



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

VALOR SOCIAL, ECONÓMICO Y NUTRACÉUTICO DE LOS MAÍCES NATIVOS PIGMENTADOS EN LOCALIDADES DE PUEBLA Y TLAXCALA, SU RESCATE Y REVALORIZACIÓN

DANIEL DÍAZ MORA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA

2016



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN
CAMPUS PUEBLA

CAMPUE- 43-2-03

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe **Daniel Díaz Mora**, alumno de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección del Profesor **Dr. Mario Valadez Ramírez**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Valor social, económico y nutracéutico de los maíces nativos pigmentados en localidades de Puebla y Tlaxcala, su rescate y revalorización**, y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Puebla, Puebla, 26 de febrero del 2016.

Ing. Daniel Díaz Mora

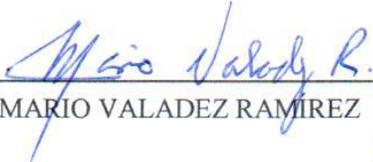
Vo. Bo. Profesor Consejero
Dr. Mario Valadez Ramírez

La presente tesis, titulada: **Valor social, económico y nutracéutico de los maíces nativos pigmentados en localidades de Puebla y Tlaxcala, su rescate y revalorización**, realizada por el alumno: **Daniel Díaz Mora**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: 
DR. MARIO VALADEZ RAMIREZ

ASESOR: 
DR. ABEL GIL MUÑOZ

ASESOR: 
DR. IGNACIO OCAMPO FLETES

ASESOR: 
DR. JOSÉ SERGIO ESCOBEDO GARRIDO

ASESORA: 
DRA. NATALIA PALACIOS ROJAS

Puebla, Puebla, 26 de febrero de 2016

VALOR SOCIAL, ECONÓMICO Y NUTRACÉUTICO DE LOS MAÍCES NATIVOS
PIGMENTADOS EN LOCALIDADES DE PUEBLA Y TLAXCALA, SU RESCATE Y
REVALORIZACIÓN

Daniel Díaz Mora, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2016

Uno de los componentes que menos se han atendido y para los cuales existe poco conocimiento sistematizado, es aquel referente al valor social, económico y nutraceutico presente en alimentos tradicionales con procesos diferentes a la nixtamalización, elaborados a partir de maíces nativos pigmentados que son consumidos al interior de la unidad familiar. El objetivo de este estudio fue determinar el valor social, económico y nutraceutico de los maíces nativos pigmentados en localidades de Puebla y Tlaxcala, y cuantificar la capacidad antioxidante del “atole agrio” elaborado con los maíces azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco para diseñar una estrategia para el rescate y revalorización de este recurso fitogenético local. Se aplicaron 21 entrevistas y una encuesta a 44 familias productoras de maíces nativos pigmentados y se analizaron bioquímicamente por HPLC, ORAC y DPPH un total de 13 accesiones por cada genotipo de maíz azul y morado en grano, “olote” y “atole agrio” con y sin “olote”. El uso principal fue la “tortilla” con 15.8 % para el maíz azul y el “atole” con 17.7 % para el maíz morado, por otro lado el maíz morado presentó otros usos no alimenticios como el ceremonial con 9.7 % y el artesanal con 4.0 %. El maíz morado en grano reportó 2.30 mg/g de ácido ferúlico y 1,173.90 µg/g de antocianinas totales, mientras que en “atole agrio” sin “olote” reportó 0.22 mg/g de ácido ferúlico y 194.56 µg/g de antocianinas totales, sin embargo, este último genotipo en “atole agrio” con “olote”, reportó 0.25 mg/g de ácido ferúlico y 319.71 µg/g de antocianinas totales. El rango de capacidad antioxidante de antocianinas totales en maíz azul fue de 80.62 % y 62.86 % de DPPH y el % RV de antocianinas totales fue de 37.51 % y 13.97 %. El uso alimenticio tradicional, la incorporación en celebraciones locales y la capacidad antioxidante del “atole agrio”, señalan el valor social, económico y nutraceutico de los maíces azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco, valores que permiten diseñar una estrategia para el rescate y revalorización de este recurso fitogenético local.

Palabras clave: Cianidina, comercialización, conservación, diversidad, religioso, sincretismo.

