriger y col, 1998). Utrilla-Coello y col (2009) encontró en maíz azul y blanco contenidos de almidón total de 0.84 y 0.78 g/g de muestra seca, respectivamente. Agama-Acevedo y col, (2011) analizaron 15 muestras de maíces azules (razas Tabloncillo y Chalqueño), estos maíces mostraron valores de almidón total de 0.785-0.899 g/g de muestra seca.

Diversos autores han reportado que el almidón de maíz azul presenta contenidos de amilosa entre de 20-33.3% (Agama-Acevedo y col, 2004; Utrilla-Coello y col, 2009).

En general, las muestras caen en la clasificación de almidón normal con base a su contenido de amilosa que va de 20-35% de acuerdo a Tester y col (2004).

La concentración de amilosa en los gránulos del almidón de maíz se incrementa con la edad fisiológica del tejido en el cual son sintetizados (Boyer y col, 1976; Lu y col, 1996) reportaron que cuando el maíz es cultivado a temperaturas elevadas (35°C) disminuye el contenido de amilosa comparado con el cultivado a 25°C. El contenido de amilosa es importante ya que este componente del almidón de maíz es el encargado de los procesos de gelificación y retrogradación del almidón cuando éste es cocinado y almacenado, por lo que los maíces con bajo contenido de

amilosa pudieran formar productos con textura más suave y mayor digestibilidad (Biliaderis, 1991).

## **5) Lípidos**

Los lípidos representan alrededor del 5 % del maíz. Se encuentran en mayor proporción con el germen, conteniendo el 84 % de los lípidos del grano y el 16 % restante se encuentra en el endospermo. La mayoría de los lípidos son triglicéridos y se componen por los ácidos Linoleico (50 %), Oleico (35 %), Palmítico (13 %), Esteárico (4 %) y Linolénico (3 %).

Los lípidos del maíz azul son muy estables, porque contienen altos niveles de antioxidantes naturales. Por lo tanto, el maíz azul es una excelente fuente de ácidos grasos y genera aceites de buena calidad (Boyer y Shannon, 2001). Ortiz-Prudencio (2006) determinó la composición proximal de 10 variedades criollas de maíz azul del estado de Hidalgo, reportando un contenido de lípidos de 3-6%, bs. Uriarte-Aceves y col (2015) reportaron un contenido de lípidos en maíces azules Mexicanos de 4.5-6.5%, bs.

## **6) Vitaminas**

El maíz en sus distintas variedades, entre ellas el azul, posee vitaminas hidrosolubles y liposolubles. El grano contiene dos vitaminas liposolubles en concentraciones importantes: la vitamina A ( $\beta$ -caroteno) con 2.5 mg/kg y la vitamina E con 36 mg/kg. Además están presentes en menor proporción la vitamina B<sub>1</sub>, Piridoxina, Niacina y vitamina C en concentraciones muy bajas. En la aleurona, germen y endospermo están las proteínas hidrosolubles. Se han encontrado cantidades variables de Tiamina y Riboflavina. La concentración está determinada por el medio ambiente, las prácticas de cultivo y la genética (Dickerson, 2008).

## **7) Minerales**

En el maíz, alrededor del 78% de los minerales están contenidos en el germen del grano probablemente porque son esenciales durante el crecimiento del embrión. El P es el más abundante y representa el 0.10 % del grano integral. El Ca es el

mineral más importante del maíz azul, ya que es fundamental en el consumo humano. El contenido de Ca puede variar del 0.01% al 0.10% del peso seco del grano. Además posee cantidades considerables de K y Mg. El **Cuadro 3** muestra el contenido de minerales promedio del maíz azul (Dickerson, 2008).

### c Valor nutricional de maíz azul

#### 1) Aminoácidos esenciales

El grano de maíz es deficiente en aminoácidos esenciales Lisina y Triptófano, dos de los ocho aminoácidos esenciales; aquellos que el hombre no puede sintetizar (Figueroa y col, 1994; Dickerson, 1996). Aún con la ausencia de estos dos aminoácidos, tanto las Albúminas como las Globulinas y las Glutelinas contienen un adecuado balance de aminoácidos esenciales y presentan un alto contenido del aminoácido esencial Leucina (Krehl y Barboriak, 1971).

Variedades de maíces modificados o híbridos, conocidos como maíces de calidad proteínica (QPM por sus siglas en inglés), contienen 70-90% de Lisina y Triptófano que los maíces normales (Paredes-López y col, 2000).

En una evaluación realizada en 1990 por la *Cooperativa de Extensión de Servicios de Nuevo México*, EUA, en cinco variedades de maíz azul, se encontró un contenido de Lisina (2.3 mg/g peso seco) mayor que en dos variedades de maíz blanco (1.6 mg/g) y amarillo (1.4 mg/g). Al igual que el maíz *Opaco-2*, el maíz azul contiene una fuente más completa de proteínas que los maíces blanco y amarillo (Dickerson y Holocomb, 1992).

Vidal-Martínez y col (2008) evaluaron la calidad proteínica con base al contenido de proteína, Lisina y Triptófano de 45 colectas de maíces nativos recolectados en 2003-2006 en la región serrana de Nayarit, México. De acuerdo con el agrupamiento, los maíces con mejor calidad proteínica fueron los maíces de

**Cuadro 3.** Contenido promedio de minerales del maíz azul

Mineral	Contenido (mg/100g ,bs)
---------	-------------------------

Fósforo	299.6 ± 37.8
Potasio	324.8 ± 33.9
Calcio	48.3 ± 12.3
Magnesio	107.9 ± 9.4
Niquel	59.2 ± 4.1
Hierro	4.8 ± 1.9
Cobre	1.3 ± 0.2
Manganesio	1.0 ± 0.2
Zinc	4.6 ± 1.2

Dickerson (2008)

grano azul: Bofito Pinto, Blandito, Chino Morado y Negro (% de proteína =9.0% en grano entero y 5.4% en endospermo); también tuvieron los mejores contenidos de Lisina (3.5-3.65%) y Triptófano (0.55-0.68%).

## **2) Valor biológico**

El valor biológico (VB) es un parámetro a través del cual se determina la calidad de una proteína, considerando su grado de absorción por parte del organismo. Este valor se obtiene al medir el grado de retención del nitrógeno contenido en una proteína. De acuerdo a este parámetro la proteína de mayor calidad, contenida en un alimento, es la del huevo con un valor biológico de 93.7%. Debido a esto, se le ha designado como la proteína de referencia, por la Organización para los Alimentos y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) de las Naciones Unidas.

Las proteínas de maíz son de un valor nutricional bajo; su contenido de Lisina y Triptófano es limitado. Además, las Prolaminas (Zeínas), que representan un 39% de las proteínas del grano, no pueden ser digeridas por animales monogástricos (Inglett, 1970; Reiners y col, 1973; Serna-Saldívar, 1996). Además, las Zeínas tienen un desequilibrio muy marcado en las concentraciones de Leucina/Isoleucina. Todo esto hace que estas proteínas sean poco aprovechables por el humano. Aún con la ausencia de estos dos aminoácidos tanto Albúminas como Globulinas y Glutelinas contienen un adecuado balance de aminoácidos esenciales pero, desafortunadamente, presentan un alto contenido del aminoácido esencial Leucina, la cual se relaciona con la incidencia de la pelagra. El valor biológico del maíz entero es de 60.0 y del maíz procesado es 36.0 (Martínez, 1997).

## **3) Relación de eficiencia proteínica**

Uno de los indicadores mas importantes de la calidad de las proteínas es la relación de eficiencia proteínica (PER, por sus siglas en inglés). La PER mide la relación que existe entre la ganancia de peso con respecto a la cantidad de proteína consumida. De esta forma, una proteína presentará mayor eficiencia proteínica

cuando el organismo en cuestión gane más peso con menor cantidad de proteína ingerida (Paredes-Lopez y col, 2009).

Se han reportado, para maíz crudo, valores de PER y de utilización neta de proteína (NPU, por sus siglas en inglés) de 1.37 y 72.78%, respectivamente (Véles-Medina, 2004).

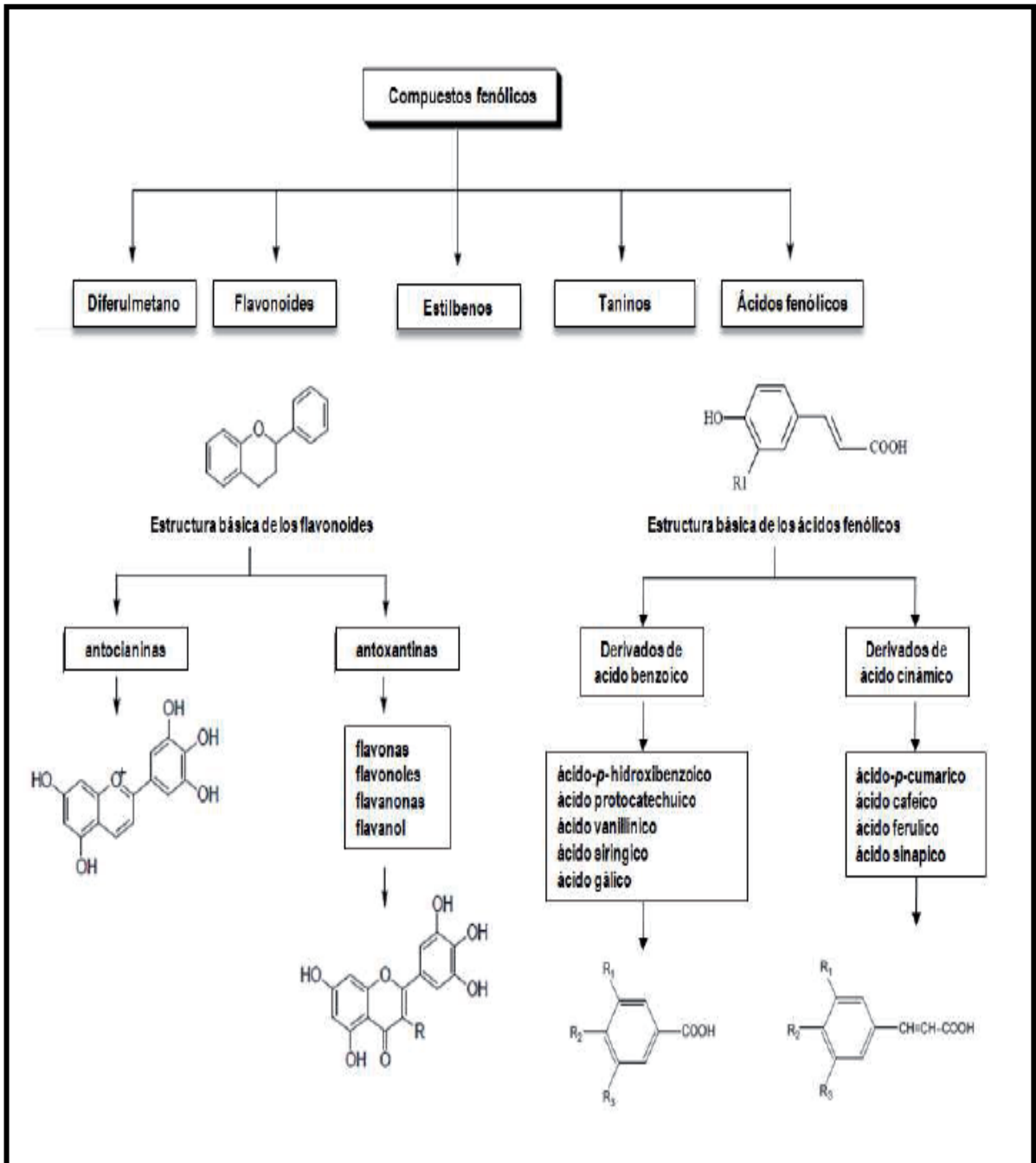
#### **d Fitoquímicos en maíz azul**

##### **1) Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos se incluyen dentro de un grupo de moléculas bioactivas no nutritivas (fitoquímicos) contenidas en frutas, vegetales y granos (Liu, 2004). Químicamente, un compuesto fenólico es una molécula que incluye en su estructura un anillo bencénico con uno o más grupos hidroxilo. Estos compuestos son derivados de sales 2-fenil-benzopirilo que existen en las plantas generalmente como glucósidos, con excepción de unos pocos compuestos amino. El maíz contiene mayor cantidad de compuestos fenólicos y actividad antioxidante que otros cereales como trigo, arroz y avena (Ichikawa y col, 2001; Adom y Liu, 2002). Cabrera-Soto y col (2009) demostraron que los compuestos fenólicos del maíz se encuentran en varias partes anatómicas del grano donde varían en contenido, y que éste correlaciona con la dureza del grano.

El estudio realizado por Mora-Rochín (2010) reporta un contenido de compuestos fenólicos totales en el maíz azul criollo de  $27 \pm 4.2$  mg de EAG/ 100g, bs, de compuestos fenólicos libres;  $115.10 \pm 5.3$  mg de EAG/ 100g, bs, de compuestos fenólicos ligados; obteniendo un contenido total de compuestos fenólicos de  $142.1 \pm 8.3$  mg de EAG/ 100g, bs.

Los compuestos fenólicos comprenden una amplia variedad de formas químicas: fenoles simples, fenilpropanoides, derivados de ácido benzoico, flavonoides (antocianinas), estilbenos, taninos, lignanos y ligninas (Sahidi y Naczk, 2004). En la **Fig 4** se ilustra la clasificación de compuestos fenólicos.



**Fig 4.** Clasificación de compuestos fenólicos  
Han y col (2007)

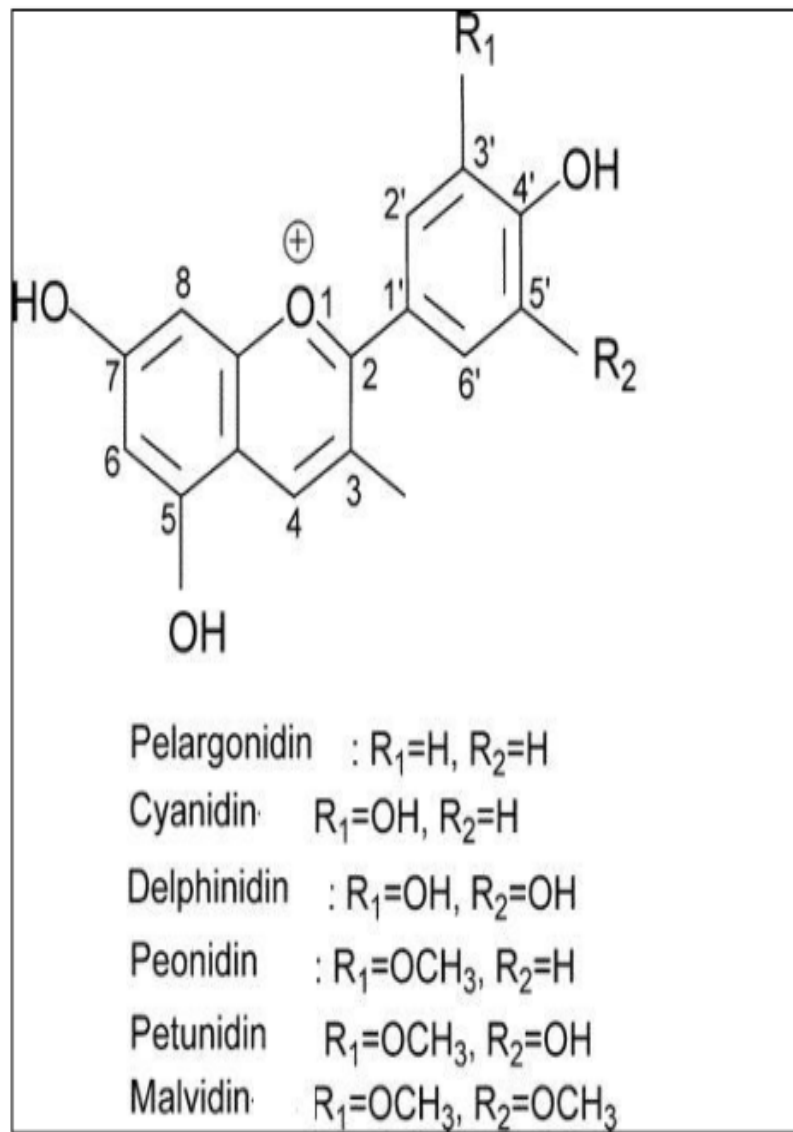


### **a) Antocianinas**

Los compuestos que le confieren la coloración característica a este tipo de maíces son las antocianinas, que representan los principales pigmentos solubles en agua visibles al ojo humano. Pertenecen al grupo de los flavonoides, y su estructura básica es un núcleo de flavón, el cual consta de dos anillos aromáticos unidos por una unidad de tres carbonos (**Fig 5**). El nivel de hidroxilación y metilación en el anillo “B” de la molécula determina el tipo de antocianidina, que es la aglicona de la antocianina. Aunque se han descrito 12 diferentes antocianidinas, las más comunes en plantas son: Pelargonidina, Cianidina, Delfinidina, Peonidina, Petunidina y Malvidina (**Fig 5**). Las tres primeras son más frecuentes en frutos, en tanto que el resto lo son en flores.

En las plantas las antocianidinas no se acumulan como tal, sino en su forma glicosilada; esto es, unidas a algún azúcar, y en cuyo caso se denominan maíces de color guinda o rojo intenso. Si el pigmento se localiza en la capa de aleurona son adecuados para elaborar productos nixtamalizados. Los maíces con estas características son de color morado, azul o negro (Brouillard, 1982). Las antocianinas simples reportadas para maíz son: **(a)** Cianidina 3-Glucósido, **(b)** Pelargonidina 3-Glucósido y **(c)** Peonidina 3-Glucósido (Styles y Ceska, 1972). La primera es común en los maíces de grano azul y morado (Bustillos, 1997) y las dos restantes en maíces de grano rojo (Coe y col, 1955; Harborne y Gavazzi, 1969).

Las antocianinas aciladas con uno o más radicales acilo derivados de ácidos alifáticos (ácido Málico, Malónico ó Succínico) presentan en su estructura



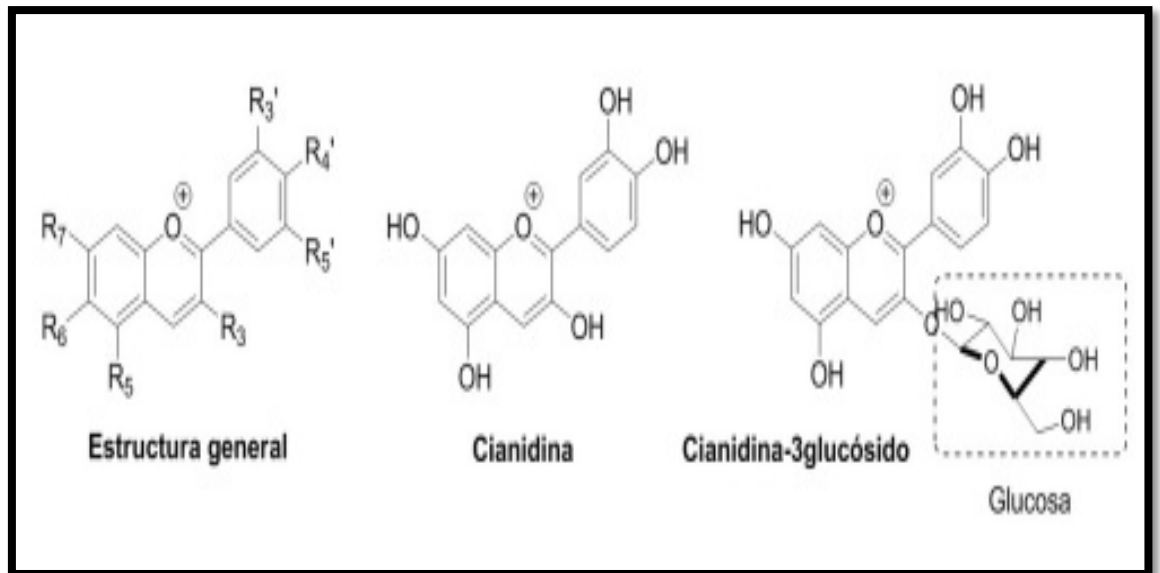
**Fig 5.** Antocianidinas más comunes en flores y frutos  
Gross (1987)

únicamente glucosa y se han identificado en hojas de maíz coloreadas (Harborne y Self, 1987) y en el grano (De Pascual, 2005); las aciladas con alguno de los cuatro ácidos cinámicos (Salinas y col, 2003) poseen en su estructura glucosa y rutinosa (**Fig 6**).

El grano de maíz azul presenta entre 9 y 11 diferentes antocianinas, entre las que se tienen del tipo no aciladas y aciladas. El porcentaje relativo de cada tipo puede cambiar de acuerdo a la raza de la cual provenga el material y el sitio de cultivo; en productos derivados de este cereal, las condiciones del proceso usado en su elaboración también influyen (Salinas, 2000; Salinas y col, 2003; Espinosa, 2003). El porcentaje de antocianinas aciladas es mayor al 50% del total y en algunos maíces como el derivado de la raza Chalqueño llega a ser de hasta 83.3% (Harborne y Self, 1987; Salinas y col, 2000). Según Salinas (1999) el perfil de antocianinas en los maíces de grano azul está determinado por el tono de color del mismo y no se ve influenciado por la raza a la cual pertenece.

Entre las antocianinas no aciladas del grano de maíz azul destacan: **(a)** Cianidina-3-Glucósido, **(b)** Pelargonidina-3-Glucósido y **(c)** Peonidina-3-Glucósido. Las aciladas son los derivados mono y diacilados de estas antocianidinas. Cuando se analizan mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) en fase reversa las no aciladas presentan tiempos de retención menores que las aciladas. De acuerdo con Espinosa (2003) los porcentajes relativos de antocianidinas varían según la raza de maíz que se trate, pero en general son: 90 % Cianidina, 6-8% Pelargonidina y alrededor de 2% para Peonidina. Si el grano es morado, estos porcentajes cambian, reduciéndose la proporción de Cianidina e incrementándose las de Pelargonidina y Peonidina (Escribano-Bailón y col, 2004). Gaxiola-Cuevas (2013) evaluó los niveles y perfiles de antocianinas de 6 genotipos de maíces criollos azules 230, 290, 387, 419, 485 y 512; reportó un contenido de antocianinas totales de 17.2, 23.7, 20.6, 27.9, 33.1, 31.0 mg EC3G/100g, bs, respectivamente. Se identificaron seis diferentes

**Fig 6.** Estructura de antocianinas. **(a)** Estructura general, **(b)** Cianidina.-



Se observa la adición de los radicales hidroxilo e hidrógeno, y **(c)** Cianidina-3 Glucósido, Se observa la adición de la molécula de glucosa al carbono 3 de la estructura.

Castañeda-Ovando y col (2009)

tipos de antocianinas, CY-3-Glu, CY-MalGlu I, PG-3Glu, CY-MalClu II, CY-MalClu III, CY-SucGlu I, PG-MalGlu, CYSucGlu II, CY-diSucGlu I, CY-diSucGlu I. Mora-Rochin y col (2016) identificaron y cuantificaron las antocianinas presentes en quince accenciones de maíz azul mexicano (Elotero de Sinaloa), reportando valores en un rango de 14.1 – 34.3 mg ECG/ 100 g (bs), siendo las del tipo aciladas las más abundantes (CY-Suc-Glu, y, CY-diSuc-Glu) representando el 52.1% y 15.6% del total de antocianinas, respectivamente.

### **e Propiedades nutracéuticas del maíz azul**

Las propiedades nutracéuticas del maíz están íntimamente ligadas con su composición fitoquímica; actualmente representan una línea de investigación de gran interés científico. Los maíces criollos constituyen una fuente de diversidad fenotípica y genotípica por explorar, porque contiene gran cantidad de compuestos con relevantes propiedades nutracéuticas. El **Cuadro 4** enlista algunos de estos fitoquímicos presentes en maíces pigmentados y sus propiedades nutracéuticas.

#### **1) Actividad antioxidante**

Un antioxidante puede definirse como un compuesto que puede donar fácilmente un electrón o un átomo de hidrógeno a un radical peróxido o alcoholóxido para terminar una reacción peroxilípídica en cadena o para regenerar un compuesto fenólico, o que puede quelar efectivamente un metal prooxidante. También reciben la denominación de antioxidantes aquellas sustancias que eliminan el catalizador de la oxidación del medio de reacción. Es el caso de los agentes quelantes de metales por el papel de estos últimos en la iniciación de la reacción. Además, la sustancia debe poseer unas características de hidrofilia/lipofilia que le permitan acceder al lugar donde debe prevenir la oxidación (Pannala y col, 1998). Además de esta definición, cabe considerar el concepto de antioxidante como aquella sustancia que es capaz de contrarrestar los aspectos deletéreos que la oxidación ocasiona en tejidos biológicos (Huang y col, 2005). Halliwell (1990) definió a los antioxidantes como aquellas sustancias, que estando

**Cuadro 4.** Principales categorías de nutraceuticos con maíces criollos

Compuesto nutraceutico		Estructura anatomica	Efecto terapeutico
Familia	Clase		
<b>Fenolicos</b>	Simples como el ácido Ferúlico	Asociados, principalmente, al pericarpio	Previenen el estrés oxidativo, cáncer, colesterol alto, arterioesclerosis y envejecimiento
<b>Antocianinas y flavonoides</b>	Antocianinas, flavonoles, flavan-3-ols	Asociados, principalmente, a la capa de aleurona	Previenen el estrés oxidativo, cáncer, colesterol alto, arterioesclerosis y envejecimiento
<b>Carotenoides</b>	Carotenos	Asociados, principalmente, al endospermo (maíces amarillos)	Los $\beta$ -carotenos son convertidos en vitamina A o retinol. Previenen el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y refuerzan al sistema inmunológico.
	Xantofilas: luteína, zeaxantina, criptoxantina	Asociados al germen, pericarpio y aleurona	Previenen a la degradación macular y formación de cataratas (opacidad del cristalino ocular). Retardan aparición de síntomas relacionados con la renitis. Previenen a las enfermedades cardiovasculares
<b>Fibra</b>	Soluble (Arabinosilanos, hemocelulosas solubles)	Asociada al pericarpio	Compiten con los sitios de absorción del colesterol y por consiguiente son considerados como hipocolesterolémicos y previsores de enfermedades cardiovasculares
	Insoluble (Celulosa, lignina)	Asociadas al endospermo (maíces amarillos)	Mejora función gastrointestinal, incrementa el ligado de ácidos biliares y el volumen y peso de las heces. Y reduce constipación, hemorroides, diverticulosis, y cáncer
<b>Ácido fitico inositol</b>	Inositol	Asociado al pericarpio y aleurona	Considerado como antioxidante y con propiedades anticancerígenas de mama, colon, hígado, leucemia, próstata, sarcomas.

Continuación....

**Cuadro 4.** Principales categorías de nutraceuticos con maíces criollos

Compuesto nutraceutico		Estructura anatomica	Efecto terapeutico
Familia	Clase		
<b>Ácidos grasos polinsaturados</b>	Ácidos Linoleico (18:2 $\omega$ 6) y Linolénico (18:3 $\omega$ 3)	Asociados al germen	Ayuda a reducir los triglicéridos y colesterol sanguíneo. Estos ácidos grasos son convertidos en prostaglandinas y otros ácidos grasos como EPA y DHA
<b>Fosfolípidos</b>	Fosfatidil colina, fosfatidil etanolamina, fosfatidil inositol, fosfatidil serina	Asociados al germen	Esenciales para el funcionamiento apropiado de las membranas celulares y de las neuronas cerebrales. Previenen el envejecimiento celular y el alto colesterol. La colina es esencial para producir acetil colina considerada como el principal neurotransmisor
<b>Vitaminas</b>	Tocoferoles	Asociados al germen	Los tocofenoles son antioxidantes. El $\alpha$ -tocoferol o vitamina E es considerado como la segunda línea de defensa contra el estrés oxidativo que previene enfermedades cardiovasculares, colesterol alto y todo tipo de cáncer. Además ayudan a mejorar la capacidad mental y función cerebral.
	Ácido fólico	Asociado a la capa de aleurona	Previene abortos y defectos en tubo neural y malformaciones en bebés. Ayuda a reducir los niveles de homocisteína y por ello previene enfermedades cardiovasculares.
<b>Policosanoles o ceras</b>	Octacosanal, tricontanol, hexacosanol, dotriacontanol	Asociados a germen y pericarpio	Reducen lípidos séricos, colesterol y la agregación de plaquetas

Serna-Saldívar (2010).

en concentraciones bajas con respecto a las biomoléculas que protegen previenen o reducen el daño que sufren las mismas debido al daño oxidativo. Esta definición recoge con mayor fidelidad las implicaciones que para la salud tiene la actividad antioxidante de los componentes de los alimentos.

La actividad antioxidante de los cereales es mayoritariamente debida a los compuestos fenólicos. El grano de maíz produce diversos tipos de compuestos fenólicos que son categorizados como simples, flavonoides y antocianinas. Todos los maíces contienen fenólicos simples, mientras que solamente los maíces pigmentados como el azul o morado contienen cantidades significativas de antocianinas. Entre los fenoles simples el ácido Ferúlico es el más relevante, es el compuesto fenólico presente en mayor cantidad en maíz, donde se le puede encontrar en forma ligada, libre y condensada. Su propiedad antioxidante está asociada a su núcleo fenólico y su cadena lateral extendida, el ácido Ferúlico forma fácilmente una resonancia estabilizante con su radical fenoxi que aplica un efecto secuestrador de radicales libres (Palacios, 1990; Serna-Saldívar y col, 2013).

Las antocianinas tienen la habilidad de capturar radicales libres como el superóxido ( $O_2^-$ ), oxígeno ( $O_2$ ), peróxido ( $ROO^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y radicales hidroxilo ( $OH^-$ ). La acción antioxidante de las antocianinas es atribuida específicamente a la presencia de grupos hidroxilo en la posición 3 del anillo C y en las posiciones 3', 4' y 5' del anillo B. En general, la capacidad antioxidante de las antocianidinas (agliconas) es superior al de antocianinas, capacidad que se incrementa al aumentar el número de azúcares en la molécula (Cone, 2007; Wang y Stoner, 2008).

Del Pozo-Insfran y col (2006) determinaron la actividad antioxidante de un maíz blanco y dos genotipos de maíces azules encontrando que los maíces azules presentaban una mayor actividad antioxidante (25-29  $\mu\text{mol}$  equivalentes Trolox/g) que el maíz blanco (17.5  $\mu\text{mol}$  equivalentes Trolox/g). De la Parra y col (2007) evaluaron la actividad antioxidante en extractos hidrofílicos de cinco tipos de maíces (blanco, amarillo, azul, rojo y con contenido alto de carotenoides), reportando valores de 41-49.6  $\mu\text{moles}$  equivalentes de vitamina C/100 g para los



extractos. No se encontró diferencia significativa en la actividad antioxidante hidrofílica entre el maíz azul y blanco. Mora-Rochín y col (2010) evaluaron la actividad antioxidante de maíces pigmentados (rojo y azul) y comerciales (blanco y amarillo) reportando valores de 19,312, 19,191 y 19,180  $\mu\text{mol Trolox equiv}/100\text{ g}$  bs, para maíces blanco, rojo y amarillo, respectivamente; estos valores fueron mayores que los obtenidos para maíz azul.

## **2) Actividad anticarcinogénica**

Los radicales libres son considerados factores importantes en la etiología del cáncer. Los componentes de la dieta con actividad antioxidante reciben particular atención como potenciales inhibidores de varios tipos de cáncer. Los fitoquímicos pueden presentar actividades anticáncer, parcialmente basadas en su habilidad para combatir a las especies reactivas de oxígeno (ERO) y por ende proteger moléculas celulares críticas (ADN, proteínas y lípidos) del estrés oxidativo. Los fitoquímicos también pueden interferir con los caminos de señalización celular, entre ellos, los que regulan la proliferación celular, inducen la apoptosis y la respuesta al estrés oxidativo (Loo, 2003; Roy y col, 2003; Dedoussis y col, 2005).

La fibra dietaria representa uno de los constituyentes más importantes de la dieta; sin embargo, el hombre moderno no la consume en cantidad suficiente, sino aproximadamente la mitad de la dosis recomendada. Los granos integrales, incluyendo al maíz, aportan cantidades significativas de fibra dietaria, especialmente soluble, que mejora la función gastrointestinal y previene constipación, divertículos, hemorroides, diabetes y cáncer de colon. Adicionalmente, el maíz es rico en fitatos, que si bien tradicionalmente han sido considerados como factores antinutrientales, porque disminuyen la biodisponibilidad de minerales como el hierro, también poseen propiedades anticarcinogénicas (Steer y Gibson, 2002).

Lesca (1983) reeportó que el ácido Ferúlico inhibe la incidencia de cáncer pulmonal en roedores. Asonama y col (1993) observaron que este ácido reduce 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA)-promoción de tumorigénesis en piel de

roedores. Kawabata y col (2000) evidenciaron que el ácido Ferúlico posee efectos anticarcinogénicos contra el cáncer de colon inducido por azoximetano en ratas F344. Janicke y col (2011) investigaron los efectos del ácido Ferúlico y p-Cumárico (componentes de la fibra dietaria) en la línea celular CaCo-2; observaron que los tratamientos de las células con 150µM de esos ácidos por 24 h retardan la progresión del ciclo celular, específicamente durante la fase S por ácido Ferúlico y en la fase G<sub>2</sub>/M con el tratamiento de ácido p-Cumárico.

Los granos de maíz contienen una compleja mezcla de componentes, algunos con propiedades antimutagénicas (Pedreschi y col, 2007). Un extracto de maíz azul mostró propiedades antimutagénicas al inhibir la carcinogénesis colo-rectal en ratas macho F344 tratadas con 1,2-dimetilhidrazina (Hagiwara y col, 2001; Pedreschi y col, 2007). La inhibición se atribuyó a las antocianinas presentes en el maíz azul, aunque no se descartó la posible acción de otros compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto de maíz. Acciones antimutagénicas contra el mutágeno Trp-P-1 presentaron una respuesta de 96 % para las fracciones de maíz azul a una concentración de 850 µg mL<sup>-1</sup>. La actividad antioxidante probada fue de 0.954 µg equivalentes de Trolox, valor que representa una actividad antioxidante más alta que la de arándano (*Vaccinium corymbosum*). Las fracciones revelaron la presencia de formas glucosidadas de Cianidina, Peonidina, Pelargonidina, y sus contrapartes aciladas. Se ha concluido que el potencial antimutagénico se debió a antocianinas glucosidadas y en menor grado a antocianinas aciladas.

En un estudio realizado por Pei-Ni y col (2005) se demostró que tratamientos utilizando la antocianina Cianidina-3-Glucósido pueden disminuir la migración e invasión de células A549 de carcinoma de pulmón humano altamente metastásicas en ausencia de citotoxicidad; al disminuir la expresión de la matriz metaloproteína-2 (MMP-2) y el activador uroquinasa-plasminógeno (u-PA) dependiendo de la dosis e incitar la expresión de tejido inhibidor de la matriz metaloproteína-2 (TIMP-2) y el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI) a nivel transcripcional.

Jing y col (2008) analizaron la estructura y función de extractos ricos en antocianinas de maíz morado, arándano, zanahoria púrpura, uva, rábano y sauco,

contra la inhibición de la proliferación de células de cáncer de colon (utilizando la línea celular colorectal adenocarcinoma humano HT29). Todos los extractos inhibieron la proliferación celular; sin embargo, los extractos de maíz morado mostraron un efecto mayor ( $GI_{50} \approx 14 \mu\text{g}$  de Cianidina-3-glucósido equiv/mL).

Los efectos antioxidantes *in vitro* de las antocianinas se han demostrado en varios cultivos celulares de células de colon, endoteliales, hepáticas y leucocitos. En dichos sistemas las antocianinas han exhibido efectos antitóxicos y anticarcinogénicos, como: **(a)** Destrucción de radicales libres, **(b)** Reducción de la capacidad de absorción de radicales libres de las células, **(c)** Estimulación de enzimas de fase II para la desintoxicación, y **(d)** Reducción de varios procesos negativos, como la formación de productos oxidativos en el ADN, peroxidación de lípidos, mutagénesis ocasionada por toxinas ambientales y carcinógenos, y la proliferación celular por medio de la modulación de vías de señalización (Wang y Stoner, 2008).

### 3) Otras propiedades

Un amplio espectro de actividades benéficas para la salud humana ha sido asociado con los compuestos fenólicos, en parte por su fuerte capacidad antioxidante. Según Arruzazabala y col (1994, 1996) los policosanoles reducen los niveles de lípidos en sangre así como la agregación plaquetaria relacionada con enfermedades cardiovasculares De acuerdo con Hwang y col (2005) el grano de maíz contiene, aproximadamente, 10 mg de policosanoles /100 g maíz.

El ácido Ferúlico, un compuesto fenólico, es un antioxidante de membrana fuerte y se le atribuyen afectos positivos sobre la salud humana. Posee un amplio rango de propiedades terapéuticas (antiinflamatorio, antiaterogénico, antidiabético, antienviejimiento, neuroprotector, radioprotector, hepáticoprotector). Muchas de estas propiedades pueden ser atribuidas a su elevada actividad antioxidante, causada por sus núcleos fenólicos y la conjugación de su cadena lateral extendida. Este fácilmente forma un radical fenoxi estabilizado por resonancia, asociado a su potencial antioxidante (Srinivasan y col, 2006).

Se ha reportado que el nivel de glucosa en sangre en animales con diabetes inducida por Estreptozotocina se reduce con la administración de ácido Ferúlico. Esto se atribuye a su capacidad antioxidante, al neutralizar los radicales libres producidos por la Estreptozotocina en el páncreas y, por ende, reduce la toxicidad de ésta. Esta disminución del estrés y toxicidad en el páncreas ayuda a la proliferación de células beta y a la secreción de más insulina; así disminuye el nivel de glucosa en sangre (Balasubashini y col, 2004). La administración de ácido Ferúlico en una dosis de 0.01% y 0.1% en una dieta basal muestra que puede contener los niveles de glucosa en sangre en ratones con diabetes inducida por Estreptozotocina. En ratones KK-Ay 0.05% de ácido Ferúlico contienen efectivamente el nivel de glucosa en sangre (Ohnishi y col, 2004).

Tsuda y col (1999) reportaron que Cianidina-3-glucósido (C3G) administrada por vía oral ratas alimentadas con una dieta (en proporción 2 g / kg de dieta) durante 14 días, suprime el daño oxidativo, y lesiones en el hígado causadas por la isquemia-reperfusión (I/R) hepática inducida; estos investigadores sugieren que la C3G funciona como un potente antioxidante *in vivo*. Tsuda y col (2003) experimentaron con ratones de laboratorio alimentados con antocianinas de maíz morado, particularmente con la Cianidina-3-Glucósido (C3G); encontraron que la dieta hiperlipidémica rica en antocianinas produjo menor ganancia de peso en los ratones y redujo significativamente la aparición de enfermedades como hiperglicemia, hiperinsulinemia (resistencia a la insulina) e hiperleptinemia, en comparación con el grupo alimentado con una dieta hiperlipidémica sin antocianinas; estos autores concluyeron que las antocianinas se pueden considerar como un aditivo funcional que previene la obesidad, la diabetes y el síndrome metabólico.

En un estudio llevado a cabo por Guo y col (2010) con ratones normales y ratones genéticamente diabéticos, de seis semanas de edad, se alimentaron a ambos grupos con una dieta alta en grasas durante 12 semanas; además, se les suministró una suplementación dietética (0,2 % de C3G) durante 5 semanas. La C3G redujo los niveles de glucosa en ayunas y mejoró notablemente la sensibilidad a la insulina, en los dos grupos de ratas, en comparación con los controles sin

suplementar. También los niveles de ARN mensajero del tejido adiposo blanco y las concentraciones séricas de citoquinas inflamatorias se redujeron, al igual que la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo. Al mismo tiempo, el contenido de triglicéridos hepáticos y esteatosis fueron mejorados. Se concluyó que la C3G tiene potencial antidiabético.

## **f Procesamiento del maíz azul**

### **1) Generalidades**

En México, la industria utiliza, principalmente, el maíz para la alimentación humana (harinas de maíz nixtamalizado) y en la obtención de diversos productos que son comercializados como alimentos, medicinas y cosméticos: Jarabe de maíz de contenido alto de fructosa, dextrosa, almidón o fécula, aceite, colorantes, dextrina, maltodextrina, ácido láctico, sorbitol, y etanol. Por otro lado, podría considerarse un recurso energético renovable, ya que de él es posible obtener etanol, alcohol derivado de la fermentación del almidón del maíz, que es posible utilizar como biocombustible en para automóviles y camiones; sin embargo, eso no es permitido por la legislación Mexicana (Esteva, 2003).

Existen diversas tecnologías para el procesamiento del grano de maíz entre las que se incluyen cocción húmeda, tostado, expandido, micronización, molienda húmeda, nixtamalización, extrusión, fermentación en estado sólido, germinación.

### **2) Nixtamalización**

La nixtamalización del maíz es el principal proceso de transformación del maíz para su consumo. La nixtamalización fue desarrollada por los Aztecas en la época precolombina [Nixtamalización (del náhuatl, nextli, cal de cenizas; y tamalli, masa cocida de maíz)] (Cabrera, 2009). Esta tecnología es utilizada ampliamente en América para la obtención de una gran variedad de productos (tortillas, harinas instantáneas, botanas, bebidas). El proceso de nixtamalización tradicional involucra cambios químicos, estructurales y nutricionales en los diversos constituyentes del grano (Bressani, 1990; Ramírez-Wong y col, 1994; Rojas-Molina y col, 2007).

Actualmente se dispone de procesos alternativos a la nixtamalización tradicional (NT), como la nixtamalización por extrusión (NE) y la nixtamalización fraccionada (NF), que al igual que en la NT, los granos de maíz son sometidos a un tratamiento térmico-alkalino en presencia de agua, aunque, en estos dos últimos casos, limitada cantidad de agua. El desarrollo de estos procesos alternativos se debe a que la NT requiere de largos periodos de tiempo y el uso de gran cantidad de agua, que da como subproducto al líquido denominado “nejayote” cuyo pH es elevado y contiene gran cantidad de material orgánico. Los procesos alternos se enfocan a la reducción de tiempo de procesamiento y de efluentes contaminantes. Se han desarrollado tecnologías que optimizan el contenido de antocianinas en productos nixtamalizados para obtener un beneficio adicional a la salud de la población (Escalante-Aburto y col, 2013).

Existen diversos estudios sobre el efecto de la nixtamalización de maíz azul sobre sus distintos componentes; en estos se reporta un decremento en la actividad antioxidante, compuestos fenólicos totales, contenido de antocianinas y ácido Ferúlico. Estos decrementos están asociados a las condiciones del proceso (pH alcalino) y a las temperaturas altas a las que se someten los granos de maíz para la producción de tortillas de harina nixtamalizada (Véles-Medina, 2004; Escalante-Arbuto, 2014; Mora-Rochin y col, 2010; 2016).

### **3) Extrusión**

La tecnología extrusión es un proceso continuo que combina el corte mecánico y calor para obtener productos plastificados y reestructurados con nuevas formas y texturas. El fundamento del proceso es combinar las operaciones unitarias de transferencia de calor, amasado y presión en una sola, lo que produce cambios significativos en la textura de cereales y oleaginosas (Zhao y col, 2011). Los materiales sometidos a este proceso, en general, sufren transformaciones químicas, estructurales y nutricionales como desnaturalización parcial de las proteínas, oxidación de lípidos, degradación de las vitaminas y fitoquímicos, formación de sabores, aumento de la biodisponibilidad de minerales, solubilidad de la fibra

dietética y gelatinización parcial del almidón (Milán-Carrillo y col, 2002; Camire, 2003).

Dentro de las variables más significativas en el proceso de extrusión se encuentran: temperatura, velocidad y configuración del tornillo, presión, diámetro y forma del dado, esfuerzo del corte, tamaño de partícula y contenido de humedad de la muestra. Algunas de las ventajas que ofrece el proceso de extrusión son: costos de operación bajos, productividad alta, versatilidad, eficiencia energética, generación de nuevos productos de alto valor biológico y calidad y la ausencia de efluentes. Los diferentes factores que intervienen en la extrusión hace que este proceso tenga tal versatilidad que es posible aplicarlo para la elaboración de diferentes alimentos, así como en el desarrollo de nuevos productos, debido a que las operaciones de cocción, formado-amasado, expansión, formación de textura y enriquecimiento pueden ser logrados continuamente. A partir de este tipo de procesamiento se obtienen productos de valor nutricional alto, con propiedades fisicoquímicas específicas. La extrusión se ha utilizado para la fabricación de varios tipos de alimentos, como botanas, cereales para desayuno, harinas precocidas, pastas, productos de confitería, bebidas, alimentos para mascotas y proteínas vegetales texturizadas (Serna-Saldívar y col, 1988; Eastman y col, 2001, Milán-Carrillo y col, 2000; 2005; Zhao y col, 2011)

Se ha reportado que durante el proceso de extrusión ocurre reducción en el contenido de fitoquímicos. Aguayo-Rojas y col (2012) realizaron estudios sobre el efecto de la extrusión de maíz azul sobre actividad antioxidante (AAox) y contenido de compuestos fenólicos totales (CFT); las condiciones de extrusión aplicadas fueron: Tasa de alimentación 70 g/min; temperatura de extrusión (TE) 85°C y velocidad de tornillo (VT) de 240 rpm. Estos investigadores reportaron una retención de 87.2-90.7% AAox, 76.4-87.5% CFT y una pérdida del 55% en el contenido de antocianinas, en relación al grano crudo. Resultados similares han sido reportados por otros autores (Veles-Medina, 2004; Mora-Rochin, 2010) al realizar investigaciones con maíces pigmentados.

#### **4) Fermentación en estado sólido (FES)**

La FES es una tecnología con orígenes ancestrales y consiste en una fermentación con sólidos en ausencia (o casi ausencia) de agua libre. En este proceso, el sustrato debe poseer la humedad suficiente para que el microorganismo crezca y se desarrolle metabólicamente. La FES tiene varias ventajas sobre la fermentación líquida o sumergida como lo son la simplicidad del medio, equipo poco compleja, rendimientos mayores de producto, demanda reducida de energía reducida, empleo bajo de agua y posibilidad baja de contaminación (Gupta y Kar, 2008). A pesar de sus notables ventajas, el escalamiento de la FES a nivel industrial se ha generando lentamente, debido a dificultades del proceso (transferencia de calor, masa y especialmente, la transferencia de oxígeno) y al diseño de los biorreactores. Aunque se han empleado diferentes procedimientos (agitación o rotación) para resolver el problema de transferencia, las rupturas generadas por estos métodos afectan la porosidad del medio y el micelio fúngico dentro de los biorreactores. El tipo de biorreactor utilizado es de vital importancia para obtener rendimientos altos en un proceso fermentativo (Robledo-Olivo y col, 2012).

Existen diversos estudios sobre la fermentación FES de maíz. Se ha reportado que la FES incrementa el contenido de proteína (de 6.7 a 14.7%) y disminuye los niveles de celulosa (-38%) y hemicelulosa (21%) en granos de maíz (Yang y col, 2001). Cuevas-Rodríguez y col (2004; 2006) reportaron que, por efecto de la FES de granos de maíz, se observó un incremento en el contenido de aminoácidos esenciales (His, Ile y Leu) y en disponibilidad de Lys; además, estos investigadores reportaron un incremento en los valores de indicadores nutricionales [Relación de eficiencia proteínica (PER, por sus siglas en inglés) y digestibilidad proteínica] y una disminución en los contenidos de lípidos y ácido fítico.

#### **5) Germinación**

La germinación es uno de los procesos más antiguos utilizados para la elaboración de alimentos; tiene efectos importantes sobre la composición química,



valor nutricional y características de aceptabilidad de las semillas germinadas tanto de cereales como leguminosas. El proceso de germinación consiste en la reanudación de la actividad metabólica y el crecimiento activo de los tejidos del embrión, lo que resulta en la ruptura de la cubierta de la semilla y la emergencia de una plántula. En orden secuencial, la germinación involucra: **(a)** Rehidratación, **(b)** Utilización de las sustancias de reservas (proteínas, carbohidratos y lípidos), **(c)** Formación de estructuras como membranas y paredes celulares, y **(d)** Síntesis de aminoácidos, nucleótidos, ácidos orgánicos y azúcares, para generar nuevas células y tejidos durante el crecimiento que permitirán a la plántula asumir un modo autótrofo de existencia. Las ventajas que ofrece es generación de productos en cualquier época del año, inversión económica baja, rendimiento alto, obtención de productos de valor biológico y digestibilidad elevadas (Colmenares y Bressani, 1990; King, 1991; Legaria y col, 2000; Barrón-Yáñez y col, 2009).

El proceso de germinación genera grandes cambios nutricionales comparado con las semilla sin germinar: **(a)** Mejora la calidad de las proteínas y distribución de aminoácidos, **(b)** Se obtienen productos con contenido alto ácidos grasos poliinsaturados, **(c)** Incrementa la biodisponibilidad de minerales y vitaminas, y **(d)** Disminuye los niveles de algunos factores antinutricionales (fitatos, inhibidores de tripsina). Los cambios sobre la composición química y valor nutricional que ocurren durante este proceso dependen de la especie y las condiciones de germinación utilizadas; se ha estudiado de los métodos y condiciones empleadas durante este proceso. Entre las variables que tienen un mayor efecto sobre el proceso de germinación se encuentran: **(a)** Tiempo de cosecha del grano, **(b)** Tipo y proporción de agentes desinfectantes, **(c)** Tiempo de remojo, **(d)** Temperatura de germinación, **(e)** Tiempo de germinación, **(f)** Tipo e intensidad de la luz empleada, **(g)** Elicitores (Mora-Escobedo y col, 1991; Gajewskiy col, 2008; Barrón-Yáñez y col, 2009).

El incremento de la actividad antioxidante es uno de los cambios que se presentan durante la germinación, debido a la síntesis de compuestos fenólicos principalmente flavonoides (flavonas, isoflavonas) por la activación de enzimas endógenas y a otros compuestos metabólicos formados durante la germinación. La

germinación es un proceso excelente que se puede utilizar para obtener alimentos funcionales con valor nutricional y actividad antioxidante altos (Dueñas y col, 2009; Álvarez-Jubete y col, 2010).

## **B GERMINACIÓN**

### **1 Generalidades**

La formación de una semilla y su germinación constituyen fenómenos adaptativos únicos en el ciclo de vida de las plantas superiores. Involucran el desarrollo del embrión y median varios procesos fisiológicos para asegurar la supervivencia de la planta en la próxima generación. Durante la formación de la semilla se acumulan las sustancias de reserva (proteínas, carbohidratos y lípidos), aunado a un incremento en los niveles de ácido abscísico (ABA, por sus siglas en inglés) durante la embriogénesis intermedia y la pérdida del contenido de agua durante la embriogénesis tardía. Una vez formada, en la gran mayoría de las especies, la semilla pasa a un estado de desecación y posteriormente de latencia hasta el momento de la germinación (Legaria-Solano y col, 2000).

La germinación consiste en la reanudación de la actividad metabólica y el crecimiento activo de los tejidos del embrión, lo que resulta en la ruptura de la cubierta de la semilla y la emergencia de una plántula. En orden secuencial, la germinación involucra la rehidratación, la utilización de las reservas y la formación de las estructuras de síntesis que permitirán a la plántula asumir un modo autótrofo de existencia. En términos bioquímicos la germinación es el resultado de procesos catabólicos y anabólicos contrastantes. Los primeros ocurren en los órganos de almacenamiento (endospermo en plantas monocotiledóneas y cotiledones en dicotiledóneas) y consisten en la degradación y movilización de las macromoléculas de reserva. Los segundos se efectúan en los ejes embrionarios e incluyen la síntesis de macromoléculas, componentes estructurales como membranas y paredes celulares, para generar nuevas células y tejidos durante el crecimiento (Kermode, 1990; King, 1991).

Las semillas son el resultado de la reproducción sexual de las especies vegetales, contienen un embrión capaz de desarrollarse en una planta semejante a la que les dio origen, por lo que poseen toda la infraestructura que permite este desarrollo, así como sustancias de reserva que garanticen el aporte inicial de los nutrimentos requeridos por dicho embrión en el inicio del crecimiento (Legaria-Solano y col, 2000). En la **Fig 7** se ilustran los eventos físicos y metabólicos que se desarrollan durante la germinación .

## **2 Etapas de la germinación**

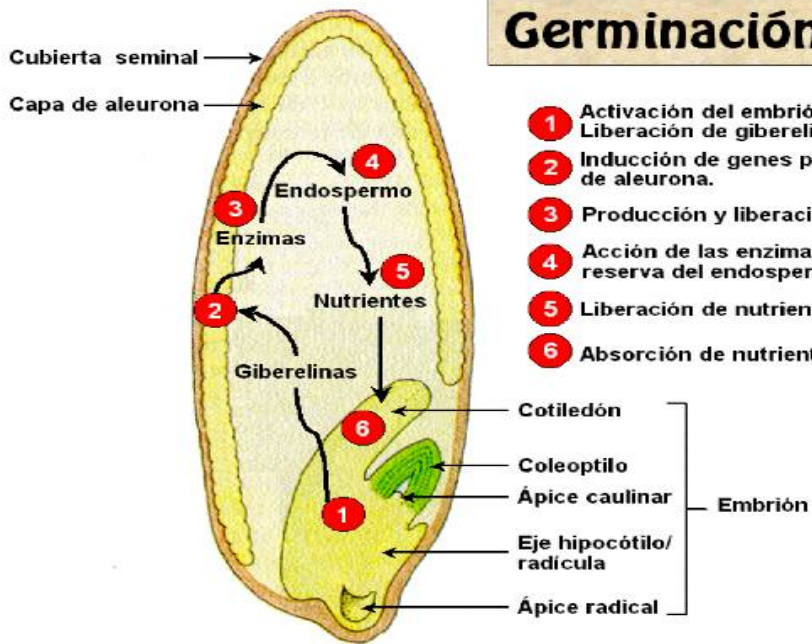
### **a Imbibición**

La rehidratación de la semilla es una de las fases bioquímicamente cruciales durante el proceso de germinación. La captación de agua generalmente es un proceso trifásico que se caracteriza por un periodo inicial de ganancia en peso, seguido de una fase estacionaria con un subsecuente incremento que coincide con el crecimiento de la radícula. Este proceso se puede llevar a cabo en algunas horas hasta varios días (Meredith y Pomeranz, 1985).

La cantidad de agua absorbida por la semilla está en función directa de su tamaño, de la permeabilidad de la cubierta, cantidad y disponibilidad de agua y composición química. El agua se absorbe a través de los orificios naturales en cubierta, difundándose a lo largo de los tejidos; esto ocasiona un incremento en el

**Fig 7.** Eventos físicos y metabólicos durante la germinación  
García-Breijo (2003).

## Germinación en cereales



volumen de las células y de la semilla. Los cuerpos proteínicos del endospermo sufren alargamiento e hinchamiento. De los componentes del endospermo las proteínas son las que absorben agua en mayor proporción. Una máxima absorción de agua es deseable, sin embargo; una absorción excesiva puede romper la cubierta de la semilla y afectar la germinación debido que las sustancias celulares van hacia el exterior ocasionando: **(a)** Pérdidas de reservas, **(b)** Pérdida de la compartimentalización con mezclas indeseables de sustancias (p.ej. energía celular en forma de ATP que puede ser degradado por ATPasa) y **(c)** Estímulo a la actividad de patógenos del ambiente (Chavan y Kadam, 1989).

### **b Reanudación del metabolismo energético y reparación celular**

Después de que la semilla ha captado el agua suficiente, el embrión se transforma y la plúmula y radícula empiezan a emerger; en esta etapa probablemente hay síntesis y activación enzimática, degradación de inhibidores y cambios profundos en la estructura de la semilla, así como su composición. Existe un incremento en los niveles de metabolitos intermediarios y enzimas, asociados con la producción de energía, particularmente el ciclo de los ácidos tricarbóxicos. Esto se ve reflejado por el aumento en la velocidad de intercambio gaseoso (Chavan y Kadam, 1989).

### **c Síntesis de proteínas**

Uno de los eventos bioquímicos y moleculares más relevantes observados durante la germinación de cereales es la síntesis de proteínas. Sin embargo, el nivel de la este proceso varía ampliamente en las plantas durante el desarrollo (Gallie y col, 1998). Todos los componentes necesarios para reiniciar la síntesis de proteínas durante la imbibición, están presentes en las células de los embriones maduros, a pesar de que los polisomas se encuentren ausentes. La síntesis inicial de las proteínas es dependiente de los ribosomas y ARN mensajeros almacenados, pero la síntesis de nuevos ribosomas así como su utilización se lleva a cabo en las primeras horas de la imbibición en las semillas en germinación, la síntesis inicial de

proteínas es dependiente de los ribosomas existentes, pero éstos se sintetizan y se utilizan durante las primeras horas de imbibición. Así como también ciertos ARNm se encuentran almacenados dentro del embrión seco, entre los cuales se encuentran aquellos que codifican para proteínas ribosomales, que se requieren durante la germinación temprana (Beltrán-Peña, 1995; Bewley, 1997).

En estudios en semillas de maíz en etapas tempranas de la imbibición, se demostró que se lleva a cabo la síntesis de factores de iniciación de la traducción (eIF), pertenecientes a un grupo de ARNm que presentan la estructura 5'TOP (Dinkova y col, 2000). En particular en ejes embrionarios de maíz en germinación, la traducción de ARNm parece ser parcialmente regulada por un mecanismo que involucra la fosforilación de la proteína ribosomal S6 (Sánchez de Jiménez y col, 1997).

Las semillas contienen cantidades variables de proteína, pueden ser proteínas estructurales y metabólicas, vitales para las funciones celulares pero además contienen proteínas de reserva que sirven como fuente de nutrientes (especialmente N y S) y a veces como protectoras. Las proteínas de reserva, que representan un 50% del total de proteínas de la semilla, se encuentran en cuerpos proteicos de membrana simple, derivados de la deposición de proteínas en pequeñas vacuolas o mas raramente en el retículo endoplásmico. Los tres tipos principales de proteínas de reserva fueron identificados, inicialmente por sus solubilidades y actualmente por comparación de las secuencias de ADN de los genes que las codifican son: Albúminas solubles en agua, Globulinas solubles en soluciones salinas diluidas y Prolaminas solubles en alcohol (Figuroa-Mendoza, 2007).

#### **d Metabolismo de hormonas**

Los procesos de germinación implican las etapas de crecimiento y desarrollo que tienen lugar en el interior del embrión, que existe dentro de la parte de la semilla de una planta. Estos procesos ocurren a medida que ciertas secreciones hormonales ocurren dentro del compartimento de la semilla. Las Giberelinas y Citoquininas son

dos sustancias químicas hormonales que desencadenan los procesos de germinación de semillas. Ambas hormonas estimulan las actividades de la división celular, que se traducen en el crecimiento del tejido. Cuando se aplican en una forma química sintética, las giberelinas también pueden interrumpir el período de latencia de la semilla natural y provocar el comienzo de los procesos de germinación. El ácido Abscísico, otra hormona sintética química, provoca períodos de dormancia en las semillas y previene que se produzca la germinación (Suárez y Melgarejo, 2011).

La germinación esta regulada por un balance hormonal adecuado más que por la presencia de una cantidad umbral de una determinada hormona. El ácido Abscísico inhibe el crecimiento del eje embrionario. En cambio, en semillas de cereales, las Giberelinas estimulan la movilización de las reservas al inducir la síntesis de  $\alpha$ -amilasa. Numerosos experimentos han demostrado que la germinación generalmente responde a la aplicación exógena de fitohormonas. Las Giberelinas (Gas) se consideran los promotores más potentes de la germinación y estimulan la germinación de las semillas de gran número de especies. Las Citoquininas (CKs) y el etileno tienen un efecto promotor más restringido, si bien las primeras posiblemente desempeñan un papel especial antagonizando el efecto de los inhibidores naturales. El ácido Abscísico (ABA, por sus siglas en inglés) se considera el inhibidor de la germinación por excelencia y actúa en este sentido en la mayor parte de las especies ensayadas (Gaspar y col, 1996).

### **e Cambios en el embrión**

Durante la germinación ocurren un conjunto de fenómenos por los cuales el embrión, que se halla en estado de vida latente dentro de la semilla, reanuda su crecimiento y se desarrolla para formar una plántula (plantita recién nacida). Para que se produzca deben darse condiciones fisiológicas entre las cuales las más importantes son oxigenación, temperatura, luz y humedad.

La absorción de agua ocurre a nivel del hilo o la micrópila. El hinchamiento de la semilla producido por la absorción de agua distiende los tegumentos seminales que finalmente se rompen en la zona más débil, cerca de la micrópila (Bewley, 1997).

Comportamiento de las distintas partes del embrión: **(a) Radícula.**- Asoma por la micrópila, dando origen a la raíz primaria. Su duración es efímera en las monocotiledóneas que generalmente desarrollan raíces adventicias, mientras en gimnospermas y dicotiledóneas origina la raíz principal que dura toda la vida de la planta, **(b) Hipocótilo.**- Su crecimiento es importante en la germinación epígea, eleva los cotiledones por encima del suelo. El episperma se rasga y los cotiledones, expuestos a la luz, se vuelven los primeros órganos fotosintetizadores, **(c) Cotiledones.**- Su comportamiento varía según que se trate de semillas exalbuminadas o albuminadas. En las semillas exalbuminadas se dan dos casos: si la germinación es hipógea, como en *Pisum*, ceden las reservas acumuladas; si es epígea, como en maní y poroto, ceden las reservas y luego enverdecen. En las semillas albuminadas también se dan dos casos. Si la germinación es hipógea cumplen función haustorial como en *Gramineae*. Si la germinación es epígea, como en *Pinus*, *Ricinus*, primero tienen función haustorial y luego enverdecen. En *Allium* el único cotiledón crece alargándose durante la germinación. Su porción apical permanece cubierta por el episperma y funciona como haustorio, nutriéndose con el endosperma, mientras la parte basal queda expuesta a la luz y es fotosintetizadora, **(d) Epicótilo.**- Tiene desarrollo precoz solo en plántulas de germinación hipógea, como la arveja y muchas Monocotiledóneas, elevando la plúmula por encima de la superficie del suelo. En plantas de germinación epígea el epicótilo tiene desarrollo tardío.

Según Duke, (1969) la germinación puede ser fanerocotilar, cuando los cotiledones emergen del episperma y criptocotilar, cuando no emergen del mismo. La fanerocotilar es más común en dicotiledóneas, y la criptocotilar en monocotiledóneas. El maní es un tipo transicional, y hay muchos géneros que tienen los dos tipos en diferentes especies: *Acer*, *Bauhinia*, *Caesalpinia*, *Clematis*, *Couratari*, *Lecythis*, *Ormosia*, *Passiflora*, *Phaseolus*, *Pithecellobium*, *Prunus*,



*Quercus*, *Sapindus*, *Sterculia*, *Terminales*, *Theobroma*, etc. En *Phaseolus* la criptocotilia es un carácter genético dominante sobre la fanerocotilia.

#### **f Relación entre el embrión y la estructura circundante**

Una semilla consiste de un embrión, rodeado de albumen (endosperma), que es la reserva alimentaria contenida en la semilla y empaquetados en un contenedor altamente durable, la testa. (Fosket, 1994). En las semillas monocotiledóneas la radícula o raíz embrionaria está protegida por una estructura a modo de capuchón llamada coleorriza, que se desgarrar durante la germinación. La plúmula también se halla protegida por otra envoltura, el coleóptile, formado por parte del cotiledón y que protege a las primeras hojas en su ascenso hacia la superficie. El endosperma, puede persistir en la semilla madura o ser absorbido pronto por el embrión en crecimiento, acumulando este último las sustancias de reserva. En el caso de acumularse las reservas en el endosperma o albumen, las semillas se llaman endospermadas o albuminadas. Este en algunas especies durante la germinación de las semillas, es reabsorbido y los cotiledones sirven de almacén de reservas. El endosperma remanente se localiza cerca del micrópilo (endosperma micropilar) y puede restringir la germinación. En las semillas, el endospermo, que rodea al embrión, regula la germinación. El embrión de *Arabidopsis* está rodeado por dos capas, el endospermo y la testa (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006; Holdsworth y col, 2008).

### **3 Factores que influyen en la germinación**

La mayoría de las semillas que el hombre utiliza para su alimentación se han germinado. Existen variaciones en los métodos, condiciones empleadas y porcentajes de germinación obtenidos durante este tratamiento. Para obtener máximos beneficios nutricionales, se debe tener en cuenta el tiempo de remojo, el tipo y proporción de agentes desinfectantes, la temperatura y el tiempo de germinación, así como también el tiempo de cosecha del grano a utilizar y la

presencia de estrés osmótico en la semilla. El material a germinar se limpia, se escoge y se eliminan granos rotos e infestados (Chavan y Kadam, 1989).

#### **a Tiempo de cosecha**

El nivel de cosecha obtenido al final del cultivo depende en gran medida de la calidad de la semilla, dicha calidad, al tiempo de la cosecha, deberá manifestarse en semillas vigorosas, con poder germinativo alto, genéticamente puras y libres de enfermedades que pongan en peligro su viabilidad y el desarrollo de las plantas que de ellas se originan.

La capacidad germinativa del grano de maíz dependerá del tiempo al cual fue cosechado. Mendoza-Elos y col (2003) relacionaron la variable vigor con la germinación, encontrando que a medida que el desarrollo y maduración del grano avanzaba y el por ciento de humedad disminuía se incrementaba el vigor de la semilla, encontrándose entre en los muestreos entre los 133 y 145 días de cosecha los valores más elevados de vigor y porcentaje de germinación de las semillas; cabe señalar que en los dos siguientes muestreos que fueron a los 148 y 151 días el porcentaje de germinación se mantuvo entre el 100 y 90 %, pero el vigor se redujo drásticamente.

#### **b Remojo**

Cada especie necesita absorber un cierto mínimo de humedad para que ocurra germinación, en el maíz este es el 30.5% (Marasssi, 2013). Nava-Arenas y col (2008), utilizaron la metodología Taguchi L<sub>9</sub> con un arreglo ortogonal para optimizar las condiciones para obtener el porcentaje de germinación máximo en los granos de maíz azul, utilizando tiempos de remojo de 24, 48 y 78 h, el mayor porcentaje de germinación (94%) se alcanzó con el tiempo mínimo de remojo que probaron, 24h, donde los granos germinados alcanzar un contenido de humedad de 43%.

En un estudio aplicando un diseño experimental trifactorial (AxBxC) utilizado para la germinación de maíz morado se evaluó el efecto de tiempos de remojo (12 y 24 h), temperaturas de remojo (18 y 25°C) y temperaturas de germinación (20,

22 y 24°C) en su composición química, reportando un contenido de proteína de maíz morado de 12,31% (9,60 % en el grano crudo) obteniendo como condiciones óptimas de temperatura y tiempo de remojo para el maíz morado 25°C y 12 h (Argüello-Moncayo y Garzón-Carrera, 2012).

Polthum y Ahromrit (2014) germinaron dos variedades de maíz (semillas moradas y blancas) utilizando un tiempo de remojo de 6 h, para obtener una humedad del 31-32 %, con el fin de evaluar la actividad antioxidante y contenido de GABA durante la germinación bajo condiciones de hipoxia.

### **b Temperatura / tiempo de germinación**

Para cada clase de semillas existe una temperatura mínima y una máxima en la que ocurre la germinación. Además, dentro del rango temperatura mínima-máxima, existe un punto en el que se obtiene máxima germinación y esta ocurre más rápidamente; este punto corresponde a la temperatura óptima. Estas temperaturas se conocen como las temperaturas cardinales de germinación. Para el maíz una temperatura mínima que de los 8-10 °C, una máxima entre 40-42 °C, y la óptima 32-35°C. Nava-Arenas y col (2008) utilizaron, para la germinación de maíz azul, diversas temperaturas (20, 25, 30°C) y tiempos (24, 48, 96 h) de germinación; con la combinación 25°C / 96 h obtuvieron un porcentaje de germinación del 94%.

### **c Inhibidores microbianos**

Los granos de cereales frecuentemente se contaminan durante las etapas de desarrollo, cosecha y secado, y durante su almacenamiento, con una carga de microorganismos. Para inhibir el crecimiento microbiano durante la germinación se utilizan diferentes agentes: Hipoclorito de sodio (Sokrab y col, 2012), formaldehído (Elmalik y col, 1986), mezcla de formaldehído-metanol (Gómez-Ortíz, 1982), alcohol etílico al 70% y CaCl<sub>2</sub> al 3% (Colmenares de Ruíz y Bressani, 1990).

En la germinación de maíz el hipoclorito de sodio ha mostrado ser un adecuado inhibidor microbiano al disminuir considerablemente la carga microbiana de *Fusarium spp.*, *Epicaccumpurpurascena*, y *Bacillus spp.* (Ramakrishna y col, 1991). Este

agente es comúnmente utilizado para la desinfección de los granos de maíz, por su bajo costo y eficacia, existen reportes de su uso en concentraciones de 0.05 al 50%, y tiempos que van desde 3 a 60 min (Sitara y Akhter, 2007; Lwin y col, 2012; Sokrab y col, 2012).

#### **d Estrés osmótico**

La exposición de las semillas a concentraciones altas de cloruro de sodio (NaCl) u otros agentes osmóticos puede bloquear su habilidad germinativa al inducir cambios en actividades metabólicas asociadas a diferentes fases del proceso de germinación (Bewley, 1997; Garcarrubio y col, 1997). La respuesta de la germinación de semillas de maíz y crecimiento de plántulas a estrés hídrico es dependiente del genotipo, tamaño de la semilla, tipo y concentración de sal y el parámetro medido. Se ha evidenciado la presencia de diferencias genotípicas en la tolerancia a la salinidad durante la germinación. El potencial osmótico de -1.2 MPa causó una disminución de la germinación en Himeca 95 pero no en Pioneer 3031 (semilla certificada de los cultivares comerciales de maíz); en general, las reducciones en el potencial osmótico se debieron a las soluciones que causaron una disminución de todos los caracteres de las plántulas a excepción del peso de la radícula que fue mayor en el menor potencial osmótico. Fue posible significativamente discriminar, para la tolerancia al estrés hídrico en la etapa de germinación con potenciales osmóticos de -1.2 MPa, el cultivar Pioneer 3031 fue superior a Himeca 95 y en etapas tempranas del crecimiento (con potenciales osmóticos de -0.6 y -1.2 MPa), existe la ventaja en el empleo de semillas grandes, respecto a semillas más ligeras en peso (Layne-Garsaball y col, 2008).

Méndez-Natera y col (2010) evaluaron el efecto del potencial osmótico (PO), creado con manitol sobre la germinación y crecimiento de plántulas de tres híbridos de maíz. Se usó un diseño de bloques al azar en arreglo factorial con cuatro repeticiones. Se utilizaron los PO: 0, -3, -6, -9 y -12 bares. Las mayores reducciones ocurrieron a -12 bares: Germinación [Cargill-633: 95.84%, Himeca-2003: 88.29%, Pioneer-3013: 75.71%] y como promedio de los cultivares: Altura de plántula:

95.53%, Longitud radicular: 98.02%, Número de hojas/plántula: 75.71%. El peso del vástago y de la radícula fue severamente reducido a presiones osmóticas de -9 y -12 bares. Se sugiere el uso de presiones osmóticas de -6 bares creado con manitol para discriminar cultivares de maíz tolerantes a la sequía.

#### **4 Cambios durante la germinación**

La germinación es uno de los procesos más antiguos utilizados en todo el mundo para la obtención de alimentos, tiene efectos importantes sobre la composición química, valor nutricional y características de aceptabilidad de las semillas germinadas tanto de cereales como leguminosas (Colmenares de Ruiz y Bressani, 1990). Durante la germinación la semilla sufre biosíntesis, degradación y transporte de compuestos como carbohidratos, grasas y proteínas con la finalidad de nutrir a la plántula en desarrollo. La digestión de las reservas del embrión o endospermo da por resultado aminoácidos, nucleótidos, ácidos orgánicos y azúcares (Trejo-Flores, 1987). El proceso de germinación genera grandes cambios nutricionales comparados con la semilla sin germinar, debido a que mejora la calidad de las proteínas, mejora distribución de aminoácidos, alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, incrementa la biodisponibilidad de minerales y vitaminas (Vit B<sub>1</sub>), así como, disminución de factores antinutricionales (ácido fítico) e inhibidores de tripsina (**Cuadro 5**).

**Cuadro 5.** Contenido nutrimental de diversos granos crudos y germinados

Grano	Prot	Lípidos	Fibra	CHO	GABA Vit B1 Fenólico Ác.fitico			
					(mg/100g)			
<b>Arroz</b>	8.12	4.33	1.63	83.79	10.08	0.59	36.98	626.8
<b>Arroz germinado</b>	11.09	3.64	1.58	81.67	22.22	0.81	55.71	535.4
<b>Maíz</b>	11.02	4.90	2.48	75.85	7.65	1.07	21.68	878.8
<b>Maíz germinado</b>	15.48	4.20	2.30	33.18	17.89	1.31	40.14	397.4
<b>Soya</b>	33.77	25.41	2.56	32.15	4.97	0.58	43.76	461.8
<b>Soya Germinada</b>	40.93	19.74	2.49	28.05	15.83	0.79	52.48	445.0
<b>Ajonjolí</b>	22.77	41.83	1.82	28.05	5.40	0.36	41.5	645.7
<b>Ajonjolí germinado</b>	26.48	39.64	1.72	26.95	12.65	0.92	51.34	589.5

Vongsudin y col (2011)

## **a Composición química**

Los cambios sobre la composición química que ocurren durante este proceso dependen de la especie y las condiciones de germinación utilizadas (Colmenares y Bressani, 1990).

### **1) Proteínas**

La germinación induce cambios en la concentración y digestibilidad de la proteína de forma particular en cada tipo de grano, la germinación genera un incremento significativo en el contenido de proteína. También permite la transformación que se producen en los granos germinados que dependen de la acción complementaria de distintas enzimas como la citasa que actúa sobre la celulosa de la capa de células vacías, descompone y disuelve totalmente los nutrientes, la amilasa que facilita la digestión del almidón y la proteasa que nos ayuda a digerir las proteínas. Diversos investigadores han observado cambios en el almacenamiento de las proteínas durante la germinación de cereales. Moueium y col (1996) reportaron un incremento del 12% en el contenido de proteína total de granos de maíz que se remojaron en agua destilada a temperatura ambiente durante 8 h, posteriormente se germinaron (30°C / 72 h) y, finalmente, se secaron (50°C).

Argüello-Moncayo y Garzón-Carrera (2012) reportaron que la germinación de maíz morado (Remojo: 25°C/12 H, Germinación: 24°C/12 h) causó un incremento del 9.60% en el contenido de proteína, al compararse con maíz morado crudo.

### **2) Carbohidratos**

Algunos investigadores (Tsai y col, 1975; Malleshi y Desikacahr, 1982) han reportado que durante la germinación de cereales se observa un incremento en el contenido de azúcares libres y en la actividad de  $\alpha$ -amilasa y una disminución en el contenido de almidón. Rao y Muralikrishna (2004) reportaron que, en maíz germinado por 96 h, se observó un incremento en el contenido de polisacáridos solubles (de 0.60 a 3.36%) e insolubles (7-49 a 37.8%) en agua.

Zheng y col (2006) llevaron a cabo la germinación de cuatro variedades de arroz café utilizando temperatura / tiempo de germinación de 35°C/60 h; ellos evaluaron cada 12 h la composición de carbohidratos y la actividad enzimática. Los resultados obtenidos muestran un decremento en los contenidos de almidón, amilosa y amilopectina. Las actividades enzimáticas de las amilasas totales y de  $\alpha$ -amilasa se incrementaron en las primeras etapas y posteriormente disminuyeron.

Elkhalifa y Bernhardt (2010) observaron que durante las primeras horas de germinación no se sintetiza mucha  $\alpha$ -amilasa; sin embargo, a medida que el proceso de germinación avanza, y dependiendo de las condiciones, la cantidad de  $\alpha$ -amilasa o su síntesis generalmente aumenta progresivamente, más rápidamente, y conduce a la conversión creciente de almidón en glucosa.

Vongsudun y col (2011) reportaron una disminución en el porcentaje de carbohidatos totales del 78.85 % al 75.9 % en maíz germinado al compararse con grano sin germinar.

### **3) Fibra dietaria**

El proceso de germinación en cereales, como el arroz, aumenta el contenido de fibra dietaria. Ohtsubo y col (2005) reportaron incrementos, por efecto de la germinación (72 h), en los contenidos de fibra dietaria total (+145 %), fibra soluble (+120 %) y fibra insoluble (+150 %), en arroz integral germinado con respecto al grano sin germinar; esto se atribuye a la modificación de la estructura de los polisacáridos en la pared celular de las semillas, posiblemente al afectar a la integridad de la histología del tejido y alterando la interacción entre proteínas y carbohidratos, durante el bioproceso de germinación.

Sin embargo, los reportes sobre el efecto de la germinación sobre el contenido de fibra en maíz son escasos; se requieren más estudios para entender mejor su transformación durante la germinación. Vongsudin y col (2011) reportaron una disminución en la porción de fibra en la semilla de maíz (de 2.48% a 2.30%) por efecto de la germinación (**Cuadro 5**).



#### **4) Almidón**

El almidón es el principal componente de reserva en los cereales, este polisacárido es almacenado principalmente en el endospermo, donde es hidrolizado durante la germinación de semillas, para proveer azúcares solubles. La degradación del almidón es un proceso complejo que involucra actividad hormonal y metabólica (Ayernor y Ocloo, 2007). En general, los contenidos de almidón total, amilosa y amilopectina disminuyen gradualmente durante la germinación (Zheng y col, 2006; Prakash y col, 2007; Bash, 2015).

En granos de cereales, se sintetiza  $\alpha$ -amilasa durante la germinación, lo que contribuye en un alto grado a la hidrólisis del almidón. Este enzima aumenta la degradación de los gránulos insolubles de almidón y dextrinas. Prakash y col (2007) encontraron que durante la germinación (37°C/48-96 h) de maíz la actividad de la enzima  $\alpha$ -amilasa aumentó +505% a las 72 h de germinación.

Bash (2015) reportó un decremento (de 2.17 a 1.06%, bs) en el contenido de almidón en maíz blanco, al alcanzar las 192 h de germinación. Esto se atribuye a la serie de cambios metabólicos que se desarrollan en la semilla durante el proceso de germinación.

#### **5) Lípidos**

El contenido de lípidos durante el desarrollo de la semilla disminuye porque estos son degradados a ácidos grasos que son utilizados durante la  $\beta$ -oxidación para la síntesis de energía. La mayoría de estos cambios ocurren en el escutelo que es el depósito de grasa principal en la estructura de la semilla de maíz.

Vongsudin y col (2011) reportaron una disminución (de 4.90 a 4.29 g/100 g) en la porción de lípidos en la semilla de maíz germinado con respecto a la semilla sin germinar.

#### **6) Vitaminas y minerales**

Algunos investigadores (Dyke, 1918; Khan, 1942) demostraron que el consumo de maíz germinado tiene un efecto positivo en la prevención del escorbuto

(enfermedad caracterizada por **sangrado en encías**, articulaciones y uñas, en la que es frecuente el cansancio, irritabilidad y pérdida de apetito. Se debe a la **carencia de vitamina C** o ácido ascórbico, sustancia que permite que el organismo produzca colágeno).

El maíz germinado posee niveles mayores de caroteno y de Niacina y Riboflavina que las semillas sin germinar (Chattopadhyay Banerjee, 1951; Chavan y Kadam, 1989).

Vongsudin y col (2011) reportaron un incremento (de 1.07 a 1.31 mg/ 100 g) en el contenido de vitamina B<sub>1</sub> como consecuencia de la germinación de maíz.

Sokrab y col (2012) germinaron (32-38°C /144 h) dos variedades de maíz (de alto y bajo contenido de fitatos) y observaron un aumento en el contenido de algunos minerales [**Na**: de 13.27 a 15.98 y de 10.80 a 12 mg / 100 g; **K**: de 206.17 a 216.15 y de 125 a 134.53 mg/100 g; **Mg**: de 51.67 a 56.33 y de 43.33 a 44.30 mg / 100 g; **Ca**: de 74.5 a 75.4 y 69.67 a 67.6 mg/100g, **P**: de 92.33 a 94.96 y de 178.70 a 175 mg/100g, **Fe**: de 1.95 a 5.13 y de 4.57 a 6.34 mg/100g; **Zn**: de 1.25 a 2.0 y de 1.19 a 1.76 mg/100g, **Mn**: de 0.68 a 1.17 y de 0.64 a 0.86 mg/100g, **Cu**: de 0.12 a 0.55 y de 0.18 a 0.23 mg/100g; **Co**: de 0.7 a 1.61 y de 0.5 a 0.91 mg/100g].

## **b Valor nutricional**

La germinación es una tecnología de procesamiento de granos de costo bajo, muy útil para incrementar el valor nutritivo de las semillas; con este bioprocesamiento es posible incrementar la digestibilidad proteínica y del almidón, el contenido de algunas vitaminas (ácido Ascórbico, Riboflavina, Niacina); además, puede reducir / eliminar los niveles de factores antinutricionales (Chitra y col, 1996; Czukur y col, 2000; Vidal-Valverde y col, 2002).

### **1) Aminoácidos esenciales**

El maíz forma parte fundamental de la dieta de todos los mexicanos; este cereal posee un contenido alto de carbohidratos, utilizados fuente de energía; sin embargo

la calidad de sus proteínas es bajo por ser deficitarias en Lys y Trp, aminoácidos esenciales (Paredes-López y col, 2006). La germinación es una alternativa para incrementar la calidad de las proteínas de los cereales. Durante la germinación las proteínas son hidrolizadas, por acción de las proteasas; esos cambios afectan el valor nutricional. El proceso de germinación mejora la digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV) del grano de maíz (Wang y Campos, 1978). Fageer y col (2004) germinaron granos de maíz para su posterior malteado; observaron incrementos en DPIV de 9, 17 y 27% a los dos, cuatro y seis días de germinación, respectivamente.

Esperón-Rojas y Monroy-Rivera (2011) llevaron a cabo un estudio sobre el efecto de la germinación sobre los niveles de Lys y Trp de tres variedades de maíz (VS-536, H-512 y H-530); observaron un incremento en las concentraciones de Lys de +200%, +45% y +48% para las variedades VS-536, H-512 y H-530, respectivamente. Los niveles de Trp también se incrementaron en todas las variedades: H-530 (118%), VS-536 (+43%) y H-512 (+32%). Estos cambios en los contenidos de Lys y Trp tienen un efecto benéfico sobre la calidad proteínica del grano de maíz, mejorándola ostensiblemente.

## **c Perfiles y niveles de fitoquímicos**

### **1) Compuestos fenólicos**

Durante la germinación de cereales se producen enzimas que rompen la pared celular liberando sus componentes, entre ellos son liberados diversos compuestos fenólicos libres y ligados, lo cual se refleja en un aumento en el contenido de compuestos fenólicos totales (Kaukovirta-Norja y col, 2004).

Nava-Arenas y col (2008) germinaron (25°C/96 h) maíz azul y observaron un aumento (+154-160 %) en el contenido de compuestos fenólicos totales después de la germinación; además, cuantificaron un incremento (+43%) en el contenido de antocianinas. Ellos concluyeron que el proceso de germinación de maíz azul es una estrategia adecuada para incrementar el contenido de compuestos fenólicos totales, antocianinas y actividad antioxidante en el grano. Un comportamiento

similar fue reportado por Vongsudin y col, (2011) durante la germinación de granos de maíz; observaron un incremento (+45.98%) en el contenido de compuestos fenólicos (de 21.68 a 40.14 mg/100 g). Sokrab y col (2012) reportaron un incremento en el contenido de compuestos fenólicos de 33-138% tras la germinación de dos variedades de maíz.

#### **d Propiedades nutracéuticas**

##### **1) Actividad antioxidante**

Durante la germinación de cereales se han reportado incrementos en los contenidos de compuestos fenólicos y ácido aminobutírico (GABA, por sus siglas en inglés), los cuales poseen potencial antioxidante alto; esto potencializa la actividad antioxidante de las semillas germinadas. Randhir y Shetty (2005) estudiaron el efecto de la germinación en obscuridad del maíz dulce sobre el contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante; encontraron que a través de la vía del fenilpropanoide, estimulada durante la germinación oscura del maíz, se incrementó el contenido de compuestos fenólicos totales. También detectaron un incremento (81%) en la actividad antioxidante, evaluada por DPPH, después de ocho días de germinación.

Nava-Arenas y col (2008), en estudios de optimización sobre condiciones de germinación de maíz azuel, observaron incrementos en contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante (DPPH, +56%) como consecuencia de la germinación. Otros investigadores han reportado incrementos en actividad antioxidante, por efecto de la germinación, en granos como trigo, haba, lupino y amaranto (Yang y col, 2001; Shetty y col, 2003; Fernández-Orozco y col, 2006; Perales-Sánchez y col, 2014).

En contraste en el estudio realizado por Polthum y Ahromrit, (2014), el maíz morado germinado mostraron actividad antioxidante menor respecto al grano crudo reportando valores de ABTS y DPPH de  $388.32 \pm 0.53$  y  $140.29 \pm 0.57$  mg Trolox/100g bs, respectivamente, mientras en el germinado se obtuvieron valores

de  $183.69 \pm 1.75$  y  $38.43 \pm 1.64$  mg Trolox/100g bs, esto se lo atribuyen a la solubilidad y sensibilidad al calor de las antocianinas.

## **2) Actividad anticarcinogénica**

La prevención es una estrategia efectiva en el tratamiento de enfermedades crónicas. Los alimentos funcionales que contienen cantidades significativas de fitoquímicos pueden proveer beneficios a la salud (Lui, 2003). Uno de los productos de la hidrólisis del glucosinolato glucorafanina es el sulforafano, este compuesto se encuentra en altas concentraciones en los germinados, y es de gran interés debido a que posee propiedades antimicrobianas, quimiopreventivas y anticarcinogénicas.

Oh y Oh (2004) probaron diferentes extractos de arroz integral germinado en las líneas celulares L1210 de leucemia en ratones, células de la leucemia linfoblástica aguda Molt4 humanas y células de cáncer cervical humanas; ellos reportaron que los extractos con mayores niveles de ácido gamabutírico (GABA, por sus siglas en inglés) tienen una acción inhibitoria sobre leucemia y proliferación celular y tienen una acción estimulante sobre la apoptosis de las células del cáncer.

## **3) Otras propiedades**

Patiño y col (1998) suministraron 30 mL / día de “jugo” de germinado de maíz a nueve adultos que presentaban hipertrigliceridemia como trastorno principal. Los niveles promedio iniciales de estos pacientes en ácido úrico, triglicéridos y colesterol total fueron de 6.9, 259 y 199 mg/dL, respectivamente. A los 60 días de tratamiento los niveles de esos factores fueron de 5.0, 171 y 169, respectivamente. Estos investigadores concluyeron que el consumo de germinado de maíz, en dosis apropiadas, podría ser un tratamiento para la regulación de los lípidos sanguíneos y otros factores biológicos de riesgo para el desarrollo de ateromatosis coronaria, sin los efectos secundarios indeseables que trae como consecuencia el consumo de algunos medicamentos hipolipemiantes.

Diferentes alteraciones en el cerebro pueden ser causadas por un nivel muy bajo de GABA en el mismo; este fenómeno se ha observado en pacientes con la

enfermedad de Alzheimer's. Una dosis oral diaria de germinado de arroz (contiene 26.4 mg de GABA) es efectiva para el tratamiento de este tipo de desordenes neuronales (Okada y col, 2000; Seidi y col, 2000). Otros investigadores (Imam y col, 2014) han reportado que el compuesto bioactivo GABA tiene efectos antiobesidad.

#### **IV JUSTIFICACIÓN**

México posee una gran diversidad de recursos genéticos con 59 razas de maíces (*Zea mays* L). En el Altiplano de la Meseta Central prevalecen algunos maíces

nativos (rojo, azul, amarillo) de las razas Chalqueño, Bolita y Cónico. En Sinaloa, México, en recolecciones recientes (más de 300 accesiones) han sido identificadas y clasificadas en 13 razas (Tabloncillo y Elotero de Sinaloa son las razas distintivas). Los granos de maíz azul mexicano han sido pobremente evaluados en relación a su potencial como alimento/ingrediente funcionales. El maíz azul posee compuestos fitoquímicos conocidos como nutraceuticos, con probados efectos positivos en nutrición y salud, como: fibra dietaria (soluble e insoluble), compuestos fenolicos [Ácidos fenolicos (ácido Ferúlico, p-Cumárico), antocianinas], carotenoides, xantofilas, ácidos grasos omega 6, fitoesteroles, policosanoles, ácido aminobutírico (GABA, por sus siglas en inglés) y micronutrientes como tocoferoles y tocotrienoles, fosfolípidos que proveen colina e inositol, vitaminas con propiedades nutraceuticas como el ácido Fólico, Tiamina y Niacina. El común denominador de la mayoría de los nutraceuticos es su actividad antioxidante que contrarresta los radicales libres responsables de causar la oxidación de membranas y daño al ácido desoxirribonucleico (ADN), lo que promueve enfermedades como cáncer, fibrosis, problemas cardiovasculares y envejecimiento. El procesamiento del maíz afecta significativamente la cantidad y biodisponibilidad de estos compuestos.

La germinación ha sido sugerida como una forma barata y eficaz para mejorar la calidad nutricional y nutraceutica de cereales, pseudocereales y leguminosas. Durante este proceso biotecnológico, se generan compuestos con actividad antioxidante, principalmente polifenoles y flavonoides, que proporcionan protección contra el daño oxidativo.

El objetivo de la presente investigación fue encontrar las mejores condiciones de germinación de grano de maíz azul para maximizar su actividad antioxidante, contenidos de compuestos fenolicos totales y antocianinas y porcentaje de proteínas para la obtención de una harina funcional de maíz azul bioprocesado.

## **V HIPÓTESIS**

Si se optimizan adecuadamente las condiciones de germinación (temperatura / tiempo de germinación) de granos de maíz (*Zea mays* L) azul es posible obtener una harina de maíz azul bioprocesada optimizada (HMABO) con valores de

actividad antioxidante y contenidos de compuestos fenólicos, antocianinas y proteínas mayores que los del grano sin procesar.

## **VI OBJETIVOS**

### **A OBJETIVO GENERAL**

Encontrar la mejor combinación de temperatura y tiempo de germinación para obtener una harina de maíz (*Zea mays* L.) azul bioprocesada optimizada (HMABO) con valores de actividad antioxidante y contenidos de compuestos fenólicos totales, antocianinas y proteínas mayores que los del grano sin procesar.



## **B OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1 Conocer la mejor combinación de variables de bioproceso de germinación (temperatura / tiempo de germinación), aplicando la metodología de superficie de respuesta como herramienta de optimización, para la obtención de harina de maíz azul bioprocesada optimizada (HMABO)
- 2 Determinar la composición química y propiedades fisicoquímicas de la HMABO
- 3 Cuantificar los contenidos de compuestos fenólicos totales (CFT) y antocianinas (Ant) en HMABO
- 4 Evaluar la actividad antioxidante en HMABO

## **VI MATERIALES Y MÉTODOS**

### **A MATERIALES**

Se utilizó maíz (*Zea mays* L) criollo azul sembrado, bajo condiciones de riego controlado, en el Valle de Culiacán, Sinaloa, México. El maíz se cosechó (julio 2013), limpió y almacenó (4°C) en recipientes herméticos hasta su utilización.

## **B MÉTODOS**

### **1 Características físicas de los granos de maíz azul**

#### **a Dimensiones (largo, ancho, grosor)**

Se midió la longitud, anchura y grosor, utilizando un vernier Scala modelo UNOX (Metro Mex, S.A. México, DF). Las mediciones se realizaron en 25 semillas de maíz azul seleccionadas al azar. Las evaluaciones llevaron a cabo por triplicado (Milán-Carrillo y col, 2002).

#### **b Peso de 1000 granos**

Se evaluó pesando 1,000 granos, tomados al azar de un lote de semillas limpias, en una balanza OHAUS (Mod TP2KS, SeedburoEquipment, Co., EUA). La prueba se realizó por triplicado.

#### **c Peso hectolítrico**

Se utilizó el procedimiento 55-10 de la AACC (1995) utilizando una microescala. Un recipiente de volumen conocido (1 L) se llenó de granos y se pesó en una balanza analítica. El peso hectolítrico se obtuvo al dividir el peso de los granos entre el volumen del recipiente y relacionándolo a un volumen de 100 L (kg/hL). Se reportó el promedio de 10 repeticiones.

### **2 Composición química de los granos de maíz azul**

#### **a Humedad**

Se determinó acorde al método 925.098, de la AOAC (1999). Se calculó la pérdida de peso de 2g de muestra, después de calentar a 130°C por cuatro horas en una estufa con circulación de aire forzada (FELISA mod 142<sup>a</sup>, México). La prueba se realizó por triplicado.

### **b Proteína cruda**

Se utilizó el método 960.52, microKjeldahl, de la AOAC (1999). Se empleó Sistema Kjelttec (Mod 1009 y 1002, Tecator, Suecia). Se digirieron 0.2 g de muestra con 5 mL de ácido sulfúrico y 1.62 g de catalizador (Sulfato de potasio y sulfato de cobre) a una temperatura de 400°C. Después de la digestión la muestra se diluyó en 10 mL de agua destialda, posteriormene se neutralizó con una disolución de NaOH 40% y se destiló. El destilado se recuperó en una solución de ácido Bórico al 4% con rojo de metilo como indicador. La titulación se llevó a cabo con una disolución valorada en HCl 0.1 N. El contenido de proteína cruda se calculó multiplicando por 6.25 el contenido de nitrógeno total. La prueba se realizó por triplicado.

### **c Grasa cruda**

Se determinó de acuerdo al método 920.39 de la AOAC (1999). Las extracciones se realizaron en muestras de 2-3 g. Se utilizó un equipo Soxtec System HT 1043 Extraction Unit (Tecator, Suecia) a 70°C durante 4 h; como solvente se empleó éter de petróleo. La prueba se efectuó por triplicado.

### **d Minerales**

Se utilizó el método 934.01 de la AOAC (1999). Se pesaron 3- 5 g de muestra, se colocaron en un crisol de porcelana y se sometió a incineración en una mufla aproximadamente a 550°C. La muestra incinerada se enfrió en un desecador, se atemperaró (25°C), para posteriormente pesarse. La prueba se realizó por triplicado.

### **e Carbohidratos**

El porcentaje de carbohidratos se calculó por diferencia de 100, tomando en consideración, los porcentajes de proteína, grasa cruda (lípidos) y minerales (cenizas).

#### **f Fibra dietaria total (FDT)**

Se determinó de acuerdo al método oficial 985.29 (AOAC, 1999). Se empleó un kit de análisis de fibra dietaria total (TDF-100, Sigma). Un gramo de muestra seca se gelatinizó en presencia de  $\alpha$ -amilasa termoestable, posteriormente se llevó a cabo digestión enzimática con proteasa y amiloglucosidasa para degradar las proteínas y almidón presentes en la muestra. Se precipitó la fibra adicionando cuatro volúmenes de etanol. El residuo total se filtró y lavó con etanol al 78%, etanol al 96% y acetona. Posteriormente el residuo se secó (70°C/12 h), se registró el peso, se determinó el contenido de proteína y cenizas del residuo. El contenido de fibra dietaria total (FDT) se calculó empleando la siguiente fórmula:

$$\text{FDT} = [(\text{Peso del residuo} - \text{P} - \text{A}) / (\text{Peso de la muestra})] \times 100$$

Donde:

**Peso del residuo** = Peso promedio de los pesos (mg) de los residuos de las muestras;

**P** = Peso (mg) de proteína de los residuos

**A** = Peso (mg) de cenizas de los residuos

**Peso de la muestra** = Peso promedio de los pesos (mg) de las muestras crudas

### **3 Propiedades fisicoquímicas de harina de maíz azul**

#### **a Color**

Se utilizó la metodología reportada por Reyes-Moreno y col (2003). Se empleó un Colorímetro Minolta Chroma-meter mod CR-210 (Minolta LTD, Japón). La determinación de color se basa en el efecto triestímulo, donde “L” mide la brillantez y varía de 100 para un blanco perfecto a cero para negro. Las dimensiones de cromaticidad son dadas por los parámetros “a” y “b”. El valor positivo de “a” está asociado al color rojo y el negativo con el verde. El valor positivo de “b” está asociado al color amarillo y el negativo con el azul. Para la evaluación del color se utilizó aproximadamente 100 g de muestra, la cual se colocó en una caja petri de vidrio Kimax de 15 cm de diámetro y se midió los parámetros correspondientes “L”,

“a” y “b”. Se usó un mosaico blanco como referencia (estándar) de valores “L”, “a” y “b” conocidos (L=97.63, a=-0.78 y b=2.85). La diferencia total de color ( $\Delta E$ ) de la muestra se calculó con la ecuación:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

Donde:

$\Delta E$  = Diferencia total de color entre el estándar y la muestra

$\Delta L$ ,  $\Delta a$  y  $\Delta b$  = Diferencias absolutas de los valores de “L”, “a” y “b” del estándar utilizado y los valores correspondientes observados en la muestra.

### **b Actividad de agua ( $a_w$ )**

Para su determinación se utilizó un equipo marca Aqualab mod CX2 (Decagon Devices Inc, Pullman, WA, EUA). Una muestra de aproximadamente 2 g se colocó en la celda portamuestras del equipo hasta que alcanzó el equilibrio (40-60 min). El instrumento se calibró con una disolución saturada de cloruro de potasio ( $a_w = 0.876$ ). Las mediciones se realizaron por triplicado a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  (Milán-Carrillo y col, 2002).

### **c pH**

Se determinó de acuerdo al método 02-52, AOAC (1999). Se preparó una suspensión con 10 g de harina y 100 mL de agua destilada a  $25^\circ\text{C}$ , hervida recientemente, se agitó por 10 min a velocidad moderada. Posteriormente, en agitación se introdujo un electrodo para medir el pH. La determinación se realizó por triplicado.

### **d Densidad aparente**

Se determinó de acuerdo a la norma oficial mexicana NMX-FF-034/1-SCFI-2002 (NOM, 2007). En una probeta graduada, con ayuda de un embudo se agregó harina hasta alcanzar un volumen de 100 ml; posteriormente se dieron 5 golpes suaves para propiciar el acomodo de las partículas; se midió el volumen de la harina y su peso correspondiente. La prueba se realizó por triplicado.

#### **e Índices de solubilidad y absorción en/de agua (ISA, IAA)**

Se utilizó el método descrito por Anderson y col (1969). El **IAA** se calculó como gramos de gel formados por gramo de muestra seca después de la centrifugación (3000 x g/ 30°C/10 min) de una suspensión de harina (2.5 g de harina/30 mL de agua). El **ISA** se evaluó pesando los sólidos obtenidos después de evaporar en una estufa el sobrenadante de las muestras. Se expresó como el porcentaje de sólidos secos en 2.5 g de muestra. Las pruebas se realizaron por triplicado.

#### **f Índice de absorción de aceite**

Se determinó de acuerdo a la metodología reportada por Lin y col (1974) y Ordorica-Falomir (1988). Muestras de 0.5 g de harina con 3 mL de aceite vegetal se colocaron en un tubo graduado para centrífuga, se agitaron durante 1 min en un vortex y se dejaron reposar durante 30 min. Finalmente, se centrifugaron a 1600 x g por 25 min. Se midió el volumen de aceite libre. La cantidad de aceite absorbido se calculó restando el volumen de aceite libre al volumen del aceite inicial y se expresó como mL de aceite absorbido/g de harina. La prueba se realizó por triplicado.

#### **g Índice de dispersabilidad**

Se cuantificó acorde a Mora-Escobedo y col (1994). 1 g de harina se suspendió con 10 mL de agua destilada en un tubo cónico graduado. Las muestras se homogenizaron en un Ultra Turrax (10, 000 rpm x 5 min). La separación de las fases se midió después de 30 min de reposo.

#### **h Formación y estabilidad de espuma**

Se determinó mediante la metodología de Hauffman y col (1975), con ligeras modificaciones. En una probeta de 100 mL se agregaron 0.5 g y 50 mL de agua destilada, se agitaron en homogeneizador Ultraturax durante 1 min a 12,000 rpm, posteriormente se midió el volumen de espuma formado. La capacidad de formación

de espuma se reportó como porcentaje (**% CFE**) se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ CFE} = [(\text{Vol después agitación}-\text{Vol antes agitación})/(\text{Vol antes agitación})] \times 100$$

Para la determinación de la estabilidad de espuma, la muestra anterior se dejó reposar durante 30 min, se midió el volumen de espuma residual y la estabilidad de la espuma se expresó como porcentaje de estabilidad de espuma (**% EE**) mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ EE} = [(\text{Vol espuma después reposo})/(\text{Vol total de la espuma})] \times 100$$

#### **i Actividad y estabilidad de emulsión**

Se utilizó la metodología reportada por Hauffman y col (1975) con ligeras modificaciones. Se colocaron, en un tubo para centrifuga de 50 mL, 0.7 g de muestra y se disolvieron con 10 mL de Buffer de fosfatos, se adicionaron 10 mL de aceite vegetal, se agitaron en homogeneizador Ultraturrax a 12,000 rpm durante 1 min, y se centrifugó (1,300xg/25°C/5 min). El volumen de emulsión formada se determinó relacionando la capa emulsificada y el volumen total, se reportó como porcentaje de actividad de emulsión (**% AE**).

La estabilidad de emulsión se determinó usando los mismos tubos utilizados en la determinación de **%AE**. Los tubos se trataron térmicamente en un baño María (80°C/30 min), enfriaron y centrifugaron (1300xg/25°C/ 5 min). Se midió el volumen de emulsión y el porcentaje de estabilidad de emulsión (**% EEm**) se expresó como porcentaje de emulsión retenida después del tratamiento térmico. Las pruebas se realizaron por triplicado.

#### **4 Actividad antioxidante (AAox), contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) y antocianinas (Ant) en harinas de maíz azul**

##### **a Obtención de los extractos**

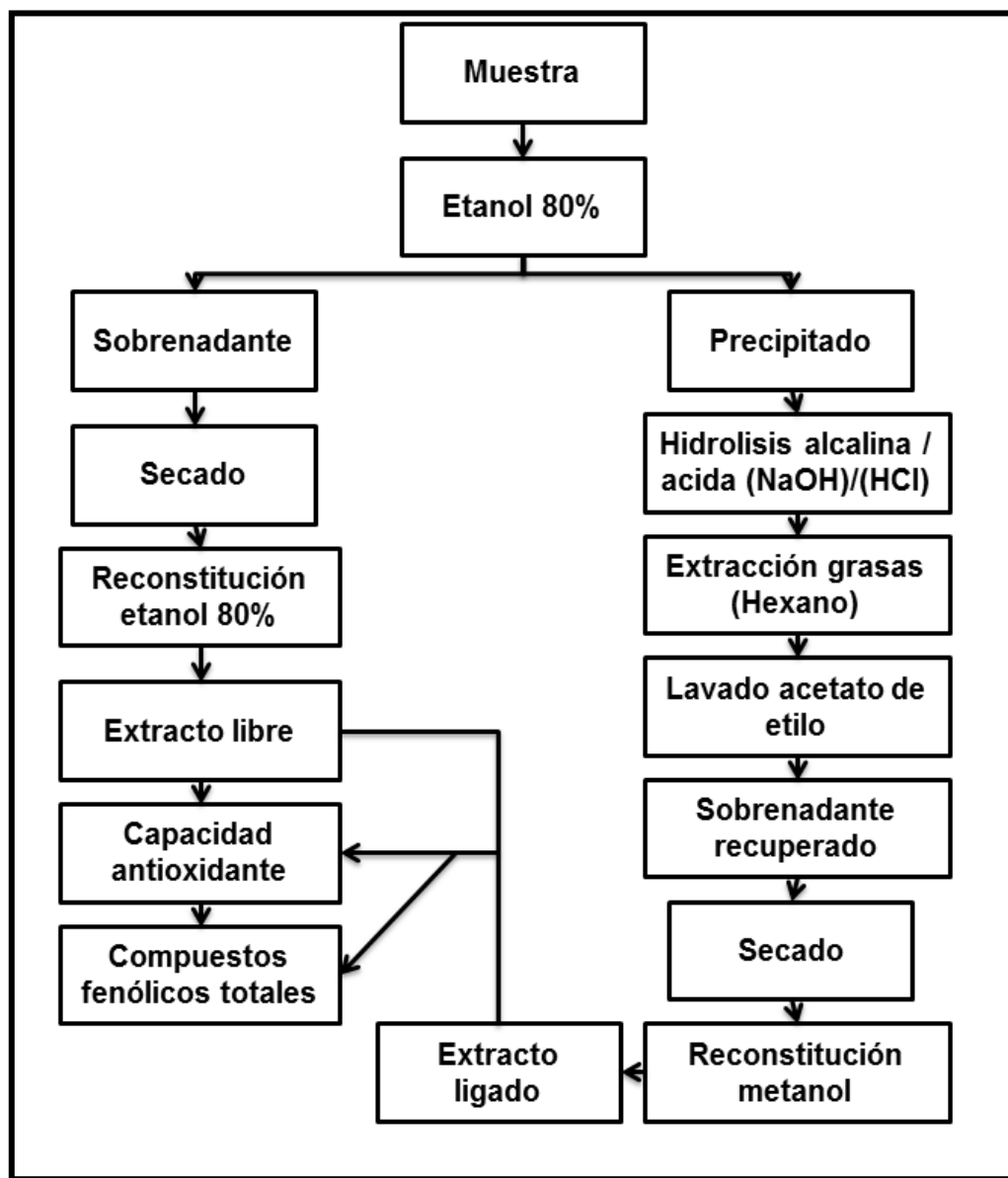
###### **1) Extractos de fitoquímicos libres**

La extracción de fitoquímicos libres se realizó con el método descrito por Adom y Liu, (2002) (**Fig 8**). Porciones de 0.5 g de cada muestra se adicionaron con 10 mL de etanol al 80% (v/v) y se agitaron a 25 rpm / 10 min (Rotador OVAN Noria R, EUA). Posteriormente se centrifugaron (3000xg/10°C/10min), se colectó el sobrenadante y se concentró a 35°C a baja presión (Speed Vac Concentrator, Thermo Electron Corporation) hasta un volumen final de 2 mL. La muestra concentrada se almacenó a -20°C hasta su utilización.

###### **2) Extractos de fitoquímicos ligados**

Los fitoquímicos ligados se extrajeron acorde a Adom y Liu (2002), con modificaciones menores. Se utilizó el precipitado obtenido de la extracción de fitoquímicos libres, primero se realizó una hidrólisis alcalina con 10 mL de hidróxido de sodio 2M, se eliminó el O<sub>2</sub> en presencia de gas nitrógeno y la muestra se sometió a un tratamiento térmico (95°C /30 min). Posteriormente, las muestras se sometieron a agitación durante una hora (temperatura ambiente). La muestra se neutralizó con 2 mL de ácido clorhídrico concentrado, se agitó por 2 min y se agregaron 10 mL de hexano para remover los lípidos presentes, después se centrifugó a 3000xg por 10 min, se eliminó el hexano. Al precipitado obtenido se le realizaron lavados con 10 mL de acetato de etilo, se agitó por 2 min y se centrifugó. Se realizaron cinco lavados. Se colectaron los sobrenadantes; el colectado se evaporó a sequedad (Speed Vac Concentrator, Thermo Electron Corporation). Los fitoquímicos ligados se reconstituyeron con 2 mL de metanol puro y se almacenaron (-20°C) hasta su utilización.





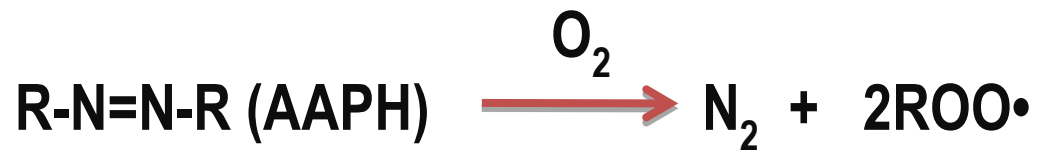
**Fig 8.** Diagrama de flujo para la obtención de fitoquímicos libres y ligados para la determinación de actividad antioxidante y compuestos fenólicos totales  
Adom y Liu (2002)

## **b Determinación de la actividad antioxidante**

### **1) Método ORAC**

La medición de la capacidad antioxidante se llevó a cabo por el método de capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés) desarrollado para compuestos hidrofílicos (**Fig 9**) (Cao y col, 1995; Ou y col, 2001; Wu y col, 2004). La degradación del compuesto 2,2'-Azobis(2-amidinopropano) (AAPH) produce radicales peróxido ( $\text{ROO}^\bullet$ ), los cuales oxidan al compuesto fluorescente, diclorofluoresceína (DCFH) al compuesto no fluorescente, diclorofluorescina (DCF). El grado de inhibición de los antioxidantes (fitoquímicos) de atrapar a los radicales libres se utilizó como base para calcular la capacidad antioxidante.

La solución de AAPH se preparó pesando 0.207g del reactivo y se aforó en un matraz volumétrico de 5 mL con un buffer de fosfato (pH 7.4). La fluoresceína se preparó una concentración de 0.1 mM con solución reguladora de fosfato (pH 7.4). Para la medición se diluyeron los extractos de fitoquímicos libres y ligados usando solución reguladora de fosfato (pH 7.4), se depositó 25  $\mu\text{L}$  de cada extracto a una placa de 96 celdas. La placa se analizó con un lector de microplatos (Synergy HT, Biotek Instrument) del espectrofotómetro fluorescente, por medio del equipo se agregaron 150  $\mu\text{L}$  de fluoresceína a cada celda del microplato, la solución se mezcló agitando a 1,200 rpm por 20 seg. La reacción se inició agregando 25  $\mu\text{L}$  de AAPH por medio del autodispensador del equipo previamente programado. Las muestras y el control se analizaron por cuadruplicado. La reacción se llevó a 37°C y la fluorescencia fue medida a 485 nm de excitación y 538 nm de emisión, por un lapso de 40 min, la reacción con los radicales peróxidos generó la pérdida de la fluorescencia con el tiempo. El efecto de un antioxidante se integró como el área neta bajo la curva sobre la pérdida de la fluorescencia (AUC) [ $\text{AUC}_{\text{AOX}} - \text{AUC}_{\text{no AOX}}$ ]. Los valores ORAC se reportaron como equivalentes de Trolox. Se generó un curva estándar de cinco puntos (concentración de 25 a 100  $\mu\text{M}$ ), y los



**Fig 9.** Mecanismo de acción propuesto para el método ORAC para evaluar actividad antioxidante Prior y col (2005).

Trolox equivalentes de la muestra se calcularon usando la siguiente ecuación lineal o cuadrática ( $Y = a + bX$ , lineal; o  $Y = a + bX + cX^2$ , cuadrática) entre la concentración de Trolox (Y) ( $\mu\text{M}$ ) y el área neta bajo la curva de la disminución de la fluoresceína (X) ( $\text{ABC}_{\text{muestra}} - \text{ABC}_{\text{blanco}}$ ). La regresión lineal se utilizó en un rango de 100-25  $\mu\text{M}$  de Trolox. Los datos se expresaron como equivalentes de Trolox en micromoles (TE) por 100 g (bs) de muestra ( $\mu\text{mol}$  de TE/ 100 g, bs) (Ou y col, 2001; Prior y col, 2005).

## 2) Método ABTS

La actividad antioxidante de los extractos de fitoquímicos libres y ligados de las muestras se estimó en términos de la actividad captadora de radicales libres mediante el ensayo de decoloración del catión radical ABTS propuesto por Re y col (1999). Esta metodología se basa en la reducción del radical ABTS\*\* por los antioxidantes presentes en los extractos evaluados. El compuesto ABTS se disolvió en agua desionizada a una 7mM. Se generó una solución madre del catión radical ABTS\*\* mediante la reacción de la solución de ABTS con persulfato de potasio 2.45 mM (concentración final) y dejando reposar la mezcla en la oscuridad durante 16 h antes de su uso. Una alícuota de la solución con el radical ABTS\*\* se diluyó en PBS hasta alcanzar una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  a 734 nm. Se transfirieron 20  $\mu\text{L}$  del blanco y los extractos en una celda de cuarzo, el ensayo inició cuando se adicionaron 1980  $\mu\text{L}$  de la solución ABTS\*\*. Se registró la absorbancia a 734 nm 15 minutos después de haber iniciado el ensayo y se calculó la pérdida de absorbancia del ABTS\*\* respecto a un blanco. Se utilizó una curva de calibración con Trolox y los datos se expresaron como  $\mu\text{mol}$  equivalente de Trolox por 100 g de muestra en base seca ( $\mu\text{mol}$  de ET/100 g, bs).

## 3) Método DPPH

La actividad antiradical DPPH de los extractos de harinas se determinó mediante el procedimiento descrito por Brand-Williams y col (1995) modificado por Fukumoto y Mazza (2000) para microplaca de 96 pozos. El método de DPPH se utiliza para

determinar la capacidad de los antioxidantes presentes en una muestra para donar hidrógenos y/o electrones para eliminar los radicales DPPH (2,2-dienil-1-picrahidrazil) al crear la forma no radical DPPH-H. Cuando el radical libre es capturado, el color de la solución de DPPH cambia de un color morado oscuro a un amarillo brillante y la absorbancia a 520 nm disminuye (Brand-Williams y col, 1995).

Se preparó una solución DPPH (150  $\mu$ M), después de 30 min de incubación a temperatura ambiente se midió la absorbancia en un lector de microplaca (Synergy<sup>TM</sup> HY Multi-Detection, BioTek, Inc., Winooski, VT, EUA) a 520 nm. Se utilizó como estándar una curva de Trolox (TE) por 100 g de muestra en base seca ( $\mu$ mol de TE/100 g, bs).

### **c Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT)**

Para la determinación del contenido de CFT en los extractos se utilizó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton y col (1999), utilizando como estándar una curva de ácido gálico. Se mezclaron 50  $\mu$ L de los extractos fenólicos, 3 mL de agua destilada, 250  $\mu$ L del de una solución del reactivo Folin-Ciocalteu y 750  $\mu$ L de NaCO<sub>2</sub> al 7%; la mezcla se agitó con ayuda de un vortex y se dejó incubar por 8 min a temperatura ambiente. Posteriormente se agregaron 950  $\mu$ L de agua destilada. La mezcla se dejó en reposo en la obscuridad por 90 min a temperatura ambiente. Finalmente se midió la absorbancia a 765 nm contra un blanco de etanol. El contenido de compuestos fenólicos totales se expresó como equivalentes de ácido gálico (mg EAG/ g de muestra).

### **d Contenido de antocianinas (Ant)**

El contenido de Ant se evaluó de acuerdo a Abdel-Aal y Hucl (1999). Se pesó 1 g de muestra el cual se homogenizó en 10 mL de una solución de metanol acidificado (95 % metanol y 1 N de HCl 85:15, v/v) en un tubo de centrifuga de 10 mL. Al tubo con la muestra se le inyectó nitrógeno gas para eliminar el O<sub>2</sub>, se agitó por 30 min y posteriormente se centrifugó (30,000xg / 4 °C /10 min) (Sorvall RCSC,

Sorvall Instruments, Dupont, Wilmington, DE, EUA); se recolectó el sobrenadante. La absorbancia de los extractos se leyó a 353 nm y 700 nm en un lector de microplacas (Synergy™ HY Multi—detection, DioTek, Inc., Winooski, VT, EUA). El contenido de antocianinas se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Ant} = [(A_{535\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) / (\epsilon)] \times [\text{Vol total del extracto}] \times (\text{PM}) \times [1 / (\text{Peso de la muestra})]$$

Donde:

**Ant** = Concentración total antocianinas (mg de Cianidina 3-Glucósido/ g muestra)

**A** = Absorbancia

**ε** = Absorción molar de Cianidina 3-Glucósido = 25,965/cm/M)

**PM** = Peso molecular de Cianidina 3-Glucósido (449.2g)

## **5 Optimización del bioproceso de germinación del grano de maíz azul para conocer la mejor combinación de temperatura / tiempo de germinación para producir harina de maíz azul bioprocesado optimizada (HMABO)**

### **a Diseño experimental**

Para obtener la mejor combinación de temperatura / tiempo de germinación para producir harina de maíz azul bioprocesada optimizada (**HMABO**) con valores máximos de actividad antioxidante (**AAox**) y contenidos de compuestos fenólicos totales (**CFT**), antocianinas (**Ant**) y proteínas (**% P**) se utilizó, como herramienta de optimización, la metodología de superficie de respuesta (Montgomery, 1991). Se aplicó un diseño experimental de composición central rotatable con dos factores [Temperatura de germinación (**TG**=20-40°C) / tiempo de germinación (**tG**=12-220 h)] y cinco niveles. El diseño experimental generó 13 tratamientos (4 factoriales, 4 axiales, y 5 centrales). Como variables de respuesta se seleccionaron **AAox**, **CFT**, **Ant**, **% P**. Se optimizó para encontrar máximos valores de cada una de ellas (**Cuadro 6**).

**Cuadro 6.** Diseño experimental<sup>1</sup> empleado para obtener diferentes combinaciones de temperatura y tiempo de germinación (**TG**, **tG**) para la producción de harinas de maíz azul bioprocesado

Variables de proceso			Variables de respuesta <sup>3</sup>			
Trat <sup>2</sup>	TG	tG	AAox	CFT	Ant	% P
1	22.9	42.5	¿?	¿?	¿?	¿?
2	37.1	42.5	¿?	¿?	¿?	¿?
3	22.9	189.5	¿?	¿?	¿?	¿?
4	37.1	189.5	¿?	¿?	¿?	¿?
5	20.0	116.0	¿?	¿?	¿?	¿?
6	40.0	116.0	¿?	¿?	¿?	¿?
7	30.0	12.0	¿?	¿?	¿?	¿?
8	30.0	220.0	¿?	¿?	¿?	¿?
9	30.0	116.0	¿?	¿?	¿?	¿?
10	30.0	116.0	¿?	¿?	¿?	¿?
11	30.0	116.0	¿?	¿?	¿?	¿?
12	30.0	116.0	¿?	¿?	¿?	¿?
13	30.0	116.0	¿?	¿?	¿?	¿?

<sup>1</sup> Diseño central compuesto rotatable con dos factores y cinco niveles; 13 tratamientos

<sup>2</sup> No corresponde al orden de procesamiento

<sup>3</sup> **AAox**= Capacidad antioxidante; **CFT**= Compuestos fenólicos totales, **Ant**=Contenido de antocianinas; **%Prot**= Porcentaje de proteína

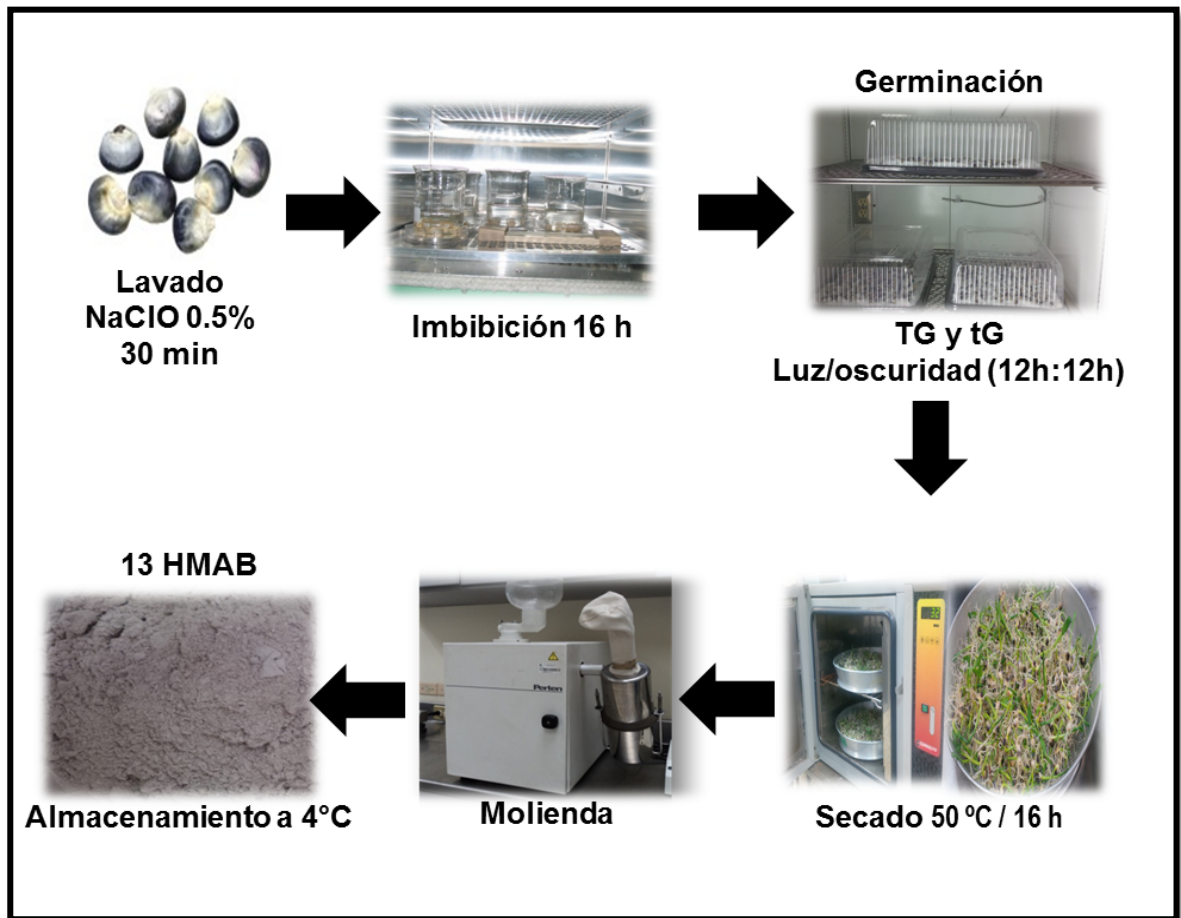
### **b Obtención de harinas de maíz azul bioprocesado (HMAB)**

Se aplicó la metodología reportada por Gómez-Favela y col (2012) con algunas modificaciones (**Fig 10**). Lotes de 300 g de semillas de maíz azul limpio se desinfectaron en una disolución de Hipoclorito de Sodio al 0.5% por 30 min. Los granos se drenaron, lavaron con agua destilada y se remojaron (16 h) en agua destilada. Los granos se decantaron; el exceso de agua se retiró con papel absorbente. Las semillas se colocaron homogéneamente en camas de algodón (humectadas con disolución de 200 ppm de Hipoclorito de Sodio). Las camas se colocaron en una cámara de germinación (NOVATECH modelo CA-550). Se utilizaron fotoperiodos de luz/oscuridad (12 h:12 h) durante el tiempo de germinación (Se llevaron a cabo trece germinaciones, acorde a los tratamientos derivados del diseño experimental). Los germinados de maíz azul provenientes de cada uno de los 13 tratamientos (**Cuadro 6**) se secaron en una estufa con circulación forzada de aire a una temperatura de 50°C. Posteriormente, se molturaron en un molino de martillos con malla de 1 mm de diámetro y se almacenaron a 4°C para su posterior utilización y análisis. Se les reconoce como harinas de maíz azul bioprocesado (**HMAB**). A cada una de las **HMAB** se les evaluó actividad antioxidante (**AAox**) y contenidos de compuestos fenólicos totales (**CFT**), antocianinas (**Ant**) y proteína (**% Prot**).

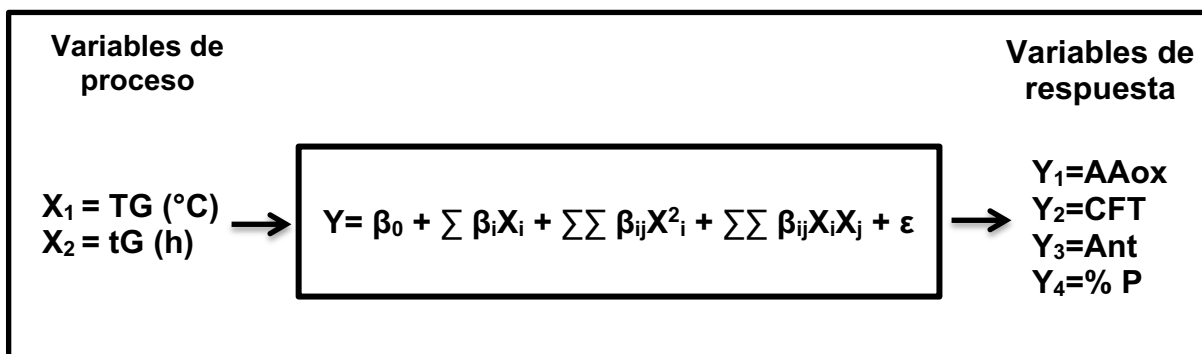
### **c Análisis de varianza y regresión**

El análisis de varianza y regresión se realizó a los valores experimentales obtenidos para actividad antioxidante (**AAox**) y contenidos de compuestos fenólicos totales (**CFT**) y antocianinas (**Ant**) y proteínas (**% Prot**), de acuerdo a un diseño experimental central compuesto rotatable utilizando la metodología de superficie de respuesta (MSR), con dos variables de proceso, seleccionado para este estudio. Los experimentos individuales fueron llevados a cabo en orden aleatorio. Se asumió un modelo de regresión cuadrático para predecir las variables de respuesta (**Y**). Se desarrollaron modelos de predicción para cada una de las variables de respuesta (**Fig 11**).





**Fig 10.** Obtención de harinas de maíz azul bioprocesado (**HMAB**)



**Fig 11.** “Caja negra” del modelo matemático que muestra la relación entre variables de proceso y de respuesta del proceso de germinación

Donde  $Y$  es el valor predicho de la variable de respuesta considerada (**AAox**, **CFT**, **Ant**, **% Prot**),  $X_1$  y  $X_2$  son los valores de **TG** y **tG**, respectivamente;  $\beta_0$  es el valor del intercepto,  $\beta_i$  es un coeficiente lineal,  $\beta_{ij}$  es el coeficiente cuadrático. Aplicando un análisis de regresión, los términos no significativos ( $p > 0.1$ ) se eliminaron del polinomio de segundo orden y se recalculó un nuevo polinomio, se obtuvo un modelo de predicción para cada variable de respuesta. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software Design Expert ver 7.0.0.

### e Optimización

Se aplicó el método numérico de deseabilidad descrito por De la Vara y Domínguez (2002) para determinar la mejor combinación de las variables de proceso de germinación (**TG / tG**). Los modelos ajustados para las cuatro variables dependientes (**AAox**, **CFT**, **Ant**, **% Prot**) se evaluaron en cualquier punto  $X = (X_1, X_2)$  de la zona experimental, dos valores fueron estimados para cada modelo,  $\hat{Y}_1(X)$  y  $\hat{Y}_2(X)$ . Cada  $\hat{Y}_i(X)$  se transformó en un valor de **di(X)** (deseabilidad individual), el cual está en el intervalo (0,1) y mide el grado de deseabilidad de la respuesta en referencia al valor óptimo deseado. En nuestro caso nosotros deseamos que las variables de respuesta alcanzaran valores tan altos como fuera posible. La deseabilidad global para las cuatro variables de respuesta se determinó a partir de las cuatro deseabilidades individuales con la función matemática  $D = (d_1 d_2 d_3 d_4)^{1/4}$ , donde el valor óptimo ideal es **D=1**; un valor aceptable para **D** puede estar entre 0,6 y 0,8. El software estadístico Design Expert versión 7.0.0 (Design Expert, 2007) se utilizó para la optimización del proceso de germinación.

## 6 Análisis estadístico

A los datos obtenidos experimentalmente para **HMABO** se les aplicó análisis de varianza (**ANOVA**) de una sola vía, mediante el paquete **STATGRAPHICS Plus 6.0**; para la comparación de medias se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan con un nivel de significancia del 5 % ( $p \leq 0.05$ ).

## VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## **A CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE GRANOS DE MAÍZ AZUL**

En el **Cuadro 7** se aprecian las características físicas de los granos de maíz azul. Los granos de maíz azul presentaron las siguientes dimensiones en promedio: 10.25 mm de largo, 10.01 mm de ancho y 5.22 mm de grosor. Las dimensiones físicas de los granos enteros son indicadores importantes de la calidad, manejo y almacenamiento de los mismos. Los valores del peso de 1000 granos y peso hectolítrico para maíz azul fueron de 314.03 g y 79.35 kg/hL, respectivamente. El peso de 1000 granos indica el tamaño del grano de dicha variedad y el peso hectolítrico es una medida indirecta de la densidad del grano. Las características físicas de los granos son similares a las reportadas por Gaxiola-Cuevas (2010). La calidad del grano de maíz está asociada a sus características físicas; cuya importancia relativa resultará del destino de la producción; siendo los mercados cada vez más exigentes, por lo que se requieren granos sanos, limpios, uniformes de tamaño, textura y color. Así mismo las propiedades tecnológicas son importantes por su gran impacto en el proceso de germinación.

## **B MEJOR COMBINACIÓN DE TEMPERATURA / TIEMPO DE GERMINACIÓN PARA PRODUCIR HARINA DE MAÍZ AZUL BIOPROCESADA OPTIMIZADA (HMABO) CON VALORES MÁXIMOS DE AAox, CFT, Ant, % Prot.**

En el **Cuadro 8** se muestran las diferentes combinaciones de variables del bioproceso de germinación [temperatura de germinación (**TG**) y tiempo de germinación (**tG**)] utilizadas para la producción de harinas de maíz azul bioprocesado (**HMAB**), y los valores experimentales de las variables de respuesta [**AAox, CFT, Ant, % Prot**] evaluadas a las **HMAB**.

**Cuadro 7.** Características físicas de los granos de maíz azul<sup>1</sup>

<b>Características físicas</b>	<b>Maíz azul</b>
<b>Dimensiones (mm)</b>	
Largo	10.25 ± 0.94
Ancho	10.01 ± 0.85
Grosor	5.22 ± 0.72
<b>Peso de 1000 granos, (g)</b>	314.03 ± 8.01
<b>Peso hectolítrico, (kg/hL)</b>	79.35 ± 0.61

<sup>1</sup>Los resultados se expresan como promedio ± desviación estándar

**Cuadro 8.** Diseño experimental<sup>1</sup> empleado para obtener diferentes combinaciones de temperatura y tiempo de germinación (TG, tG) para la producción de harinas de maíz azul bioprocesado (HMAB) y valores experimentales de las variables de respuesta

Variables de proceso			Variables de respuesta <sup>3</sup>			
Trat <sup>2</sup>	TG	tG	AAox	CFT	Ant	% P
1	22.9	42.5	9,679	210.45	<b>28.52</b>	<b>10.88</b>
2	37.1	42.5	11,246	229.81	22.14	11.50
3	22.9	189.5	17,777	313.00	27.09	12.11
4	37.1	189.5	14,993	291.48	19.09	12.41
5	20.0	116.0	12,726	257.94	27.97	11.47
6	40.0	116.0	10,630	217.96	<b>17.32</b>	11.26
7	30.0	12.0	<b>8,993</b>	<b>193.75</b>	26.43	11.51
8	30.0	220.0	<b>18,964</b>	<b>320.64</b>	26.14	<b>13.20</b>
9	30.0	116.0	16,424	302.85	24.25	12.10
10	30.0	116.0	15,655	284.23	23.47	11.95
11	30.0	116.0	18,182	297.10	24.25	12.34
12	30.0	116.0	14,711	293.90	24.85	12.02
13	30.0	116.0	16,388	294.90	24.27	12.34

<sup>1</sup> Diseño central compuesto rotatable con dos factores y cinco niveles; 13 tratamientos

<sup>2</sup> No corresponde al orden de procesamiento

<sup>3</sup> **AAox**= Actividad antioxidante ( $\mu\text{mol ET}/100\text{ g, bs}$ ); **CFT**= Compuestos fenólicos totales ( $\text{mg EAG}/100\text{g, bs}$ ), **Ant**=Contenido de antocianinas ( $\text{mg EC3G}/100\text{g, bs}$ ), **% Prot** = Porcentaje de proteína ( $\%, \text{bs}$ )

## a Modelos de predicción para las variables de respuesta

A partir de los datos experimentales de **AAox**, **CFT**, **Ant** y **% Prot** de las **HMAB** mostrados en el **Cuadro 8** se obtuvieron modelos de predicción, como resultado de ajustar el polinomio que relaciona las variables de respuesta con las variables del bioproceso de germinación (**TG**, **tG**). A estos modelos de predicción se les probó su idoneidad y ajuste por análisis de varianza (**Cuadro 9**). Un buen modelo de predicción debe tener una **R<sup>2</sup>** ajustada (coeficiente de determinación)  $\geq 0.80$ , un nivel de significancia de  $p < 0.05$ , un valor de coeficiente de varianza (**CV**)  $\leq 10\%$ , y prueba de falta de ajuste  $> 0.1$  (Myers y Montgomery, 2002). Estos criterios se utilizaron para decidir el nivel de satisfacción de los modelos de predicción de cada una de las variables de respuesta.

### 1) Actividad antioxidante (**AAox**)

Las harinas de maíz azul bioprocesadas (**HMAB**) exhibieron valores mínimos y máximos de **AAox** de 8,993 y 18,964  $\mu\text{mol}$  equivalentes de trolox (ET)/100 g, bs, respectivamente (**Cuadro 8**). La **AAox** del maíz azul aumentó como consecuencia del proceso de germinación [**AAox** de maíz azul crudo = 7,312  $\mu\text{mol}$  ET/100 g (bs)]. El análisis de varianza mostró un modelo cuadrático significativo ( $P = 0.0004$ ) para **AAox**. Este análisis también mostró que la **AAox** de las **HMAB** fue dependiente del término lineal de el tiempo de germinación (**tG**) ( $P < 0.05$ ), así como de la interacción (**TG**)(**tG**) y de los términos cuadráticos de temperatura [**(TG)<sup>2</sup>**] y tiempo de germinación [**(tG)<sup>2</sup>**] (**Cuadro 9**). El término de lineal **TG** no se eliminó del modelo para mejorar la significancia del mismo.

VARIABLES CODIFICADAS

$$\text{AAox} = 16,271.8 - 522.6(\text{TG}) + 324.3(\text{tG}) - 1,087.7(\text{TG})(\text{tG}) - 2,147.9(\text{TG})^2 - 997.7(\text{tG})^2$$

VARIABLES NO CODIFICADAS

$$\text{AAox} = -35,051.7 + 2,746.3(\text{TG}) + 148.7(\text{tG}) - 2.09(\text{TG})(\text{tG}) - 42.96(\text{TG})^2 - 2.092(\text{tG})^2$$

**Cuadro 9.** Coeficientes de regresión y análisis de varianza de los modelos experimentales de predicción mostrando la relación entre las variables de respuesta y variables del proceso para la producción de harinas de maíz azul bioprocesado

Coeficientes	Aaox ( $\mu\text{mol ET}/100\text{ g, bs}$ )		CFT ( $\text{mg EAG}/100\text{g, bs}$ )		Ant ( $\text{mg EC3G}/100\text{g, bs}$ )		% Prot (%, bs)	
	Codificado	Sin Codificar	Codificado	Sin codificar	codificado	Sin codificar	codificado	Sin codificar
<b>Intercepto</b>								
$\beta_0$	16271.73***	-35051.68	294.59***	-297.081	24.22***	27.9043	12.2***	3.1403
<b>Lineal</b>								
$\beta_1$	-522.61 <sup>NS</sup>	2746.27	-7.37 <sup>NS</sup>	31.1472	-3.68***	0.4999	0.078 <sup>NS</sup>	0.5333
$\beta_2$	3243.32***	149.658	42.96***	1.83018	-0.61**	-0.04991	0.57***	7.70E-03
<b>Cuadrático</b>								
$\beta_{11}$	-2147.93**	-42.959	-24.92***	-4.98E-01	-0.85**	0.01701	0.44***	-8.70E-03
$\beta_{22}$	-997.68**	-0.18448	-15.3**	-2.83E-03	0.97***	1.79E-04	NS	NS
<b>Interacciones</b>								
$\beta_{12}$	-1087.74*	-2.0918	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>P<sub>modelo</sub></b>	0.0004		<0.0001		<0.0001		<0.0001	
<b>P<sub>falta de ajuste</sub></b>	0.7899		0.0643		0.1545		0.3038	
<b>CV</b>	7.56		4.32		2.87		1.81	
<b>R<sup>2</sup></b>	0.9391		0.9566		0.9698		0.9041	
<b>R<sup>2</sup><sub>ajustada</sub></b>	0.8956		0.9255		0.9547		0.8721	
<b>R<sup>2</sup><sub>predicha</sub></b>	0.8339		0.7374		0.8902		0.7215	

\* Nivel de significancia a  $P \leq 0.10$

\*\* Nivel de significancia a  $P \leq 0.05$

\*\*\* Nivel de significancia a  $P \leq 0.01$

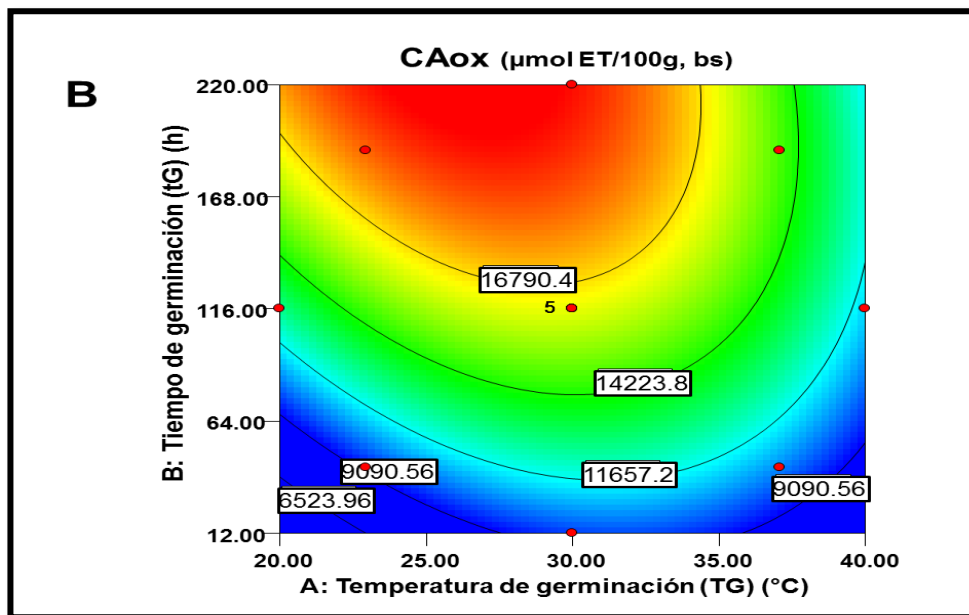
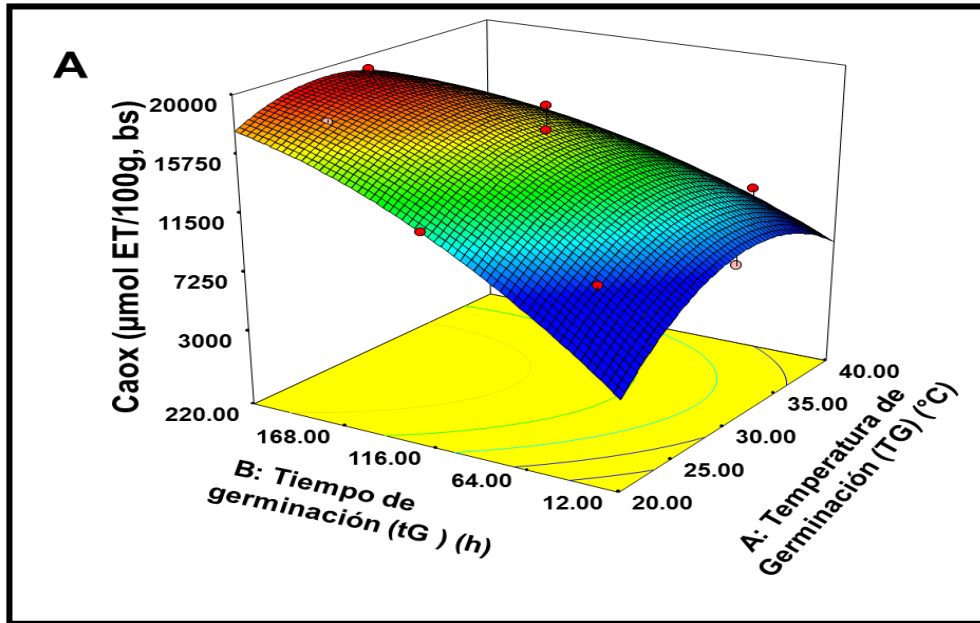
<sup>NS</sup> No significativo



Este modelo de predicción explicó el 93.91% de la variabilidad total ( $P=0.0004$ ) de los valores de **AAox** de las **HMAB**. El coeficiente de determinación  $R^2$  ajustada del modelo fue 0.8956 y la falta de ajuste fue no significativa (0.7899). Además, la dispersión relativa de los puntos experimentales con respecto a los valores predichos con el modelo (**CV**) fue de 7.56%. Estos valores indican que el modelo experimental para la **AAox** de las **HMAB** fue adecuado y reproducible.

A partir del modelo de predicción se construyeron gráficas de superficie de respuesta y de contornos (**Fig 12**) en las cuales se observa el efecto de **TG** y **tG** sobre la actividad antioxidante de las **HMAB**. En las gráficas se observa que el **tG** tuvo un efecto significativo sobre la actividad antioxidante. El valor de **AAox** más bajo (8,993  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g, bs}$ ) se localizó a **TG** =30°C / **tG**=12.0 h. A medida que **tG** incrementó los valores de **AAox** también incrementaron hasta alcanzar el máximo valor posible (18,964  $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g, bs}$ ), el cuál es deseable, y se localizó en los valores bajos a intermedios de **TG** y valores más altos de **tG** (30°C / 220 h).

Nava-Arenas y col (2008) reportaron un comportamiento similar durante la germinación de maíz azul; ellos aplicaron tiempos de germinación de 24, 48 y 96 h, utilizando una temperatura fija de 25°C; el incremento mayor (+56%) en **AAox** lo observaron al tiempo mayor (96 h) de germinación. Randhir y Shetty (2005) reportaron que el desarrollo y estimulación de los compuestos fenólicos totales y su actividad antioxidante puede deberse a la liberación o síntesis de compuestos con actividad antioxidante. La ruta metabólica de los fenilpropanoides es estimulada durante la germinación del maíz y, en consecuencia, un aumento de los compuestos fenólicos que se refleja en un aumento en la actividad antioxidante del 81% después de 8 días de germinación. Este comportamiento se a observado en la germinación de distintos cereales como el arroz y el trigo (Yang, 2001; Sutharut, 2012; Umnajkitikorn, 2013).



**Fig 12:** Gráficas de superficie de respuesta (A) y contornos (B) que muestran el efecto de temperatura y tiempo de germinación (TG, tG) sobre la actividad antioxidante [AAox ( $\mu\text{mol ET}/100\text{ g, bs}$ )] de las harinas de maíz azul bioprocesado (HMAB).

## 2) Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT)

Las **HMAB** presentaron valores de **CFT** entre 193.748 y 320.639 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/ 100 g (bs) (**Cuadro 8**). En todos los tratamientos de germinación, los **CFT** del maíz aumentaron como consecuencia del bioproceso de germinación [**CFT** en grano de maíz azul crudo = 187.84 mg EAG/ 100 g (bs)].

En el **Cuadro 9** se muestran la estimación de los coeficientes de regresión y análisis de varianza del modelo de predicción para **CFT** de las **HMAB**, el cual muestra la relación entre esta variable de respuesta y las variables del bioproceso de germinación (**TG** y **tG**). El análisis de varianza mostró un modelo lineal significativo ( $P < 0.0001$ ) para **CFT**. Este análisis mostró que el contenido de **CFT** de las **HMAB** fue dependiente ( $P < 0.01$ ) del término lineal de el tiempo de germinación (**tG**) y de los términos cuadráticos de temperatura y tiempo de germinación (**TG<sup>2</sup>** y **tG<sup>2</sup>**) ( $P > 0.05$ ). Mientras que el termino lineal de la temperatura de germinación (**TG**) no fue significativamente dependiente ( $P > 0.1$ ), así mismo la interacción (**TG**)(**tG**) no fue significativa. En un nuevo análisis de varianza y regresión se eliminó el término de interacción y se recalculó un nuevo modelo de predicción. El término lineal de temperatura de germinación (**TG**) no se eliminó del modelo para mejorar la significancia del mismo.

Variables codificadas

$$\text{CFT} = 294.59 - 7.34(\text{TG}) + 42.96(\text{tG}) - 24.92(\text{TG})^2 - 15.30(\text{tG})^2$$

Variables no codificadas

$$\text{CFT} = -228.669 + 28.867(\text{TG}) + 1.240(\text{tG}) - 0.4984(\text{TG})^2 - 0.002829(\text{tG})^2$$

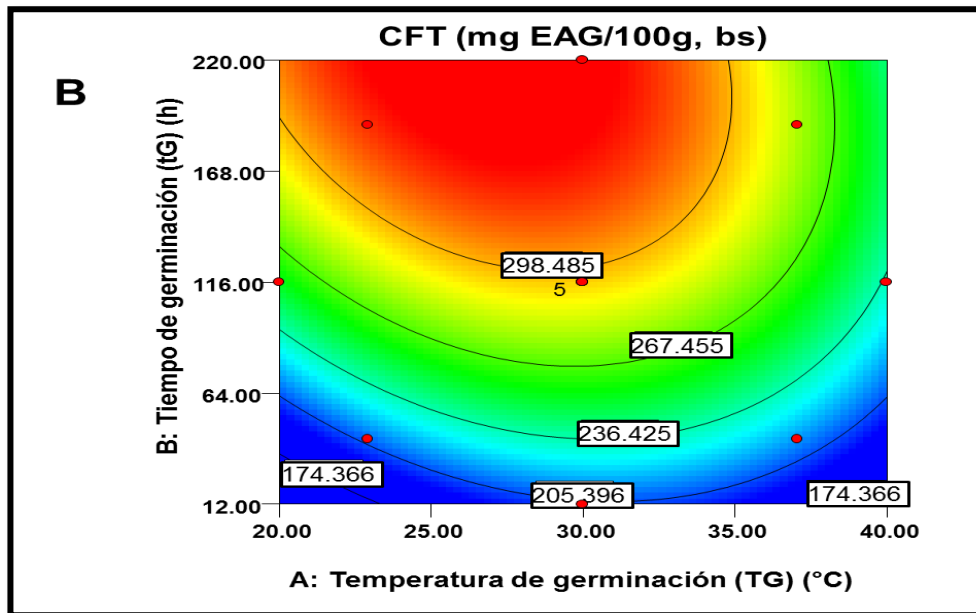
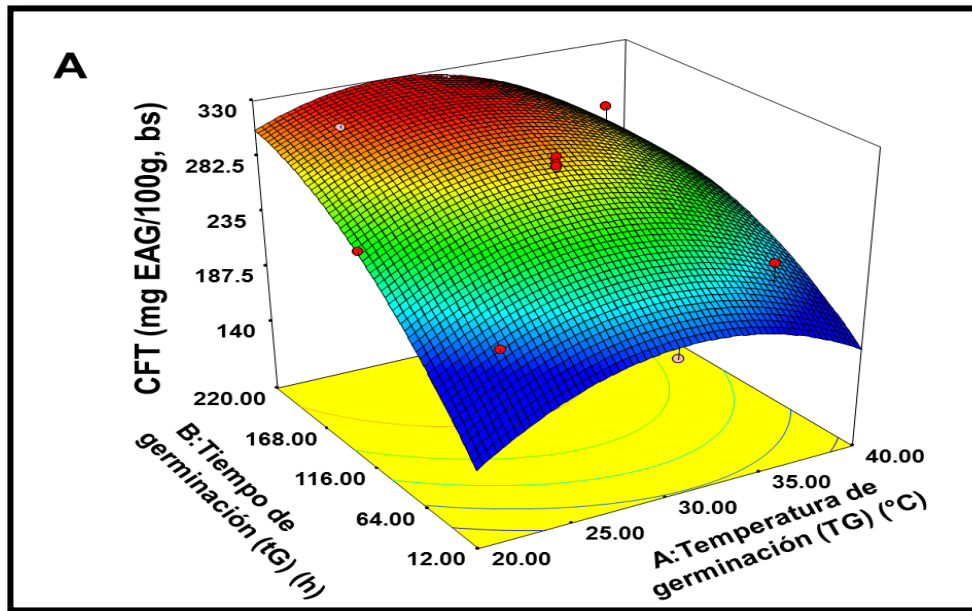
Este modelo de predicción explicó el 95.66% de la variabilidad total ( $P < 0.0001$ ) de los valores de **CFT** de las **HMAB**. El coeficiente de determinación **R<sup>2</sup>** ajustada del modelo fue 0.9255 y la falta de ajuste fue no significativa (0.0643). Además, la dispersión relativa de los puntos experimentales con respecto a los valores predichos con el modelo (**CV**) fue de 4.32%. Estos valores indican que el modelo experimental para el contenido de **CFT** de las **HMAB** fue adecuado y reproducible.

A partir del modelo de predicción se construyeron gráficas de superficie de respuesta y de contornos (**Fig 13**) en las cuales se observa el efecto de las variables del proceso de germinación (**TG, tG**) sobre el contenido de **CFT** de las **HMAB**. En las gráficas se observa como la variable de proceso tiempo de germinación (**tG**) tuvo un efecto significativo en el comportamiento de **CFT**. El valor de **CFT** más bajo (193.75 mg EAG/ 100 g, bs) se observó a **TG=30°C / tG=12h**. A medida que **tG** incrementó, los valores de **CFT** también incrementaron hasta alcanzar el máximo valor posible (320.64 mg EAG/ 100 g, bs), el cuál es deseable, y se localizó en los valores bajos a medios de **TG** y tiempos de germinación (**tG**) altos (30°C / 220 h). Este comportamiento es similar al observado en **AAox**; es posible asumir que el incremento en **CFT** contribuye al aumento en **AAox**.

Nava-Arenas y col (2008) observaron un comportamiento similar durante la germinación de maíz azul; obtuvieron un contenido mayor de **CFT** a medida que el tiempo de germinación se incrementó. El incremento de **CFT** en **HMAB** con el aumento del tiempo de germinación puede deberse a la síntesis de nuevos compuestos fenólicos como parte del proceso de germinación. Otro factor que podría contribuir en este aumento es que durante el bioproceso de germinación se activan enzimas hidrolíticas, las cuales actúan sobre la estructura de la pared celular, liberando compuestos fenólicos ligados a ésta, como los ácidos Ferúlico (compuesto fenólico mayoritario en el maíz azul) y p-Cumárico .

### 3) Contenido de antocianinas (**Ant**)

El contenido de **Ant** en las **HMAB** varió de 17.32 a 28.52  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Cianidina-3-Glucósido (C3G)/100 g (bs) (**Cuadro 8**). En el **Cuadro 9** se muestra la estimación de los coeficientes de regresión y análisis de varianza del modelo de predicción para el contenido **Ant** de las **HMAB**, el cual muestra la relación entre esta variable de respuesta y las variables del bioproceso de germinación (**TG, tG**). El análisis de varianza mostró un modelo cuadrático significativo ( $P < 0.0001$ ) para **Ant**. Este análisis también mostró que el contenido de **Ant** de las **HMAB** fue



**Fig13.-** Gráficas de superficie de respuesta **(A)** y contornos **(B)** que muestran el efecto de temperatura y tiempo de germinación **(TG, tG)** sobre el contenido de fenólicos totales [**CFT** (mg EAG/100g, bs)] de las harinas de maíz azul bioprocesado **(HMAB)**.

significativamente dependiente de los términos lineales de la temperatura (**TG**) y tiempo de germinación (**tG**) ( $P < 0.05$ ), así como de los términos cuadráticos de esas mismas variables [ $(\mathbf{TG})^2$ ,  $(\mathbf{tG})^2$ ] ( $P < 0.05$ ). La interacción (**TG**)(**tG**) no tuvo significancia ( $P > 0.1$ ). En un nuevo análisis de varianza y regresión se eliminó el término interacción y se recalculó un nuevo modelo de predicción.

VARIABLES CODIFICADAS

$$\mathbf{Ant} = 24.22 - 3.68(\mathbf{TG}) - 0.61(\mathbf{tG}) - 0.85(\mathbf{TG})^2 + 0.97(\mathbf{tG})^2$$

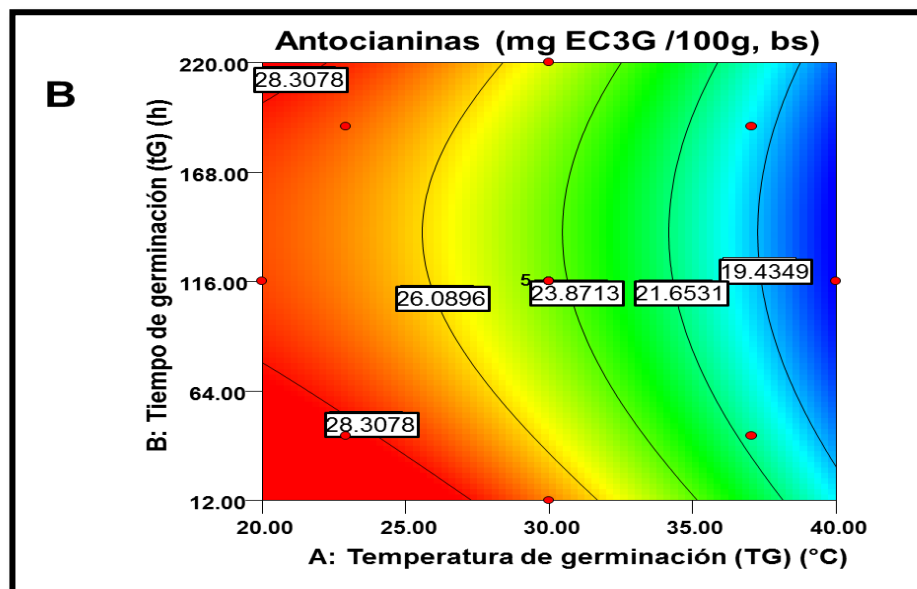
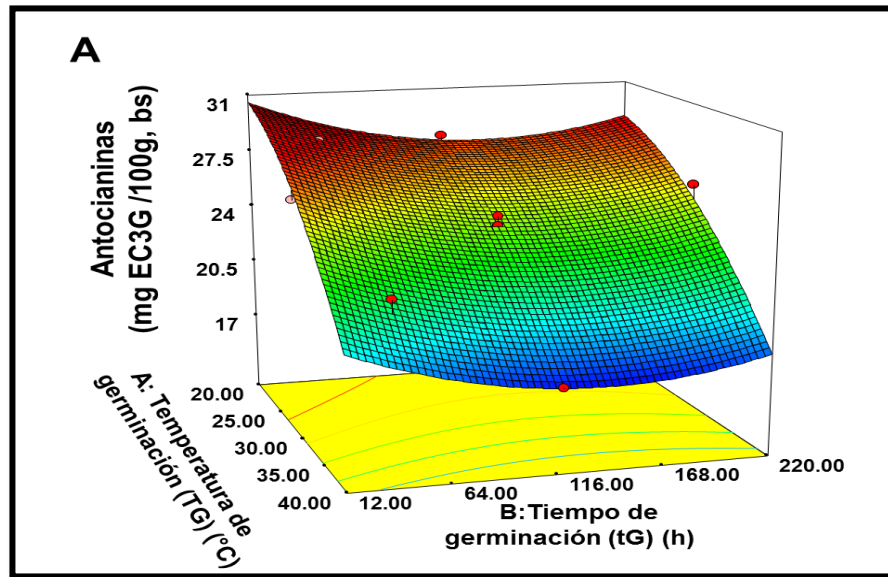
VARIABLES NO CODIFICADAS

$$\mathbf{Ant} = 27.904 + 0.4999(\mathbf{TG}) - 0.04991(\mathbf{tG}) - 0.01701(\mathbf{TG})^2 + 0.000179(\mathbf{tG})^2$$

Este modelo de predicción explicó el 96.98% de la variabilidad total ( $P < 0.0001$ ) en el contenido de **Ant** de las **HMAB**. El coeficiente de determinación  $R^2$  ajustada del modelo fue 0.9547 y la falta de ajuste fue no significativa (0.1545). Además, la dispersión relativa de los puntos experimentales con respecto a los valores predichos con el modelo (**CV**) fue de 2.87%. Estos valores indican que el modelo experimental para el contenido de **Ant** de las **HMAB** fue adecuado y reproducible.

A partir del modelo de predicción se construyeron gráficas de superficie de respuesta y de contornos (**Fig 14**) en las cuales se observa el efecto de las variables del bioproceso de germinación (**TG**, **tG**) sobre el contenido de **Ant** de las **HMAB**. En los gráficos se observa que ambas variables de proceso tuvieron un efecto significativo en el contenido de **Ant**. El contenido de **Ant** más bajo (17.32 mg EC3G /100g, bs) se observó a **TG**=40°C/**tG**=116 h; el contenido mayor de **Ant** (28.52 mg EC3G /100g, bs) se localizó a **TG** baja y cualquier valor de **tG**.

Nava-Arenas y col (2008) reportaron, durante la germinación de maíz azul a 25°C, un incremento (>40%) en el contenido de **Ant** con respecto al tiempo (0-96 h). Durante el proceso de germinación se presenta el fenómeno de ruptura celular (Moreno, 1996) lo cual puede dejar libres este tipo de compuestos y, por otro lado, durante la germinación de los granos se promueven las respuestas de defensa a



**Fig 14.-** Gráficas de superficie de respuesta (**A**) y contornos (**B**) que muestran el efecto de temperatura y tiempo de germinación (**TG**, **tG**) sobre el contenido antocianinas [**Ant** (mg EC3G/ 100g, bs)] de las harinas de maíz azul bioprocesado (**HMAB**).

través de la biosíntesis de compuestos fenólicos como las antocianinas (Randhir y col, 2004).

#### **d) Contenido de proteínas (% Prot)**

Las **HMAB** presentaron contenidos de proteínas (**% Prot**) entre 10.88 % y 13.2 % (bs) (**Cuadro 8**). En todos los tratamientos de germinación, el % Prot del maíz azul aumentó como consecuencia del bioprocesamiento [Contenido de proteína en el grano de maíz azul crudo = 9.9 % (bs)]. En el **Cuadro 9** se muestra la estimación de los coeficientes de regresión y análisis de varianza del modelo de predicción para **% Prot** de las **HMAB**, el cual muestra la relación entre esta variable de respuesta y las variables del bioproceso de germinación (**TG**, **tG**). El análisis de varianza mostró un modelo cuadrático significativo ( $P < 0.0001$ ) para **% Prot**. Este análisis también mostró que el **% Prot** de las **HMAB** fue dependiente ( $P < 0.0001$ ) del término lineal de tiempo de germinación (**tG**) y del término cuadrático de la temperatura de germinación [**(TG)<sup>2</sup>**] ( $P < 0.001$ ). El término lineal de la temperatura de germinación (**TG**) no fue significativo; tampoco lo fueron el término cuadrático del tiempo de germinación [**(tG)<sup>2</sup>**] y la interacción temperatura de germinación – tiempo de germinación [**(TG)(tG)**] ( $P > 0.1$ ). En un nuevo análisis de varianza y regresión todos los términos no significativos, excepto el término lineal de **TG**, se eliminaron y se recalculó un nuevo modelo de predicción.

VARIABLES CODIFICADAS

$$\% \text{ Prot} = 12.20 + 0.078(\text{TG}) + 0.57(\text{tG}) - 0.44(\text{TG})^2$$

VARIABLES NO CODIFICADAS

$$\% \text{ Prot} = 3.1403 + 0.5333(\text{TG}) + 0.0077(\text{tG}) - 0.008704(\text{TG})^2$$

Este modelo de predicción explicó el 90.41% de la variabilidad total ( $P < 0.0001$ ) en el contenido de proteínas (**% Prot**) de las **HMAB**. El coeficiente de determinación **R<sup>2</sup>** ajustada del modelo fue 0.8721 y la falta de ajuste fue no significativa (0.3038). Además, la dispersión relativa de los puntos experimentales con respecto



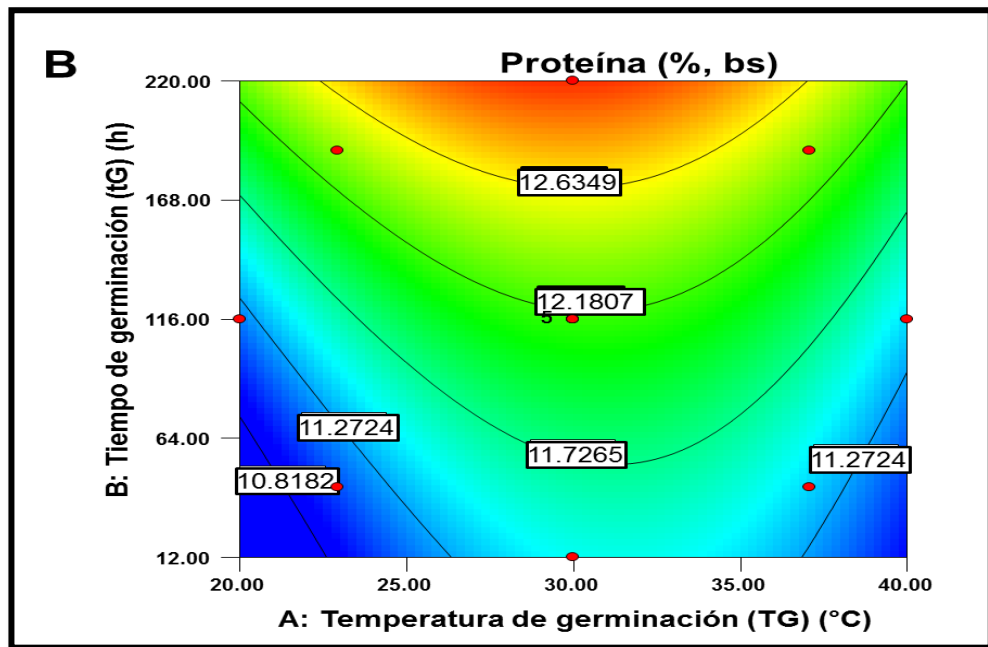
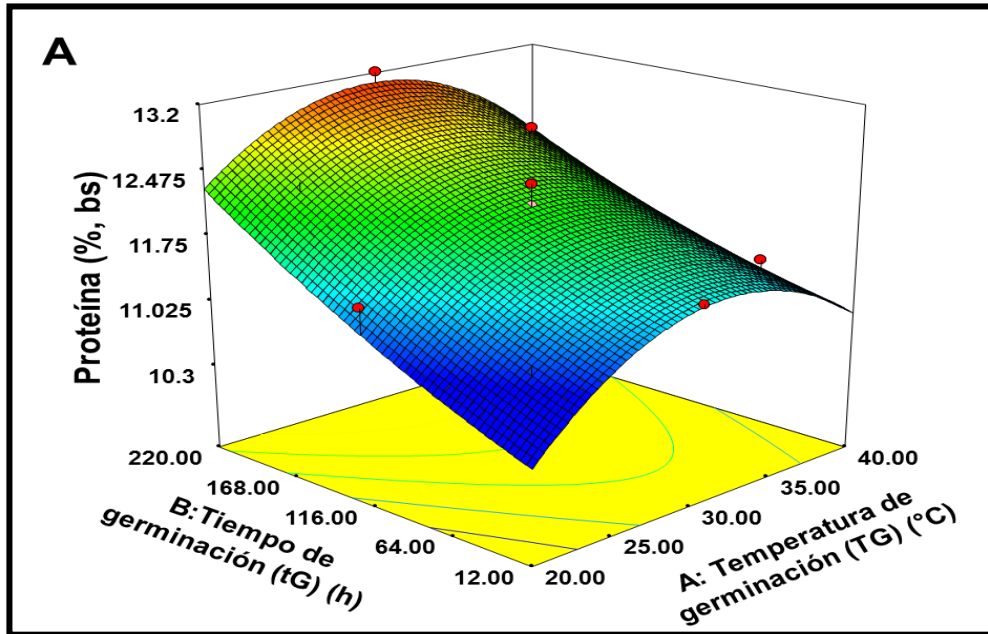
a los valores predichos con el modelo (**CV**) fue de 1.81%. Estos valores indican que el modelo experimental para el **% Prot** de las **HMAB** fue adecuado y reproducible.

A partir del modelo de predicción se construyeron gráficas de superficie de respuesta y de contornos (**Fig 15**) en las cuales se observa el efecto de las variables del bioproceso de germinación (**TG, tG**) sobre el contenido de proteína de las **HMAB**. En los gráficos se observa como el tiempo de germinación (**tG**) tuvo un efecto significativo sobre el **% Prot**. El contenido de proteína más bajo (10.88 %, bs) se observó a **TG=22.9°C/tG=42.5 h**. A medida que **tG** se incrementó el **% Prot** también aumentó hasta alcanzar el máximo valor posible (13.2 %, bs), el cuál es deseable, y se localizó en **TG=30°C/tG=220 h**.

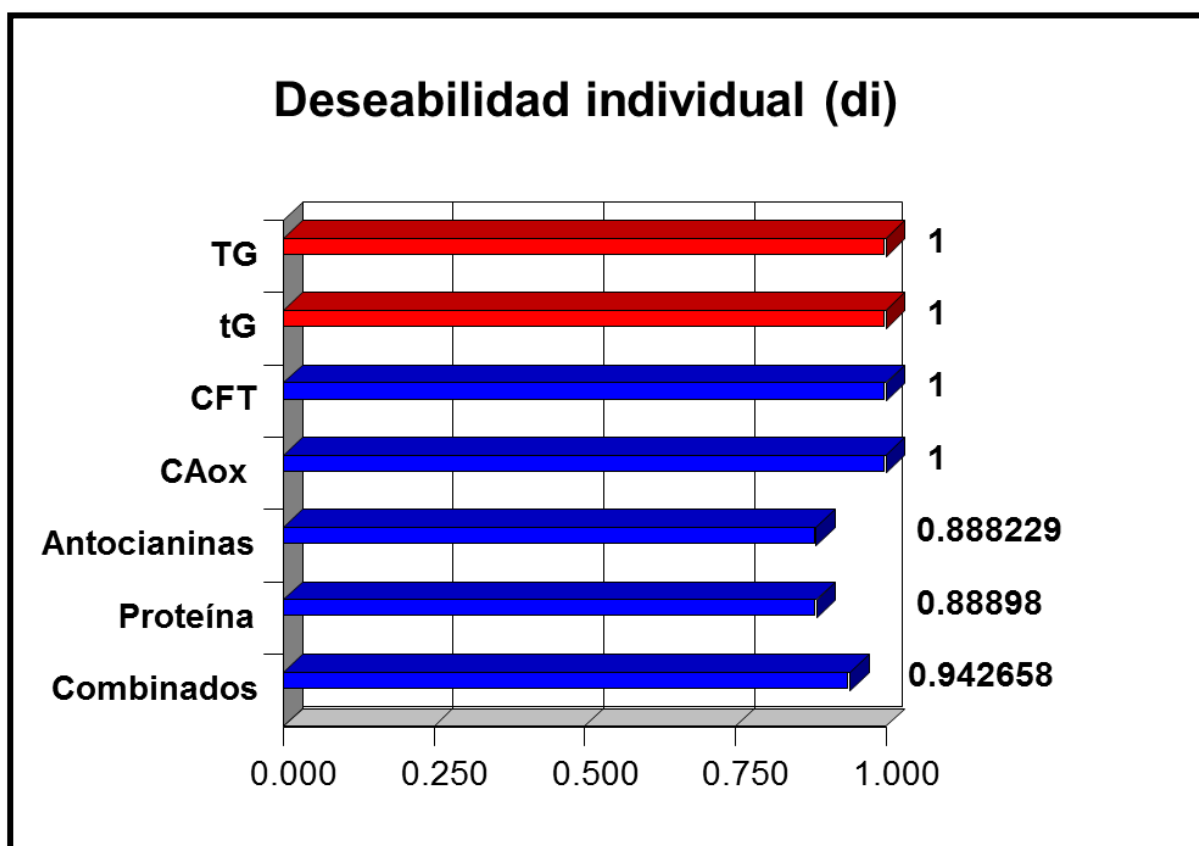
Algunos investigadores (Tsai y col, 1975; Chen, 2003; Veluppillai, 2009), en estudios sobre la germinación de diversos cereales (trigo, arroz), han observado incremento en el contenido de proteínas conforme se incrementa el tiempo de germinación. Este aumento podría deberse a pérdidas, con respecto al peso seco, de otros nutrimentos, principalmente de carbohidratos, a través de la respiración en la germinación. Estas pérdidas en peso seco son, en su mayoría, pérdidas en azúcares durante la respiración a través de la producción de dióxido de carbono y agua, los cuales son desechados por la semilla. En general, temperaturas y tiempos de germinación altos significan pérdidas mayores en peso seco reflejándose en un incremento aparente en el contenido de proteína (Chavan y col, 1989).

## **b Optimización**

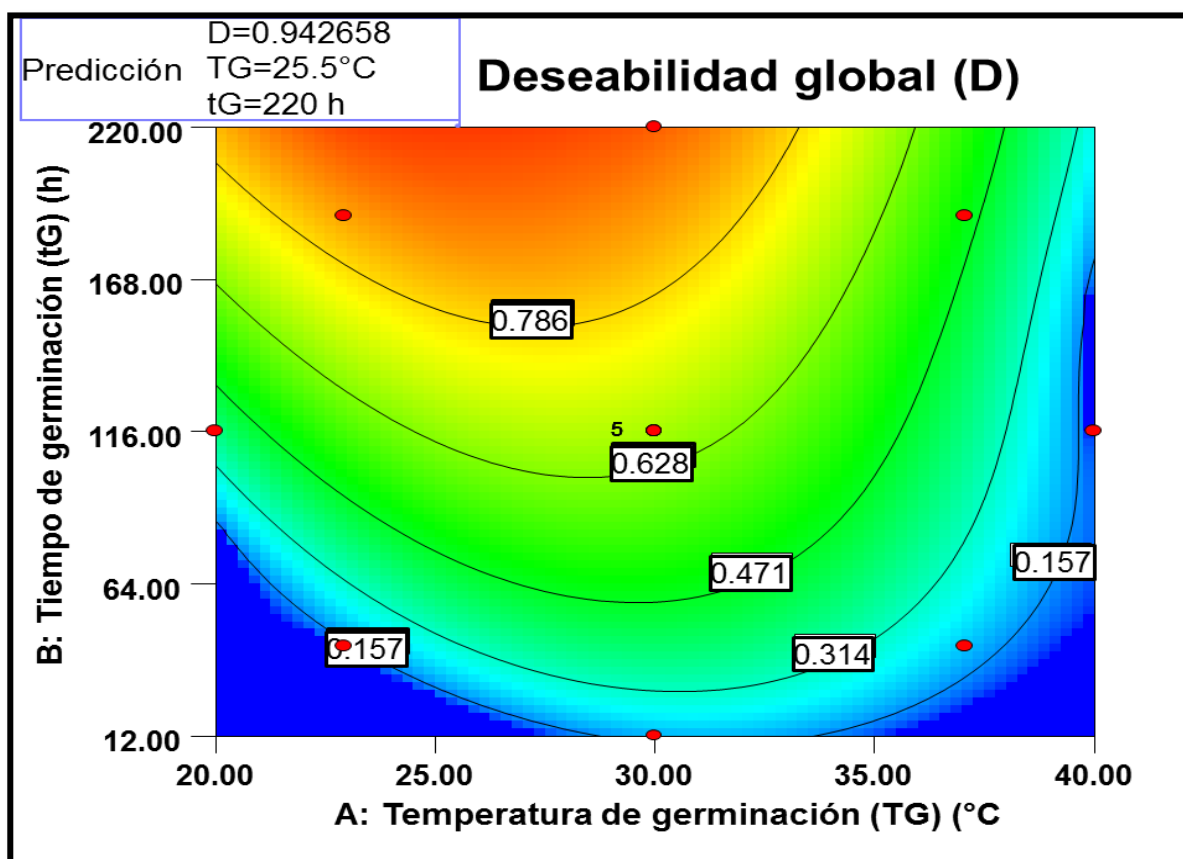
Se aplicó el método numérico de deseabilidad global (**D**) para la obtención de una harina de maíz azul bioprocesado optimizada (**HMABO**) con **AAox, CFT, Ant** y **% Prot** altos. Los modelos matemáticos de predicción obtenidos para cada una de las variables de respuesta se utilizaron para obtener las deseabilidades individuales (**di**) de cada una de ellas (**Fig 16**). Las **di** se utilizaron para calcular la deseabilidad global (**D**) (**Fig 17**). Las mejores condiciones de procesamiento para obtener una harina de maíz azul bioprocesado optimizada (**HMABO**)



**Fig15:** Gráficas de superficie de respuesta (**A**) y contornos (**B**) que muestran el efecto de la temperatura y tiempo de germinación (**TG, tG**) sobre el contenido de proteína [% **Prot** (% bs)] de las harinas de maíz azul bioprocesado (**HMAB**).



**Fig 16.** Gráfica de deseabilidades individuales ( $d_i$ ) para las variables de respuesta (**AAox**= Actividad antioxidante; **CFT**= Compuestos fenólicos totales; **Ant** = Antocianinas; **% Prot** = Porcentaje de proteína) obtenidas durante la optimización del proceso de germinación para la obtención de harina de maíz azul bioprocesado optimizado (HMABO) con máximos valores de **AAox**, **CFT**, **Ant** y **% Prot** . **TG**= Temperatura de germinación; **tG**= Tiempo de germinación



**Fig 17.** Gráfica de contornos mostrando el efecto de la temperatura y tiempo de germinación (TG, tG) sobre la **D** = Deseabilidad global [considerando las deseabilidades individuales (di) de c/u de las variables de respuesta (**AAox**, **CFT**, **Ant**, **% Prot**)] empleada para la optimización del proceso de germinación para la obtención de harina de maíz azul bioprocesada optimizada (**HMABO**) con valores máximos de las variables de respuesta

correspondieron a aquellas donde se obtuvo el máximo valor de deseabilidad global (**D**) (**Fig 17**).

El valor de deseabilidad global (**D**) obtenido durante la optimización del bioproceso de germinación para la obtención de una **HMABO** con valores máximos de **AAox**, **CFT**, **Ant** y **% Prot** fue **D** = 0.942658, (El valor máximo posible es **D**=1). Valores de deseabilidad global en el rango de 0.7-1.0 proporcionan un producto de buena calidad y aceptable de acuerdo a una escala subjetiva reportada por Fabila-Carrera (1998). La mejor combinación de variables de bioproceso asociados al valor máximo de deseabilidad global fue: **TG**= 25.6°C/**tG**= 220 h. Los valores predichos de las variables de respuesta, obtenidos usando los modelos de predicción de cada variable de respuesta y las condiciones de germinación optimizadas fueron: **AAox** = 19,310  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g (bs)}$ , **CFT** = 328.61 mg EAG/100g (bs), **Ant** = 27.27  $\mu\text{mol equivalentes de C3G}/100\text{ g (bs)}$  y **% Prot** = 12.94 % (bs).

Se aplicó la mejor combinación de las variables del bioproceso (**TG**=25.6°C/**TG**=220h) para producir experimentalmente harina de maíz azul bioprocesada optimizada (**HMBO**); la prueba se realizó por triplicado. Los valores experimentales de las variables de respuesta [**AAox**=21,320  $\mu\text{mol ET}/100\text{ g (bs)}$ , **CFT**=336.06 mg EAG/100g (bs), **Ant**=28.83  $\mu\text{mol EC3G}/100\text{ g (bs)}$  y **% Prot** = 13.71% (bs)] fueron similares a los valores predichos. Esto significa que las condiciones de germinación optimizadas fueron apropiadas y reproducibles.

## **C COMPOSICIÓN QUÍMICA Y PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE HARINA DE MAÍZ AZUL BIOPROCESADA OPTIMIZADA (HMABO)**

### **Composición química**

En el **Cuadro 10** se muestra la composición química y propiedades fisicoquímicas de la harina de maíz azul bioprocesada optimizada (**HMABO**), la harina de maíz azul sin procesar, cruda, (**HMAC**) se utilizó como referencia. El contenido de proteína de la **HMABO** fue mayor ( $p < 0.05$ ) que el de la **HMAC** [13.71% vs. 9.92% (bs)] presentando un incremento del 38.48%.

**Cuadro 10.** Composición química<sup>1</sup> y propiedades fisicoquímicas<sup>1</sup> de la harina de maíz azul bioprocesado optimizada (**HMABO**)

<b>Propiedad</b>	<b>HMAC</b>	<b>HMABO</b>
<b>Composición química (% bs)</b>		
Proteínas	9.9 ± 1.1 <sup>b</sup>	13.71±0.56 <sup>a</sup>
Lípidos	4.5±0.1 <sup>a</sup>	2.9±0.3 <sup>b</sup>
Minerales	1.2±0.1 <sup>b</sup>	2.2±0.03 <sup>a</sup>
Carbohidratos	84.4 <sup>a</sup>	81.19 <sup>b</sup>
Fibra dietaria		
Insoluble	9.56	21.31
Soluble	0.22	0.25
Total	9.78	21.56
<b>Fisicoquímicas</b>		
Color		
Valor Hunter L	64.53 ±0.58 <sup>a</sup>	61.81±1.02 <sup>b</sup>
Diferencia total de color	32.59± 0.56 <sup>b</sup>	36.57±0.95 <sup>a</sup>
Actividad acuosa	0.24±0.01 <sup>b</sup>	0.33±0.02 <sup>a</sup>
pH	5.71±0.03 <sup>a</sup>	4.47±0.10 <sup>b</sup>
Densidad aparente	0.47±0.02 <sup>a</sup>	0.34±0.03 <sup>b</sup>
Índice de absorción en agua <sup>2</sup>	2.51±0.03 <sup>b</sup>	5.39±0.16 <sup>a</sup>
Índice de solubilidad en agua <sup>3</sup>	8.84±0.07 <sup>b</sup>	27.55±2.71 <sup>a</sup>
Índice de absorción de aceite <sup>4</sup>	1.13±0.12 <sup>b</sup>	1.78±0.19 <sup>a</sup>
Dispersabilidad (%)	25.3±0.6 <sup>b</sup>	87.5±0.83 <sup>a</sup>
Formación de espuma (%)	9.73±0.23 <sup>b</sup>	12.70±0.89 <sup>a</sup>
Estabilidad de espuma (%)	93.22±2.68 <sup>a</sup>	95.31±0.89 <sup>a</sup>
Actividad de emulsión (%)	27.83±0.58 <sup>a</sup>	12.75±0.35 <sup>b</sup>
Estabilidad de emulsión (%)	74.93±5.68 <sup>a</sup>	70.29±4.42 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Las medias se separaron por renglones, aplicando la prueba de rango múltiple de Duncan. Medias con la misma letra no son diferentes (p<0.05)

<sup>2</sup> g gel/g muestra seca

<sup>3</sup> g sólido/100 g de muestra seca

<sup>4</sup> mL aceite absorbido/g muestra

Vongsudin y col (2011) reportaron un incremento (+38.35%) en el contenido de proteínas de diversas variedades de maíces pigmentados (azul/morado) como consecuencia de la germinación de los granos. Otros investigadores (Chen, 2003; Velupillai, 2009) reportaron aumentos en el contenido de proteínas en diversos cereales por efecto de la germinación; este incremento podría ser atribuido a pérdidas en peso seco ocasionadas, principalmente, por pérdida de azúcares durante la germinación, en procesos como la respiración donde se produce dióxido de carbono y agua, los cuales escapan de las semillas. Además, durante la germinación, se sintetizan azúcares solubles para satisfacer las necesidades de desarrollo de las plantas.

El contenido de carbohidratos de **HMAC** y **HMABO** fue de 84.40 y 81.19 %, bs, respectivamente; el decremento por efecto de la germinación fue del 3.80% (**Cuadro 10**). Mei (2008) reportó que durante las primeras etapas de la germinación de maíz, el contenido de azúcares solubles fue más elevado que el de almidón, los cuales gradualmente disminuyen; observando que los contenidos de azúcares y almidón, tras un tiempo de imbibición de 36 h, disminuyen en un 48.7% y 60.9%, respectivamente. Mientras tanto, la actividad de  $\alpha$  y  $\beta$  amilasa aumentan 3.9 y 1.3 veces, respectivamente. Estos cambios pueden atribuirse al aumento de la síntesis de la  $\alpha$ -amilasa, ocasionando aumentos en azúcares libres, y una disminución en el contenido de almidón, comportamiento reportado por otros autores (Tsai y col, 1975; Malleshi y Desikachar, 1982).

El maíz azul presentó un contenido de fibra dietaria insoluble (FDI), soluble (FDS) y total (FDT), en base seca, de 9.56%, 0.22 % y 9.78%, respectivamente (**Cuadro 10**). Las FDI, FDS y FDT se incrementaron ( $p < 0.05$ ) en un 123%, 12% y 120% como consecuencia del bioproceso de germinación. Durante la germinación se modifican la estructura de los polisacáridos en la pared celular de las semillas; posiblemente al afectar a la integridad de la histología del tejido y alterando la interacción entre proteínas y carbohidratos. Este comportamiento durante la germinación ha sido reportado para el maíz, así como para otros cereales por diversos investigadores (Elmaki, 1999; Ohtsubo, 2005; Moongngarm, 2010; Vongsudin y col, 2011).

El contenido de lípidos de la **HMAC** y de la **HMABO** fue de 4.5%, bs y 2.9%, bs, respectivamente; el bioproceso de germinación causó una disminución (-35.56%) en el contenido de lípidos de la semilla de maíz azul (**Cuadro 10**). El decremento puede atribuirse a que estas biomoléculas son utilizadas como fuente de energía durante el proceso de germinación. Shu (2008) reportó que durante las primeras etapas de germinación de semillas de maíz las concentraciones de ácidos grasos Palmítico, Oléico y Linoléico se incrementaron, pero, después de 72 h de germinación se observó una disminución rápida en los contenidos de los mismos. El aumento inicial de los ácidos grasos libres antes de las 72 h puede atribuirse a la acción enzimática de las lipasas, rompiendo los componentes lipídicos del cereal, y a la transformación del almidón; mientras que el rápido descenso en el contenido de lípidos tras las 72 h de germinación podría atribuirse al aumento en su utilización durante los procesos metabólicos que se desarrollan en la germinación.

El contenido de minerales de **HMAC** y **HMABO** fue de 1.2%, bs y 2.2%, bs, respectivamente; se observó un incremento (+83.33%) en el contenido de minerales como consecuencia de la germinación de la semilla (**Cuadro 10**). Sokrab y col (2012) observaron un fenómeno similar por efecto de la germinación de grano de maíz. Esto podría explicarse como una consecuencia de la pérdida de otros componentes como carbohidratos y lípidos utilizados como fuente de energía durante la germinación.

### **Propiedades fisicoquímicas**

El bioproceso de germinación disminuyó (-4.22%) ( $p < 0.05$ ) el valor Hunter "L" e incrementó (+12.21%) el valor de la diferencia total de color del grano de maíz azul (**Cuadro 10**). Nava-Arenas y col (2009) reportaron una disminución (-15.72%) en el valor Hunter "L" de grano de maíz azul por efecto de la germinación. La disminución en el valor Hunter "L" significa un color más oscuro, esto podría deberse a compuestos liberados y sintetizados como consecuencia de la germinación y del proceso de secado.

Los valores de actividad de agua (0.24-0.33), en ambas harinas (**HMAC**, **HMABO**) (**Cuadro 10**) están dentro del rango donde el crecimiento de



microorganismos así como las reacciones enzimáticas y químicas ocurren lentamente, lo que se traduce en una larga vida de anaquel.

Los índices de absorción de agua (**IAA**) de las **HMAC** y **HMABO** fueron de 2.5 y 5.39 g gel / g muestra seca, respectivamente; los índices de solubilidad en agua (**ISA**) para esas harinas fueron de 8.84 y 27.55 g sólidos/100 g muestra seca, respectivamente (**Cuadro 10**). El bioproceso de germinación incrementó **IAA** e **ISA** en 117.7% y 211.7%, respectivamente.

El índice de absorción de aceite se incrementó (+57.5%) por efecto de la germinación del grano de maíz azul (**HMAC**=1.13 mL aceite absorbido / g, **HMABO** = 1.18 mL aceite absorbido/g) (**Cuadro 10**). Esta propiedad de los alimentos para captar aceite es importante, debido a que mejora la retención de sabor y aroma, además de proporcionar una mayor sensación gustativa en algunos tipos de alimentos (Kinsella, 1976).

Los valores de dispersabilidad de **HMAC** y **HMABO** fueron de 25.3 % y 87.5 %, respectivamente; el bioproceso de germinación causó un incremento (+245.8%) en el valor de esta propiedad (**Cuadro 10**). Una dispersabilidad de 100% sugiere que las partículas de la harina permanecen suspendidas en el agua, característica importante para la formulación de algunos productos alimenticios, como bebidas y fórmulas lácteas. El incremento en el valor de esta propiedad se puede atribuir a una mayor interacción de las partículas de **HMABO** con el agua y a un descenso en su densidad; o tal vez a la disminución en la proporción de almidón, ya que éste no es soluble en agua fría. El valor de dispersabilidad se ha correlacionado, de manera indirecta, al grado de desnaturalización de las proteínas de un alimento procesado; un valor de dispersabilidad alto indica una menor desnaturalización de proteínas (Visser y Thomas, 1987).

El porcentaje de formación de espuma de **HMAC** y **HMABO** fue de 9.73% y 12.70%, respectivamente; se apreció un incremento (+30.52%) en el valor de esta propiedad como consecuencia del bioproceso de germinación. Los valores (93.22% vs 95.31%) de estabilidad de espuma fueron similares para ambas harinas (**Cuadro 10**). Las propiedades fisicoquímicas de actividad de emulsión (**HMAC**=27.83%,

**HMABO=12.75%**) y de estabilidad de emulsión (**HMAC=74.93%**, **HMABO=70.29%**) tuvieron una disminución de -54.2% y -6.2%, respectivamente, en sus valores como consecuencia de la germinación del grano de maíz azul. Estas propiedades fisicoquímicas están ligadas a las características físicas y conformacionales de las proteínas, así como su composición de aminoácidos, determinando su funcionalidad dentro de un sistema. La conformación nativa de las proteínas globulares presentes en los granos, y, los aminoácidos polares expuestos hacia la fase acuosa, favorecen la solubilidad, emulsificación y propiedades espumantes (Sangronis y col, 2004).

**D ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDOS DE COMPUESTO FENÓLICOS TOTALES Y ANTOCIANINAS DE HARINA DE MAÍZ AZUL BIOPROCESADO OPTIMIZADA (HMABO)**  
**Capacidad Antioxidante**

La actividad antioxidante de la **HMAC**, evaluada por **ORAC**, fue de 2,289, 5,508 y 7,797  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox (ET)/100 g, bs para fitoquímicos libres, ligados y totales, respectivamente. La **AAox** de la **HMABO**, evaluada por **ORAC**, fue de 21,243, 25,571 y 46,984  $\mu\text{mol}$  ET/100 g, bs, para fitoquímicos libres, ligados y totales, respectivamente (**Cuadro 11**). Los valores de **AAox**, evaluada por los métodos de **ABTS** y **DPPH** tuvieron un comportamiento similar a la observada cuando se evaluó aplicando metodología **ORAC**. En harinas de maíz azul crudo (**HMAC**) la mayor contribución a la actividad antioxidante correspondió a los fitoquímicos ligados (**ORAC**: 70.64%; **ABTS**: 88.68%; **DPPH**: 74.48%), independientemente de la metodología utilizada para la evaluación. En harinas de maíz azul bioprocesado optimizadas (**HMABO**) se observó un fenómeno contrario; la mayor contribución a la actividad antioxidante correspondió a los fitoquímicos

**Cuadro 11.** Actividad antioxidante<sup>1</sup> y contenidos de compuestos fenólicos totales<sup>1</sup> y antocianinas de harina de maíz azul bioprocesado optimizada (**HMABO**)

<b>Propiedad</b>	<b>HMAC</b>	<b>HMABO</b>
<b>Actividad antioxidante<sup>2</sup></b>		
ORAC		
Fitoquímicos libres	2,289 <sup>b</sup>	21,413 <sup>a</sup>
Fitoquímicos ligados	5,508 <sup>b</sup>	25,571 <sup>a</sup>

Total	7,797 <sup>b</sup>	46,984 <sup>a</sup>
<b>ABTS</b>		
Fitoquímicos libres	828 <sup>b</sup>	8,517 <sup>a</sup>
Fitoquímicos ligados	6,484 <sup>b</sup>	12,803 <sup>a</sup>
Total	7,312 <sup>b</sup>	21,320 <sup>a</sup>
<b>DPPH</b>		
Fitoquímicos libres	433 <sup>b</sup>	1,677 <sup>a</sup>
Fitoquímicos ligados	1,264 <sup>b</sup>	2,608 <sup>a</sup>
Total	1,697 <sup>b</sup>	4,286 <sup>a</sup>
<b>Compuestos fenólicos totales<sup>3</sup></b>		
Fitoquímicos libres	68.89 <sup>b</sup>	174.53 <sup>a</sup>
Fitoquímicos ligados	118.95 <sup>b</sup>	161.53 <sup>a</sup>
Total	187.84 <sup>b</sup>	336.057 <sup>a</sup>
<b>Antocianinas<sup>4</sup></b>		
Total	26.23 <sup>b</sup>	28.83 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Las medias se separaron por renglones, aplicando la prueba de rangos múltiples de Duncan.

Medias con la misma letra no son diferentes ( $p < 0.05$ )

<sup>2</sup>  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox (ET)/100 g, bs

<sup>3</sup> mg equivalentes de ácido Gálico (EAG)/100g, bs

<sup>4</sup>  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Cianidina-3-Glucósido (C3G)/100 g, bs

libres (ORAC: 54.42%, **ABTS**:60.05%, **DPPH**:60.86%) sin dependencia del método empleado para su determinación (**Cuadro 11**).

El bioprocesamiento de semillas de maíz azul, aplicando condiciones optimizadas de germinación (**TG**=25.5°C/**tG**=220h) incrementó (**ORAC**: 502.6%, **ABTS**: 191.6%, **DPPH**: 152.6%) la actividad antioxidante de las mismas (**Cuadro 11**). Randhir y Shetty (2005) detectaron un incremento (**DPPH**: 81%) en **AAox** en extractos de semillas de maíz que se sometieron a germinación durante ocho días. Nava-Arenas y col (2008) observaron, un incremento (**DPPH**: 56%) en actividad antioxidante. al evaluar extractos etanólicos de germinados de maíz azul, en la fracción libre. Otros autores han reportado aumentos similares en la actividad antioxidante utilizando el bioproceso de germinación en otros granos como el trigo, haba, lupino, amaranto (Yang y col, 2001; Shetty y col, 2003; Fernández-Orozco y col, 2006; Perales-Sánchez y col, 2014).

Sharma y col (2016) llevaron a cabo investigación con el objetivo de optimizar las condiciones de germinación de mijo japonés (barnyard millet) var PRJ-1 con el propósito de mejorar la biodisponibilidad de compuestos bioactivos. Ellos consideraron como variables de proceso o independientes al tiempo de remojo (TR=8-16 h), temperatura (TG=21-41°C) y tiempo de germinación (tG=20-40 h) y como variables de respuesta contenido de compuestos fenólicos totales (**CFT**), flavonoides totales (**FT**) y actividad antioxidante (**AAox**) y utilizaron como herramienta de optimización la metodología de superficie de respuesta. Ellos observaron que incrementos en tiempo de remojo y en temperatura y tiempo de germinación redundaban en un incremento significativo en **AAox**, **CFT** y **FT**. Aplicando la función de deseabilidad encontraron que las mejores condiciones para la germinación de mijo japonés fueron: TR=11.78 h, TG=33°C, tG=36.48 h. Los resultados obtenidos indicaron que la harina de mijo japonés germinada optimizada presentaba una mayor actividad antioxidante y un mayor contenido de nutraceuticos que la harina de mijo japonés sin germinar.

### **Compuestos fenólicos totales**

Los compuestos fenólicos son considerados los principales contribuyentes a la **AAox** presentada por los granos. La **HMABO** tuvo un contenido de **CFT** mayor ( $p < 0.05$ ) que la **HMAC** (336.06 vs 187.84 mg equivalentes de ácido Gálico (EAG)/100g muestra, bs); el bioproceso de germinación en condiciones optimizadas causó un incremento (78.91%) en el contenido de **CFT** (**Cuadro 11**). En **HMAC** la fracción ligada contribuyó en mayor proporción al contenido de **CFT** con 63.3% del total; en **HMABO** la fracción libre contribuyó con el 51.93% del contenido de **CFT**.

Nava-Arenas y col (2008) reportaron incrementos de 154 al 160% en el contenido de **CFT** después de germinar el grano de maíz azul a 25°C durante 96 h. Sokrab y col (2012) observaron aumentos (+33%, +138%) en el contenido de **CFT** tras la germinación de dos variedades de maíz. Durante la germinación se activan enzimas que degradan la pared celular las cuales contribuyen a la modificación de la estructura de la pared celular en el grano. La importancia de esto, radica en el hecho de que los compuestos fenólicos como los ácidos Hidroxicinámicos (ácidos Ferúlico y p-Cumárico) se encuentran ligados a polisacáridos de la pared celular a través de enlaces de ésteres y éteres. La acción de los enzimas degradadores de la pared celular (principalmente esterasas) sobre los enlaces contribuye a la liberación de compuestos fenólicos. Por otro lado, la activación de la enzima Fenilalanina Amonio-Liasa (enzima clave en la biosíntesis de fenólicos) durante la germinación ha sido reportada (Duodu, 2014).

El contenido de antocianinas (**Ant**) de **HMAC** y **HMABO** fue de 26.23 y 28.83  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Cianidina-3-Glucósido (C3G)/100 g, bs; el bioproceso de germinación causó un incremento (+9.88%) en el contenido de **Ant**. Nava-Arenas y col (2008) reportaron un incremento (+43%) en el contenido de **Ant** como consecuencia de la germinación de maíz azul a 25°C /96 h. Estos aumentos están asociados a los cambios bioquímicos que ocurren durante este bioproceso: por un lado, hay una ruptura celular lo cual puede dejar biodisponibles dichos compuestos para su cuantificación y por otro lado durante la germinación de los granos, se promueven las respuestas de defensa a través de la biosíntesis de compuestos fenólicos, entre los cuales se sintetizan antocianinas.

## **IX CONCLUSIONES**

[1] Se generaron modelos de predicción adecuados y reproducibles [ $R^2 \geq 0.80$ , nivel de significancia  $p < 0.05$ , coeficiente de varianza (**CV**)  $\leq 10\%$ , prueba de falta de ajuste  $> 0.1$ ] para cada una de las variables de respuesta estudiadas [**AAox**, **CFT**, **Ant**, **% Prot**] para la optimización del bioproceso de germinación de semillas de maíz (*Zea mays* L) azul

[2] La mejor combinación de variables de bioproceso de germinación para obtener harina de maíz azul bioprocesado optimizada [**HMABO**], con valores máximos de **AAox**, **CFT**, **Ant**, **% Prot**, fue: **TG**= 25.5°C/**tG**= 220 h. Al aplicar la función de deseabilidad, como técnica de optimización, se obtuvo una deseabilidad global (**D**) de 0.94

[3] El bioproceso de germinación incrementó ( $P < 0.05$ ) los contenidos de proteína [+38.48%] y fibra dietaria total [+120%] y disminuyó [-35.56%] el contenido de lípidos en maíz azul

[4] El bioproceso de germinación tuvo un efecto positivo sobre algunas propiedades fisicoquímicas de la harina de maíz azul; incrementó ( $P < 0.05$ ) los índices de absorción [+117.7%] y solubilidad de agua [+211.7%], índice de absorción de aceite [+57.5%], dispersabilidad [+245.8%] y capacidad de formación de espuma [+30.52]

[5] Se observaron incrementos ( $P < 0.05$ ) en actividad antioxidante [**AAox**: **ORAC**:+503%, **ABTS**:+192%, **DPPH**:+153%], contenidos de compuestos fenólicos totales [**CFT**: +79%] y antocianinas [**Ant**: 9.9%] por efecto de la germinación se semillas de maíz azul en condiciones optimizadas

[6] La metodología de superficie de respuesta es una herramienta útil para la optimización del bioproceso de germinación de maíz azul para la obtención de una harina funcional de maíz azul bioprocesado con valor nutricional / nutracéutico alto.

## X BIBLIOGRAFIA

Abdel-Aal ES, Young MJC, Rabalski I. 2006. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple and red cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:4696-4704

- Abdel-Aal ESM, Hucl P. 1999. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry* 76:350-354
- Adom KK, Liu RH. 2002. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:6182-6187
- Agama-Acevedo E, Ottenhof MA, Farat I, Paredes-López O, Ortiz-Cereceres J, Bello-Pérez LA. 2004. Efecto de la nixtamalización sobre las características moleculares del almidón de variedades pigmentadas de maíz. *Interciencia* 29:643-649
- Agama-Acevedo E, Ottenhof MA, Farat I, Paredes-López O, Ortiz-Cereceres J, Bello-Pérez LA. 2005. Aislamiento y caracterización de maíces pigmentados. *Agrociencia* 39:419-429
- Agama-Acevedo E, Salinas-Moreno Y, Pacheco-Vargas G, Bello-Pérez LA. 2011. Características físicas y químicas de dos razas de maíz azul: morfología del almidón. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2:317-329.
- Agama-Acevedo E. 2006. Caracterización Morfológica, Fisicoquímica y Molecular de Almidones de Maíces Pigmentados y Estudios Bioquímicos de las Enzimas Involucradas en su Biosíntesis. Tesis Doctorado. Universidad Autónoma de Querétaro, QRO, México. 124 pp
- Alvarez-Jubete L, Wijngaard H, Arendt EK, Gallagher E. 2010. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa, buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry* 119:770-778.
- Anderson E, Cutler HC. 1942. Races of *Zea mays* L. Their recognition and classification. *Annals of Missouri Botanical Garden* 29:69-88.
- AOAC. 1999. Official Methods of Analysis 16<sup>o</sup> Ed. Harla, Association of Official Analytical Chemists. St. Paul, EUA.
- Arellano VJL, Tut-Couoh C, Ramírez AM, Salinas M, Taboada G. 2003. Maíz azul de los Valles Altos de México. I: Rendimiento de grano y caracteres agronómicos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 26:101-107.
- Argüello-Moncayo S, Carrera-Garzón G. 2012. Efecto de la Temperatura y el Tiempo de Remojo en la Germinación de Maíz Morado (*Zea mays*), Quinoa (*Chenopodium quinoa*) y Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) para Incrementar su Valor Proteico. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente – Escuela de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Estatal de Bolívar, Guaranda, Ecuador, 129 pp
- Arruzazabala ML, Carbajal D, Mas R, Molina V, Valdes S, Laguna A. 1994. Cholesterol lowering effects of polyicosanol on rabbits. *Biological Research* 27:205-208
- Arruzazabala ML, Valdes S, Mas R, Fernández L, Carbajal D. 1996. Effect of polyicosanol successive dose increase on platelet aggregation in healthy volunteers. *Pharmacological Research* 34:181-185
- Asanoma M, Takahashi K, Miyabe M, Yamamoto K, Yoshimi N, Mori H, Kawazoe Y. 1993. Inhibitory effect of topical application of polymerized ferulic acid, a synthetic lignin, on tumor promotion in mouse skin two stage tumorigenesis. *Carcinogenesis* 1:1321-1325.



- Ayernor GS, Ocloo FCK. 2007. Physicochemical changes and diastatic activity associated with germinating paddy rice (PSB.Rc 34). *African Journal of food Science* 1:37–41.
- Azeke MA, Egielewa SJ, Eigbogbo MU, Ihimire IG. 2011. Effect of germination on the phytase activity, phytate and total phosphorus contents of rice (*Oryza sativa*), maize (*Zea mays*), millet (*Panicum miliaceum*), sorghum (*Sorghum bicolor*) and wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Food Science and Technology* 48:724-729.
- Balasubashini MS, Rukkumani R, Viswatnathan P, Menon VP. 2004. Ferulic acid alleviates lipid peroxidation in diabetic rats. *Phytotherapy Research* 18:310-314.
- Barrón-Yáñez MR, Villanueva-Verduzco C, García-Mateos MR, Colinas-León MT. 2009. Valor nutricional y contenido de saponinas en germinados de huauzontle (*Chenopodium nuttalliae* Saff.), Calabacita (*Cucurbita pepo* L.), Canola (*Brassica napus* L.) y Amaranto (*Amaranthus leucocarpus* S. Watson syn. *hypochondriacus* L.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15:237-243
- Bazúa CD, Guerra R, Sterner H. 1979. Extruded corn flour as an alternative to lime - heated corn flour for tortilla preparation. *Journal of Food Science* 44:940.
- Bedolla S, Rooney LW. 1984. Characteristics of US and Mexican instant maize flours for tortilla and snack preparation. *Cereal Foods World* 29:732-735.
- Beltrán-Peña EM, Ortíz-López A, Sánchez de Jiménez E. 1995. Synthesis of ribosomal proteins from stored mRNAs early in seed germination. *Plant Molecular Biology* 28: 327-336.
- Betrán FJ, Bockholt AJ, Rooney L. 2001. Blue Corn. En: "Specialty Corns" Hallauer AR (ed), Iowa State University, Ames Iowa, EUA pp 293-337
- Bewley JD. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell* 9: 1055-1066
- Biliaderis CG. 1991. The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 69:60-78.
- Blanco-Gómez EA, Sanchez-González EA, Valladares MN, Olvera-Clarita AG. 2008. Identificación de Microorganismos Aislados del Nejayote. Congreso Regional QFB 2008, 08-11 abril 2008, San Nicolás de los Garza, NL, México
- Boyer C, Shannon J. 2001. Carbohydrates of the kernel, corn: Chemistry and technology. *Journal of Cereal Science* 1:253-272.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Science and Technology* 28:25-30.
- Bressani R. 1972. La importancia del maíz en la nutrición humana en América Latina y otros países en mejoramiento nutricional del maíz. *Soya Noticias (Asociación Americana de la Soya)* 65:1-8
- Bressani R. 1990. Chemistry, technology and nutritive value of maize tortillas. *Food Reviews International* 62:225-264
- Brouillard R. 1982. Chemical Structure of Anthocyanins. En: "Anthocyanins as Food Colors". Markakis P (ed). Academic Press, New York, NY, EUA pp 1-38
- Burkholder PR, McVeigh I. 1942. The increase of B vitamins in germinating seeds. *Proceedings of the National Academic of Sciences USA* 28:440–446

- Burkholder PR. 1943. Vitamins in dehydrated seeds and sprouts. *Science* 97:562–564.
- Bustillos EP. 1997. Cuantificación y Elucidación Estructural de Compuestos Pigmentados Presentes en Maíces Criollos Azul y Rojo. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, México 101 pp
- Cabrera-Soto ML, Salinas-Moreno GA, Velázquez-Cardelas E, Espinosa-Trujillo. 2009. Content of soluble and insoluble phenols in the structures of corn grain and their relationship with physical properties. *Agrociencia* 43:827-839
- Camire ME, Caminre A, Krumhar K. 1990. Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. *Critical Reviews in Food Science Nutrition* 29:35-57
- Camire ME. 2003. Extrusion Cooking. En: “The Nutrition Handbook for Food Processors”, Henry CJK, Chapman C (ed). WoodheadPublishing Limited, Cambridge, Reino Unido pp 314–330.
- Cao G, Verdon CP, Wu AHB, Wang H, Prior RL. 1995. Automated oxygen radical absorbance capacity assay using the COBAS FARA II. *Clinical Chemistry* 41: 1738-1744.
- Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández ML, Páez-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* 113:859-871.
- Chattopadhyay H, Banerjee S. 1951. Studies on the choline content of some common indian pulses and cereals both before and during the course of germination. *Journal of Food Science* 16: 230–232.
- Chavan JK, Kadam SS, Beuchat LR. 1989. Nutritional improvement of cereals by sprouting. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 28:401-437.
- Chen LH, Well SCE, Fordham JR. 1975. Germinated seeds for human consumption. *Journal of Food Science* 40:1290-1294
- Coe EH. 1955. Anthocyanin synthesis in maize, the interaction of A2 and Pr in leucoanthocyanin accumulation. *Genetics* 40:568 (Abstract).
- Colmenares de Ruiz AS, Bressani R. 1990. Effect of germination on the chemical composition and nutritive value of amaranth grain. *Cereal Chemistry* 67:519-522.
- CONABIO. 2011. Base de datos del proyecto global “Recopilación, Generación, Actualización y Análisis de Información Acerca de la Diversidad Genética de Maíces y sus Parientes Silvestres en México”. Octubre de 2010. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, DF. <http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/proyectoMaices.html>.
- Cone KC. 2007. Anthocyanin synthesis in maize aleurone tissue. *Plant Cell Monographs* 8:121-139
- Cornejo M. 2003. Estudio del Proceso de Obtención de Tortillas en las Antocianinas del Maíz Azul. Tesis de Maestría. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional, México DF, México pp 35-40.
- Cuevas-Rodríguez EO, Verdugo-Montoya NM, Angulo-Bejarano PI, Milán-Carrillo J, Mora-Escobedo R, Bello-Pérez LA, Garzón-Tiznado JA, Reyes-Moreno C.

2006. Nutritional properties of tempeh flour from quality protein maize (*Zea mays* L.). *LWT Food Science and Technology* 39:1072-1079
- De la Parra C, Serna-Saldívar SO, Liu RH. 2007. Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn production of masa, tortillas and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:4177-4183
- Dedossis GVZ, Kaliora AC, Andrikopoulos Nk. 2005. Effect of phenols on natural killer (NK) cell-mediated death in the K562 human leukemic cell line. *Cell Biology International* 29:884-889.
- Del Pozo-Insfran D, Brenes CH, Serna-Saldívar SO, Talcott ST. 2006. Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. *Food Research International* 39:696-703
- Derringer G, Suich R. 1980. Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of Quality Technology* 12:214-219.
- Diana M, Quílez J, Rafecas M. 2014. Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: A review. *Journal of Functional Foods* 10:40-420
- Dickerson GW, Holcomb GB. 1992. A small-scale agriculture alternative: Specialty corns. USDA Cooperative State Research Service. Internet. <http://www.sfc.ucdavis.edu/pubs/brochures/Specialtycorns.html>.
- Dickerson GW. 1996. Nutritional Analysis of New Mexico Blue corn and Dent Corn Kernels, Extension Horticulture Specialist. Internet. [http://www.cahe.nmsu.edu/cahe/redtops/\\_h/h-233.html](http://www.cahe.nmsu.edu/cahe/redtops/_h/h-233.html).
- Dickerson GW. 2003. Nutritional Analysis of New Mexico Blue Corn and Dent corn Kernels. Cooperative Extension Service, College of Agriculture and Home Economics. New Mexico State University, Las Cruces, NM, EUA, pp 2
- Dickerson GW. 2008. Nutritional analysis of New Mexico blue corn and dent corn kernels. *Cooperative Extension of Agriculture* 20:7-8
- Dinkova TD, Aguilar R y Sánchez de Jiménez E. 2000. Expression of Maize eukaryotic initiation factor (eIF) isoelF4E is regulated at the translational level. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 16:385-386
- Doebley JF, Iltis HH. 1980. Taxonomy of *Zea* (GRAMINEAE). A subgeneric classification with key to taxa. *American Journal of Botany* 67:982-993
- Doebley JF. 2003. The Taxonomy of *Zea*. <http://teosinte.wisc.edu/taxonomy.html>.
- Doebley JF. 2004. The genetics of maize evolution. *Annual Review of Genetics* 38:37-59
- Dueñas M, Hernández T, Estrella I, Fernández D. 2009. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). *Food Chemistry* 117:599-607
- Duke JA. 1969. On tropical tree seedlings. I. Seeds, seedlings, systems, and systematics. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 56:125-162
- Duodu KG. 2014. Effects of processing on phenolic phytochemicals in cereal and legumes. *Cereal Foods World* 59:64-70.
- Dure LS. 1975. Seed formation. *Annual Review of Plant Physiology* 26: 259-278.

- Dyke MB. 1918. Report on an outbreak of scurvy in the south african native labour corps. *THE LANCET* 192:513–515
- Eames AJ. 1961. Morphology of the Angiosperms. McGraw-Hill Book Company, New York, NY, EUA pp ----
- Earle FR, Curtis JJ, Hubbard JE. 1946. Composition of the component parts of the corn kernel. *Cereal Chemistry* 23:504-511
- Eastman J, Orthoefer F, Solorio S. 2001. Using extrusión to create breakfast cereal products. *American Association of Cereal Chemists* 46: 468-471.
- Egesel CO, Wong JC, Lambert RJ, Rocheford TR. 2003. Combining ability of maize inbreds for carotenoids and tocopherols. *Crop Science* 43:818-823
- Elkhalifa AEO, Bernhardt R. 2010. Influence of grain germination on functional properties of sorghum flour. *Food Chemistry* 121:387-392.
- Elmalik HB, Babiker EE, El Tinay AH. 1999. Changes in chemical composition, grain malting, starch and tannin contents and protein digestibility during germination of sorghum cultivars. *Food Chemistry* 64:331-336.
- Elmalik M, Klopfenstein C, Hosney RC, Bates LS. 1986. Effects of germination on the nutritional quality of sorghum grain with contrasting kernel characteristics. *Nutrition Reports International* 34:941
- Escalante-Aburto A, Ramírez-Wong B, Torres-Chávez PI, Barrón-Hoyos JM, Fiqueroa-Cárdenas JD, López-Cervantes J. 2013. La nixtamalización y su efecto en el contenido de antocianinas de maíces pigmentados. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36:429 – 437
- Escribano-Bailón MT, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC. 2004. Anthocyanins in cereals. *Journal of Chromatography A* 1054:129-141.
- Esperón-Rojas AA, Monroy-Rivera JA. 2011. Cambios en el contenido de lisina, triptofano y su relación con el incremento de la calidad proteica durante la germinación de tres variedades de maíz (H-512, H-530, VS-536). Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos (UNIDA), Instituto Tecnológico de Veracruz. XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Sociedad Mexicana de Biotecnología e Ingeniería, 19-24 junio, Querétaro, QRO, MEX.
- Espinosa GBM. 2003. Antocianinas en Maíces de Grano pigmentado (*Zea mays* L.) y Medición de su Actividad Antioxidante. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo, EDOMEX, MEX 69 pp
- Esteva G. 2003. Los Árboles de las Culturas Mexicanas. En: “Sin Maíz No hay País”. Primera edición, Consejo Nacional para la Cultura y las Artes Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, Anaya JV (ed), ISBN 970-35-0434-5 pp 17-18
- Fabila-Carrera G. 1998. Diseño y Análisis de Experimentos Industriales 1ª edición. Universidad Iberoamericana, México, DF, MEX
- Fageer ASM, Babiker EE, El-Tinay AH. 2004. Effect of malt pretreatment and/or cooking on phytate and essential amino acids contents and in-vitro protein digestibility of corn flour. *Food Chemistry* 88:261-265

- FAO. 1970. Contenido de Aminoácidos de los Alimentos. Datos Biológicos sobre las Proteínas. Roma, Italia
- FAO. 1993. El Maíz en la Nutrición Humana. Colección FAO: Alimentación y Nutrición, N°25. Maíz 2. Nutrición Humana I. Título II: Roma, Italia. Serie Código. ISBN 92-5-303013-51
- FAO/ OMS/ UNU.1985. Necesidades de Energía y de Proteínas. Informe de una Reunión Consultiva Conjunta de Expertos. Serie de Informes Técnicos 724. Roma. FAO, Food and Agriculture Organization. 2012. FAOSTAT Base de Datos Estadísticos. <http://faostat.fao.org>. Roma, Italia
- Fernández-Orozco R, Piskula MK, Zielinski H, Kozłowska H, Frias J, Vidal-Velarde C. 2006. Germination as a process to improve the antioxidant capacity of *Lupinus angustifolius* L. var. Zapaton. *European Food Research and Technology* 223: 495 – 502
- Figueroa CJ, Martínez BF, González HJ, Sánchez SF. 1994. Modernización tecnológica del proceso de nixtamalización. *Avances y Perspectivas* 13:323-329.
- Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytology* 171: 501–23.
- Flores-Farías R, Martínez-Bustos F, Salinas-Moreno Y, Chang YK, González-Hernandez J, Rios E. 2000. Physicochemical and rheological characteristics of comercial nixtamalixed mexican maize flour tortillas. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:657-664
- Fujiwara S, Sakurai S, Sugimoto I, Awata N. 1983. Absorption and metabolism of gamma-oryzanol in rats. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 31:645–652.
- Fukumoto L, Mazza G. 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:3597-3604
- Galinat WC. 1977. The Origin of Corn. En: “Corn and Corn Improvement”. Sprague GF (ed). American Society of Agronomy, Inc. Publisher. Madison, WI, EUA, pp 1-47
- Gallie DR, Le H, Tanguay RL, Browning KS. 1998. Translation initiation factors are differentially regulated in cereals during development and following heat shock. *The Plant Journal* 14:715–722.
- Garcarrubio A, Legaria JP, Covarrubias A. 1997. Absciscic acid inhibits germination of mature Arabidosis seeds by limiting the availability of energy and nutrients. *Planta* 203:182-187.
- Gaspar T, Kevers C, Penel C, Greppin H, Reid DM, Thorpe TA. 1996. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant* 32: 272-289.
- Ghorpade VM y Kadam SS. 1988. Germination. En: “Handbook of World Food Legumes: Nutritional Chamestry Processing Techology and Utilization”. Vol III. Salunkhe Dk, Kadman SS (ed), CRC Press, Boca Raton, FL, EUA, pp 165-176.

- Gómez MH, McDonough CM, Rooney LW, Wanishka RD. 1989. Changes in corn and sorghum during nixtamalization and tortilla baking. *Journal of Food Science* 53:330-336.
- Gomez-Favela MA, Perales-Sanchez JXK, Milan-Carrillo J, Romero-Navarro G, Mora-Rochin, S, Gutierrez-Dorado R, Reyes-Moreno C. 2012. Nutraceutical beverage from germinated amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) flour with high antioxidant activity and protein content. *Cereal Foods World* 57:47
- Gómez-Ortiz, S. 1982. Cambios en la Concentración de Lisina durante la Germinación del Amaranto. Tesis de Licenciatura. ENCB-IPN. México, DF, MEX.
- González R, Reguera E, Mendoza L, Figueroa JM, Sánchez-Sinécio F. 2004. Physicochemical changes in the hull of corn grains during their alkaline cooking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:3831-3837
- González-Manzano S, Pérez-Alonso JJ, Salinas-Moreno Y, Mateus N, Silva MSA, de Freitas V, Santos-Buelga C. 2008. Flavonol-anthocyanin pigments in corn: NMR characterisation and presence in different purple corn varieties. *Journal of Food Composition Analysis* 21:521-526
- Goñi I, García-Díaz L, Mañas E, Saura-Calixto F. 1996. Analysis of resistant starch: A method for foods and food products, *Food Chem.* 56:445-449.
- Goodman MM y McK-Bird R. 1977. The races of maize IV: Tentative grouping of 219 Latin American races. *Economic Botany* 31:204-221.
- Graf E. 1992. Antioxidant potential of ferulic acid. *Free Radical Biology and Medicine* 13:435-448.
- Guo H, Xia M, Zou T, Ling W, Zhong R, Zhang W. 2012. Cyanidin 3-glucoside attenuates obesity-associated insulin resistance and hepatic steatosis in high-fat diet-fed and db/db mice via the transcription factor FoxO1. *Journal of Nutritional Biochemistry* 23:349-360
- Gupta U y Kar R. 2008. Optimization and scale up of cellulase free endo xylanase production by solid state fermentation on corn cob and by immobilized cells of a thermotolerant bacterial isolate. *Jordan Journal of Biological Science* 3:129-134
- Gutierrez-Urbe JA. 2003. Efecto de la Germinación sobre el Contenido de Isoflavonas del Frijol Negro (*Phaseolus vulgaris* L) y su Capacidad para Inhibir el Crecimiento de Células Cancerosas de Mama Hormonodependientes. Tesis Maestría. Instituto Tecnológico de Monterrey, Monterrey, NL, MEX
- Hagiwara A, Miyashita K, Nakanishi T, Sano M, Tamano S, Kado-ta T, Koda T, Nakamura M, Imaida K, Ito N, Shirai T. 2001. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Letters* 171:17-25.
- Halliwell B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Research Communications* 9: 1-32.

- Han X, Shen T, Luo H. 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences* 8:950-988.
- Harborne JB, Gavazzi G. 1969. Effect of Pr and pr alleles on anthocyanin biosynthesis in *Zea mays*. *Phytochemistry* 8:999-1001
- Harborne JB, Self R. 1987. Malonated Cyanidin3Glucosides in *Zea mays* and other grasses. *Phytochemistry* 26:2417-2418
- Harlan JR, de Wet JMJ. 1971. Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon* 20:509-517.
- Harshberger JW. 1896. Maize, a Botanical and Economic Study. Contributions of the Botanical Laboratory, University of Pennsylvania, PH, EUA, pp. 75-202.
- Hayakawa K, Kimura M, Kasaha K, Matsumoto K, Sansawa H, Yamori Y. 2004. Effect of a  $\gamma$ -aminobutyric acid-enriched dairy product on the blood pressure of spontaneously hypertensive and normotensive Wistar–Kyoto rats. *British Journal of Nutrition* 92:411- 417
- Hernández X, Alanís FG. 1970. Estudio morfológico de cinco nuevas razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México: Implicaciones filogenéticas y fitogeográficas. *Agrociencia* 5: 3-30.
- Hernández XE. 1985. Maize and man in the Greater Southwest. *Economic Botany* 39:416-430.
- Hernández-Uribe JP, Agama-Acevedo E, Islas-Hernández JJ, Tovar J, Bello-Pérez LA. 2007. Chemical composition and in vitro starch digestibility of pigmented corn tortilla. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87:2482-2487
- Holdsworth MJ, Bentsink L, Soppe WJJ. 2008. Molecular networks regulating Arabidopsis seed maturation, after - ripening, dormancy and germination. *New Phytologist* 179: 33–54.
- Huang WY, Cai YZ, Zhang Y. 2010. Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: Potential use for cancer prevention. *Nutrition and Cancer* 62:1-20
- Hwang JY, Shue YS, Chang HM. 2001. Antioxidant activity of roasted and defatted peanut kernels. *Journal Food Research International* 34:639–647.
- Hwang KT, Kim JE, Weller CL. 2005. Policosanol contents an composition in wax like materials extracted from selected cereals of Korean origin. *Cereal Chemistry* 82:242-245
- Ichikawa H, Ichiyanagi T, Xu B, Yoshii Y, Nakajima M, Konishi T. 2001. Antioxidant activity of anthocyanin extract from purple black rice. *Journal of Medicinal Foods* 4:211-218.
- Iltis HH, Doebley JF. 1980. Taxonomy of *Zea* (*Gramineae*). II. Subspecific categories in the *Zea mays* complex and a generic synopsis. *American Journal of Botany* 67:994- 1004.
- Imam M, Ishaka A, Ooi DJ, Zamri N, Sarega N, Ismail M, Esa NM. 2014. Germinated brown rice regulates hepatic cholesterol metabolism and cardiovascular disease risk in hypercholesterolaemic rats. *Journal of Functional Foods* 8:193–203.

- Inglett GE. 1970. Corn: Culture, Processing, Products. Ed. AVI Publishing Company, Inc., London, England, UK
- Jackson DS, Shandera JR. 1995. Corn wet milling: separation chemistry and technology. *Advances in Food and Nutrition Research* 38:271-297
- Janicke B, Hegardt C, Krogh M, Önning G, Åkesson B, Cirenajwis HM, Oredsson SM. 2011. The antiproliferative effect of dietary fiber phenolic compounds ferulic acid and p-coumaric acid on the cell cycle of Caco-2 cells. *Nutrition and Cancer* 63:611-622
- Jannoey P, Niamsup H, Lumyong S, Suzuki T, Katayama T, Chairote G. 2010. Comparison of gammaaminobutyric acid production in Thai rice grains. *World Journal of Microbial Biotechnology* 26:257–263.
- Jing P, Bomser JA, Schwartz SJ, He J, Magnuson BA, Giusti MM. 2008. Structure-function relationship of anthocyanins from various anthocyanin-rich extracts on the inhibition of colon cancer cell growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:9391-9398
- Johnson DL, Jha MN. 1996. Blue Corn. En: "New Crops", Janick J, Simon JE (ed), Wiley, New York, NY, EUA pp 228-230
- Kato-Yamakake TÁ, Mapes-Sánchez C, Mera-Ovando LM, Serratos-Hernández JA, Bye-Boettler RA. 2009. Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica, UNAM-CONABIO, México, DF, MEX 116 pp
- Kawabata K, Yamamoto T, Hara A, Shimizu M, Yamada Y, Matsunaga K, Tanaka T, Mori H. 2000. Modifying effects of ferulic acid on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *Cancer Letters* 157:15-21
- Keleman A y Hellin J. 2009. Specialty maize varieties in Mexico: A case study in market-driven agro-biodiversity conservation. *Journal of Latinoamerican Geography* 8:147-174.
- Kermode AR. 1990. Regulatory mechanisms involved in the transition from seed development to germination. *Critical Reviews in Plant Sciences* 9:155-195.
- Khuri AI, Cornell JA. 1987. Response Surfaces, Marcel Dekker, New York, NY, EUA
- King J. 1991. The Genetic Basis of the Plant Physiological Processes. Oxford University Press. New York, NY, USA, pp: 347-393.
- Kleinrok Z, Matuszek M, Jesipowicz J, Opolski A, Radzikowski C. 1998. GABA content and GAD activity in colon tumors taken from patients with colon cancer or from xenografted human colon cancer cells growing as S.C. tumors in a thymic nu/nu mice. *Journal of Physiology and Pharmacology* 49:303–310.
- Kroon PA, Faulds CB, Ryden P, Robertson JA, Williamson G. 1997. Release of covalently bound ferulic acid from fiber in the human colon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45:661–667.
- Legaria-Solano J, Ponce-Romero G y Muñoz-Orozco A. 2000. Efecto del estrés osmótico sobre la germinación de las semillas y el crecimiento de plántulas de trigo (*Triticum aestivum* L.) y amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.). *Revista Fitotécnica Mexicana* 23:153- 166.
- Lesca P. 1983. Protective effects of ellagic acid and other plant phenols on benzo [a] pyrene-induced neoplasia in mice. *Carcinogenesis* 4:1651-1653.



- Lindeboom N, Chang PR, Tyler RT. 2004. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. *Starch/Starke*. 56:89-99.
- Liu RH. 2003. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition* 78(suppl):517S-520S.
- Liu RH. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *American Journal of Clinical Nutrition* 134:3479S-3485S.
- Loo G. 2003. Redox-sensitive mechanisms of phytochemical mediated inhibition of cancer cell proliferation. *Journal of Nutritional Biochemistry* 14: 64-73
- López-Martínez LX, Parkin KL, García HS. 2011. Phase II-inducing, polyphenols content and antioxidant capacity of corn (*Zea mays* L.) from phenotypes of white, blue, red and purple colors processed into masa and tortillas. *Plant Foods for Human Nutrition* 66:41-47.
- Lorenz K. 1980. Cereal sprouts: nutritive value, food applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 13:353-385
- Luna-Mena BM, Hinojosa-Rodríguez MA, Ayala-Garay OJ, Castillo-González F, Mejía-Contreras JA. 2012. Perspectivas de desarrollo de la industria semillera de maíz en México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35:1-7
- Lwin KM, Myint MM, Tar T, y Aung WZ M. 2012. Isolation of plant hormone (indole-3-acetic acid-IAA) producing rhizobacteria and study on their effects on maize seedling. *Engineering Journal* 16:137-144.
- Mallesh NG, Desikachar HSR. 1986. Nutritive value of malted millet flours. *Plant Foods for Human Nutrition* 36:191-196.
- Malomo O, Alamu AE, Oluwajoba SO. 2013. The effect of sprouting on the *in-vitro* digestibility of maize and cowpea. *Journal of Advanced Laboratory Research in Biology* 4:72-76
- Mangelsdorf PC. 1974. Corn. Its Origin, Evolution, and Improvement. The Belknap Press of Harvard University Press. Cambridge, MA, EUA
- Martínez FH. 1997. Estudios Bioquímicos y Nutricionales en Tortillas de Maíz Elaboradas por un Proceso de Extrusión. Tesis de Doctorado. Centro de investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politecnico Nacional, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. México, DF, MEX, pp: 7-35.
- McK-Bird R, Goodman MM. 1977. The races of maize V: Grouping maize races on the basis of ear morphology. *Economic Botany* 31:471-481
- Mei YQ, Song SQ. 2008. Early morphological and physiological events occurring during germination of maize seeds. *Agricultural Sciences in China* 7:950-957
- Méndez G, Solorza J y Paredes O. 2005. Composición química y colorimétrica de híbridos y variedades de maíz. *Revista Agrociencia* 39:267-274
- Meredith P, Pomeranz Y. 1985. Sprouted grain. En: Advances in Cereal Science and Technology. Pomeranz Y (ed.). *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul MN, EUA, pp. 239-320.
- Milán-Carrillo J, Gutiérrez-Dorado R, Perales-Sánchez JXK, Cuevas-Rodríguez EO, Ramírez-Wong B, Reyes-Moreno C. 2005. The optimization of the extrusión

- process when using maize flour with a modified amino acid profile for making tortillas. *International Journal of Food Science and Technology* 40:1-11
- Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C, Armenta-Rodelo E, Carábez-Trejo A y Mora-Escobedo R. 2000. Physicochemical and nutritional characteristics of extruded flours from fresh and hardened chickpeas (*Cicer arietinum* L). *LWT – Food Science and Technology* 33:17-123
- Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C, Camacho-Hernández IL, Rouzaud-Sandez O. 2002. Optimization of extrusion process to transform hardened chickpeas (*Cicer arietinum* L) into a useful product. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82:1718-1728
- Minuk GY. 2000. GABA and hepatocellular carcinoma. *Molecular and Cellular Biochemistry* 207:105–108
- Mishra S, Raid T. 2006. Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. *Food Hydrocolloids* 20:557-566
- Moongngarm A, Saetung, N. 2010. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germination rough rice and brown rice. *Food Chemistry* 122: 782-788
- Mora-Escobedo R, Paredes-López O, Dominguez J. 1991. Optimization of germination procedure by response surface methodology. *LWT – Food Science and Technology* 24:51
- Mora-Rochín S, Gutiérrez-Urbe JA, Serna-Saldívar SO, Sánchez-Peña P, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented corns processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. *Journal of Cereal Science* 52:502-508
- Moueiim ZSA, El Tinay AH y Abdalla AWH. 1996. Effect of germination on protein fractions of corn cultivars. *Food Chemistry* 57:381-384
- Muñoz OA. 2003. Centli-maíz. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo México, MEX, 210 pp
- Murphy MP, Thompson FW. 1988. Molecular Plant Development. Prentice Hall, EUA, Pp: 1-29.
- Nava-Arenas D, Jimenez-Aparicio A, Hernández-Sánchez H. 2008. Optimization of germination conditions of blue corn (*Zea mays* L.) by Taguchi orthogonal array methodology. *Asian Journal of Plant Sciences* 7:682–686
- Oh CH, Oh SH. 2004. Effects of germinated brown rice extracts with enhanced levels of GABA on cancer cell proliferation and apoptosis. *Journal of Medicinal Food* 7:19-23.
- Oh SH, Moon YJ, Oh CH. 2003.  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) content of selected uncooked foods. *Journal of Food Sciences and Nutrition* 8:75–78.
- Ohnishi M, Matuo T, Tsuno T, Hosoda A, Nomura E, Taniguchi H, Susaki H, Morishita H. 2004. Antioxidant activity and hypoglycemic effect of ferulic acid in streptozotocin induced diabetic mice and KK-A<sup>y</sup> mice. *Biofactors* 21:315-319, 2004.

- Ohtsubo K, Suzzuki K, Yasui Y, Kasumi T. 2005. Bio-funcional components in the processed pre-germinated Brown rice by a twin-screw exder. *Journal of Food Composition and Analysis* 18:303-316
- Okada T, Sugishita T, Murakami T, Murai H, Saikusa T, Horino T, Onoda A, Kajmoto O, Takahashi R, Takahashi T. 2000. Effect of the defatted rice germ enriched with GABA for sleeplessness depression, autonomic disorder by administration. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology* 47:596–603.
- Omary MB, Fong C, Rothschild J, Finney P. 2012. Effects of germination on the nutritional profile of gluten-free cereals and pseudocereals: A review. *Cereal Chemistry* 89:1-14.
- Opolski A, Mazurkiewicz M, Wietrzyk J, Kleinrok Z, Radzikowski C. 2000. The role of GABA-ergic system in human mammary gland pathology and in growth of transplantable murine mammary cancer. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research* 19:383–390.
- Ortega PR. 2003. La Diversidad del Maíz en México. En: “Sin Maíz no hay País” Esteva G, Marielle C (ed), CONACULTA. México DF, MEX, pp 123-154.
- Ortega PRA, Sánchez GJJ, Catillo GF, Hernández CJM. 1991. Estado Actual de los Estudios sobre Maíces Nativos en México. En: “Avances en el Estudio de los Recursos Filogenéticos de México”. Ortega PRA, Palomino H, Castillo G, González H, Livera M (ed), SOMEFI. Chapingo, Estado de México, MEX pp 161-185
- Ou B, Hampsch-Woodill M y Prior RL. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:4619-4626.
- Palacios JPC. 1990. Poly (ferulic acid) by oxalyl chloride activated polycondensation. *New Polymeric Materials* 2:167–174
- Pannala AS, Sigh S y Rice E C. 1998. Flavonoids as peroxynitrie scavengers. *Methods in Enzymology* 299:207-235.
- Paredes-López O, Guevara-Lara F, Bello-Pérez LA. 2006. Los Alimentos Mágicos de las Culturas Indígenas Mesoamericanas. Fondo de Cultura Económica, México, MEX
- Paredes-López O, Guevara-Lara F, Bello-Pérez LA. 2009. La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias* 92:60-70.
- Paredes-López O, Mora-Escobedo R. 1989. Germination of amaranth seeds: Effects on nutrient composition and color. *Journal of Food Science* 54:761-762.
- Parera CA, Cantliffe DJ. 1991. Improved germination and modified imbibition of shrunken-2 sweet corn by seed disinfection and solid matrix priming. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 116:942-945.
- Patiño EB, Carmona MZ, Terranoya WS, Aguiar MLB. 1998. Efecto del germinado de maíz sobre el perfil lipídico, la hemoglobina y la uricemia. *Iatreia* 11:11.
- Pedreschi R, Cisneros-Zevallos L. 2007. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chemistry* 100:956-963

- Pedroche J, Yust MM, Lqari H, Giron J; Calle J, Alaiz M, Vioque J, Millan F. 2004: Brassica carinata protein isolates: Chemical composition, protein characterization and improvement of functional properties by protein hydrolysis. *Food Chemistry* 88:337-346
- Perales RH, Golicher D. 2011. Modelos de Distribución para las Razas de Maíz en México y Propuesta de Centros de Diversidad. Informe Técnico preparado para la CONABIO. ECOSUR. Chiapas, MEX, 108 pp
- Perales-Sánchez JXK, Reyes-Moreno C, Gómez-Favela M, Milán-Carrillo J, Cuevas-Rodríguez EO, Valdez-Ortiz A, Gutiérrez-Dorado R. 2014. Increasing the antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents by optimizing the germination conditions of amaranth seeds. *Plant Foods for Human Nutrition* 69:196-202
- Perata P, Guglielminetti L, y Alpi A. 1997. Mobilization of endosperm reserves in cereal seeds under anoxia. *Annals of Botany* 79A:49–56.
- Polthum P, Ahromrit A. 2014. GABA content and antioxidant activity of Thai waxy corn seeds germinated by hypoxia method. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology* 36:309-316
- Prakash G y Srivastava AK. 2007. Azadirachtin production in stirred tank reactors by *Azadirachta indica* suspension culture. *Process Biochemistry* 42:93–97.
- Quintanar-Guzmán A. 2009. Estudio del Efecto de los Cambios en las Proteínas del Grano de Maíz (*Zea Mays* L) Nixtamalizado sobre las Propiedades Viscoelásticas de la Masa. Tesis Doctorado (Ciencia de los Alimentos). Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (Sección de Estudios de Posgrado e Investigación), Instituto Politécnico Nacional, México DF, México 198 pp
- Ramakrishna, N, Lacey J, Smith JE. 1991. Effect of surface sterilization, fumigation and gamma irradiation on the microflora and germination of barley seeds. *International Journal of Food Microbiology* 13:47-54.
- Ramírez-Wong B, Sweat VE, Torres PI, Rooney LW. 1994. Cooking time, grinding, and moisture content effect on fresh corn masa texture. *Cereal Chemistry* 71:337-343
- Randhir R, Shetty K. 2005. Developmental stimulation of total phenolics and related antioxidant activity in light- and dark-germinated corn by natural elicitors. *Process Biochemistry* 40:1721-1732
- Rao R, Muralikrishna G. 2004. Non-starch polysaccharide–phenolic acid complexes from native and germinated cereals and millet. *Food Chemistry* 84:527-531
- Re R, Pellegrini N, Protgente A. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26:1231-1237.
- Rojas-Molina I, Gutiérrez-Cortez E, Palacios-Fonseca A, Baños L, Pons-Hernandez JL, Guzmán-Maldonado SH, Pineda-Gomez P, Rodríguez ME. 2007. Study of structural and thermal changes in endosperm of quality protein maize during traditional nixtamalization process. *Cereal Chemistry* 84:304-312.

- Roy M, Chakrabarty S, Sinha D, Bhattachary RK, Siddiqi M. 2003. Anticlastogenic, antigenotoxic and apoptotic activity of epigallocatechin gallate: a Green tea polyphenol. *Mutation Research* 523:33-41, 2003.
- Ruiz CJA, Durán PN, Sánchez GJJ, Ron PJ, González EDR, Medina GG, Holland JB. 2008. Climatic adaptation and ecological descriptors of 42 maize races. *Crop Science* 48:1502-1512
- Rzedowski GC de J, Rzedowski y colaboradores. 2001. Flora Fanerogámica del Valle de México. 2a. Ed. Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, MICH, MEX
- Sahidi F, Naczki M. 2004. Phenolics in Food and Nutraceuticals. CRC Press LLC, Boca Raton, FL, EUA 566 p.
- Salinas MY, Soto HM, Martínez BF, González HV, Ortega PM. 1999. Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 22:161-174
- Salinas MY. 2000. Antocianinas en el Grano de Maíces Criollos Mexicanos. Tesis de Doctorado. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Fisiología Vegetal. Colegio de Posgraduados. México. 92 p.
- Salinas-Moreno Y, Martínez-Bustos F, Soto-Hernández M, Ortega-Paczka M, Arellano-Vázquez JL. 2003. Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia* 37:617-628.
- Salinas-Moreno Y, Pérez-Alonso JJ, Vázquez-Carrillo G, Aragón-Cuevas F y Velázquez-Cardelas GA. 2012. Antocianinas y actividad antioxidante en maíces (*Zea mays* L.) de las razas Chalqueño, Elotes Cónicos y Bolita. **Agrociencia** 47:815-825.
- Sánchez de Jiménez E, Aguilar R, Dinkova T. 1997. S6 ribosomal protein phosphorylation and translation of stored mRNA in maize. *Biochimie* 79: 194-197.
- Sanchez GJJ, Goodman MM, Stuber CW. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of México. *Economic Botany* 54:43-59
- Sánchez JJ. 1989. Relationships Among the Mexican Races of Maize. Tesis Doctorado. North Carolina State University, Department of Crop Science. Raleigh, NC, USA, pp 187
- Sangronis E, Machado C, Cava R. 2004. Propiedades funcionales de las harinas de leguminosas (*Phaseolus vulgaris* y *Cajanus cajan*) germinadas. *Interciencia* 29:80-85.
- Saulnier L, Thibault JF. 1999. Ferulic acid and diferulic acids as components of sugar-beet pectins and maize bran heteroxylans. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79:396-402.
- Savage GP, Thompson DR. 1993. Effect of processing on the trypsin inhibitor content and nutritive value of chickpeas (*Cicer arietinum*). *European Association For Animal Production* 70:435-435.
- Schuller HM, Al-Wadei HA, Majidi M. 2008. Gamma aminobutyric acid, a potential tumor suppressor for small airway-derived lung adenocarcinoma. *Carcinogenesis* 29:1979–1985.

- Seidl R, Cairns N, Singewald N, Kaehler ST, Lubec, G. 2001. Differences between GABA levels in Alzheimer's disease and Down syndrome with Alzheimer-like neuropathology. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 363:139–145.
- Serna-Saldívar SO, Canett R, Vargas J, Gonzales M, Bedolla S, Medina C. 1988. Effect on value of maize and decorticated sorghum tortillas produced by extrusión-cooking. *Cereal Chemistry* 65:44-48.
- Serna-Saldívar SO, Gómez MH, Rooney LW. 1990. Technology, Chemistry and Nutritional Value of Alkaline Cooked Corn Products. En: "Advances in Cereal Science and Technology". Y Pomeranz (ed), *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, MN, EUA pp: 245-265.
- Serna-Saldívar SO. 1996. Química, Almacenamiento e Industrialización de los Cereales. AGT Editor SA. México, DF, MEX 519 p.
- Serna-Saldívar SO. 2009. Research Developments in the Science, Technology and Nutritional Value of Maize-Based Nixtamalized Foods. En: "The ICC Book of Ethnic Cereal-Based Foods Across the Continents". Taylor J, Cracknell R (ed). Published by the University of Pretoria, Pretoria, South Africa, pp: 133-163
- Serna-Saldívar SO. 2010. Cereal Grains: Properties, Processing, and Nutritional Attributes. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 747 p.
- Sharma S, Saxena D, Riar CS. 2016. Analysing the effect of germination on phenolics, dietary fibres, minerals and  $\gamma$  amino butyric acid contents of barnyard millet (*Echinochloa frumentaceae*). *Food Bioscience* 12:60-68
- Shetty P, Atallah MT, Shetty K. 2003. Stimulation of total phenolics, L-DOPA and antioxidant activity through proline-linked pentose phosphate pathway in response to proline and its analogue in germination faba beans (*Vicia faba*). *Process Biochemistry* 38:1707-1717
- Shih PH, Yeh CT, Yen GC. 2005. Effects of anthocyanidin on the inhibition of proliferation and induction of apoptosis in human gastric adenocarcinoma cells. *Food Chemistry and Toxicology* 55:1557-1566
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299:152-178.
- Sitara U, Akhter S. 2007. Efficacy of fungicides, sodium hypochlorite and neem seed powder to control seed borne pathogens of maize. *Pakistan Journal of Botany* 39:285.
- Sokrab AM, Mohamed Ahmed IA, Babiker EE. 2012. Effect of malting and fermentation on antinutrients, and total and extractable minerals of high and low phytate corn genotypes. *International Journal of Food Science and Technology* 47:1037-1043
- Srinivasan M, Sudheer AR, Menon VP. 2007. Ferulic acid: Therapeutic potential through its antioxidant property. Serial review. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* 40:92-100

- Steer TE, Gibson GR. 2002. The microbiology of phytic acid metabolism by gut bacteria and relevance for bowel cancer. *International Journal of Food Science and Technology* 37:783-790.
- Styles ED Ceska O. 1972. Flavonoid pigments in genetic strains of maize. *Phytochemistry* 11:3019-3021.
- Sutharut J, Sudarat J. 2012. Total anthocyanin content and antioxidant activity of germinated colored rice. *International Food Research Journal* 19:215-221
- Swaminathan M. 1942. Note on the vitamin B 1 riboflavin and nicotinic acid content of dried yeast. *Indian Journal of Medicinal Research* 30:403-408
- Trejo-Flores S. 1987. Elaboración de un Producto Extrudido y Frito con Base en Amaranto germinado, Cereales y Soya Desgrasada. Tesis. Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubiran". Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, México, DF, MEX
- Tsai CY, Dalbym A, Jones R. 1975. Lysine and triptophan increases during germination of maize seed. *Cereal Chemistry* 52:356-360.
- Tsuda T, Horio F, Kito J, Osawa T. 1999. Protective effects of dietary Cyanidin 3-O- $\beta$ -D-Glucoside on liver ischemia-reperfusion injury in rats. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 368:361-366.
- Tsuda T, Horio F, Uchida K, Aoki H, Osawa T. 2003. Dietary Cyanidin 3-O- $\beta$ -D-Glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *Nutrient-Gene Interact* 314:2125-2130
- USDA. 2016. World Agricultural Production. Foreign Agricultural Service. Circular Series WAP, United States Department of Agriculture, EUA, pp 2-16.
- Utrilla-Coello RG, Agama-Acevedo E, Barba R, Martínez-Salgado JL, Rodríguez-Ambríz SL, Bello-Pérez LA. 2009. Blue maize: Morphology and starch synthase characterization of starch granule. *Plant Foods for Human Nutrition* 64: 18-24.
- Véles-Medina JJ. 2004. Caracterización de Tostadas Elaboradas con Maíces Pigmentados y Diferentes Métodos de Nixtamalización. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Aplicada (CICATA-IPN) de Querétaro, Santiago de Querétaro, QRO, MEX pp 205
- Vidal-Martínez VA, Vázquez-Carrillo G, Cortuño-Estrada B, Ortega-Corona A, Ramírez-Díaz JL, Valdivia-Bernal R, Gerrero-Herrera M, Caro-Velarde F, Cota-Agramont O. 2008. Calidad proteínica en colectas de maíces criollos de la sierra de Nayarit, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 31:15-21.
- Vidal-Valverde C, Frías J, Estrella I, Gorospe MJ, Ruis R, Bacon J. 1994. Effect of processing on some antinutritional factors of lentils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42:2291-2295.
- Visser A y Thomas A. 1987. Reviews soya protein products: Their processing functionality and application aspect. *Food Reviews International*. 3(1): 1-32.
- Vongsudin W, Laohakunjit N, Kerdchoechuen O. 2011. Phytochemical change and antioxidant activities of germinated cereals. *Agricultural Science Journal* 42:113-116.

- Wang LS, Stoner GD. 2008. Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Letters* 269:281-290.
- Wang YD, Fields ML. 1978. Germination of corn and sorghum in the home to improve nutritive value. *Journal of Food Science* 43:1113.
- Watson SA. 1988. Structure and Composition. Corn: Chemistry and Technology. *American Association of Cereal Chemists, Inc.* ST. Paul, MN, EUA p 53-82
- Wellhausen EJ, Roberts LM, Hernández X, Mangelsdorf PC. 1951. Razas de Maíz en México. Su Origen, Características y Distribución. Oficina de Estudios Especiales-Secretaría de Agricultura y Ganadería. Folleto Técnico Núm. 55. México DF, México
- Wellhausen EJ. 1990. Algunas reflexiones sobre el Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales (PCCMCA). *Agronomía Mesoamericana* 1:97-106.
- Whetten R, y Sederoff R. 1995. Lignin biosynthesis. *Plant Cell*, 7, 1001–1013.
- Wilkes HG. 1967. Teosinte: The Closest Relative of Maize. The Bussey Institution of Harvard University. 159 p.
- Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gabhardt SE, Prior RL. 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4026-4037
- Yang F, Basu TK. y Oraikul B. 2001. Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat grain. *International Journal of Food Science and Nutrition* 52:319.330
- Zhang Q, Xiang J, Zhang L, Zhu X, Evers J, van der Werf W, Duan L. 2014. Optimizing soaking and germination conditions to improve gamma-aminobutyric acid content in japonica and indica germinated brown rice. *Journal of Functional Foods* 10:283-291.
- Zhao X, Wei Y, Wang Z, Chen F, Ojokoh AO. 2011. Reaction kinetics in food extrusion: methods and results. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 51:835–854
- Zhao X, Zhang C, Guigas C, Corrales BM, Tauscher XHu. 2009. Composition, antimicrobial activity, and antiproliferative capacity of anthocyanin extracts of purple corn (*Zea mays* L.) from China. *European Food Research Technology* 228:759-765
- Zhao Z, Moghadasian MH. 2008. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chemistry* 109:691-702.
- Zheng YM, He RG, Huang X, Zheng L, Hu QL, Hua P. 2006. Effects of germination on composition of carbohydrate and activity of relevant enzymes in different varieties of brown rice. *Cereal and Feed Industry* 5:1–3 (in Chinese).



### Abreviaturas

AACC	American Association of Cereal Chemists
AAox	Actividad antioxidante
ABA	Ácido abscísico
AF	Ácido Ferúlico
ANR	Azúcares no reductores
AOAC	Association of Oficial Analytical Chemists
AoxA	Antioxidant activity
AR	Almidón resistente
ARR	Almidón resistente retrogradado
AsR	Azúcares reductores
AST	Azúcares solubles totales
AT	Almidón total
Bh	Base húmeda
Bs	Base seca
°C	Grado (s) Celsius
C3G	Cianidina-3-glúcosido
CFT	Contenido de compuestos fenólicos totales
CKs	Citoquininas
Cm	Centímetro(s)
Col	Colaboradores
CONABIO	Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad
C-PER	Relación de Eficiencia Proteínica Calculada
CQ	Calificación química
DA	Digestibilidad Aparente
DCCR	Diseño experimental de composición central rotatable
DPIV	Digestibilidad proteínica in vitro
DV	Digestibilidad Verdadera in vivo
Ed	Editores
ej	Ejemplo
EUA	Estados Unidos de américa
FAD	Fibra ácido-detergente
FAO	Organización de Alimentos y Agricultura de las Naciones Unidas
FDA	Federación de fármacos y Alimentos en los Estados Unidos
FDT	Fibra dietaria total
FES	Fermentación en estado sólido
Fig	Figura
FT	Flavonoides totales
g	Gramo(s)
GABA	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
Gas	Giberelinas
GBCF	Germinated blue corn flour(s)
Gt	Tiempo de germinación

H	Hora(s)
Ha	Hectárea
HMAB	Harinas de maíz azul bioprocesado
HMABO	Harina de maíz azul bioprocesado optimizada
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
INIFAP	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
IPN	Instituto Politécnico Nacional
Kcal	Kilocaloría(s)
Kg	Kilogramo
L	Litro
m	Metro
mg	Miligramo(s)
Min	Minuto(s)
mL	Mililitro(s)
N	Normal
NE	Nixtamalización por extrusión
NF	Nixtamalización fraccionada
nm	Nanómetro(s)
NPR	Retención neta de proteína
NPU	Utilización neta de proteína
NT	Nixtamalización tradicional
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONU	Organización de las Naciones Unidas
Pág	Página
Pc	Proteína cruda
PER	Relación de eficiencia proteínica
pH	Potencial hidrógeno
Pp	Páginas publicadas
p/v	Relación peso/volumen
rpm	Revoluciones por minuto
seg	Segundo(s)
SmF	Fermentación líquida o sumergida
SSA	Secretaría de salud
TE	Temperatura de extrusión
TFC	Total flavonoid content
TG	Temperatura de germinación
TPC	Total phenolic
ton	Toneladas
UAS	Universidad Autónoma de Sinaloa
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
UV	Ultra violeta
VB	Valor Biológico

VT	Velocidad del tornillo
$\mu\text{L}$	Microlitro(s)
%	Porcentaje