SOCIAL, ECONOMIC AND NUTRACEUTICAL VALUE OF PIGMENTED MAIZE IN NATIVE TOWNS OF PUEBLA AND TLAXCALA, RESCUE AND REVALUATION

Daniel Díaz Mora, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2016

One of the components that have least attended and for which there is little systematic knowledge, is that concerning the social, economic and nutraceutical value present in traditional foods with different processes nixtamalization, made from native pigmented maize that are consumed at within the family unit. The aim of this study was to determine the social, economic and nutraceutical value of the native towns of pigmented maize in Puebla and Tlaxcala, and quantify the antioxidant capacity of "sour atole" made with blue maize Zacapoaxtla and purple maize Ixtenco to design a strategy for recovery and revaluation of this local plant genetic resource. 21 interviews and a survey were applied to 44 families producers of pigmented maize native from Puebla and Tlaxcala and a total of 13 accessions were biochemically analyzed by HPLC, ORAC and DPPH per genotype blue and purple maize kernel, "cob" and "sour atole" with and without "cob". The main use was the "tortilla" with 15.8% for blue maize and "atole" with 17.7% for the purple maize, furthermore purple maize presented other non-food uses such as ceremonial with 9.7% and handcraft with 4.0%. Purple maize kernel reported 2.30 mg/g of ferulic acid and 1,173.90 µg/g of total anthocyanins, whereas in "sour atole" without "cob" reported 0.22 mg/g of ferulic acid and 194.56 µg/g of total anthocyanins, however, the latter genotype in "sour atole" with "cob" reported 0.25 mg/g of ferulic acid and 319.71 µg/g of total anthocyanins. The range of antioxidant capacity of total anthocyanins in blue maize was 80.62 % and 62.86 % of DPPH and % RV of total anthocyanins was 37.51 % and 13.97 %. The traditional food use, incorporating local celebrations and the antioxidant capacity of "sour atole," point the social, economic and nutraceutical value of blue maize Zacapoaxtla and purple maize Ixtenco, values that allowed to design a strategy rescue and revaluation of this local plant genetic resource.

Keywords: Conservation, cyaniding, diversity, merchandising, religious, syncretism.

DEDICATORIA

A Dios por permitirme culminar un capítulo más en este libro de historia que se llama mi vida;

A mi angelito† que es la lucecita que siempre me ilumina a donde sea que vaya y que algún día tendré la oportunidad de conocerlo;

A mis padres Efigenia y Pascual de los que heredé su fortaleza y de quienes contaré siempre con su cariño, comprensión y apoyo incondicional;

A mis hermanas Laura y Verónica por ser mis maestras, confidentes y ejemplos de vida solo como solo ellas saben serlo;

A los más pequeños de mi gran familia, mis sobrinos Aylín y Alan, que constantemente me recuerdan lo que es ser niño;

A mi compañera, cómplice y amor de mi vida Wendy que al caminar a mi lado siempre me ha impulsado para lograr cada uno de mis sueños y a pesar del tiempo nunca ha dejado de creer en mí y en nuestro eterno “m. q. u. s. t. a.”.

Con cariño

Dann

AGRADECIMIENTOS

A los millones de mexicanos (as) que pagan impuestos, quienes, a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) han financiado parte de mi formación académica;

Al Colegio de Postgraduados (COLPOS), por la formación académica y científica brindada en el Campus Puebla así como por el financiamiento brindado para la realización de un video-documental del “atole agrio” generado a partir de esta investigación;

Al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), por el financiamiento para la realización de los análisis bioquímicos;

A los técnicos y académicos de la Agroecología Universidad Cochabamba (AGRUCO), por su apoyo metodológico y gran disposición durante la pasantía de investigación para el diseño de la estrategia de este proyecto;

A los productores de maíces nativos pigmentados de las localidades de Ixtacapan, Texocoyohuac, Nexticapan, El Molino y San Juan Ixtenco, por la información brindada durante la encuesta;

A los señores Jaime Domínguez Ortega y Juan Mora Zacarías, por su apoyo en la recolección de información durante la fase de campo;

A las señoras Rosario Mora Díaz y Ana Lilia Guevara Olivares, por la elaboración de las muestras de “atole agrio”.

A la Ing. Alejandra Miranda Piliado del Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal del CIMMYT, por el apoyo brindado durante la fase de investigación en laboratorio;

A Ángela, Edwin y Marco , mis colegas, amigos y sobretodo hermanos, por sus consejos y apoyo desinteresado durante esta investigación.

La madre del maíz

El pueblo Huichol estaba cansado por la monotonía de su comida. Un muchacho del pueblo, al que le habían llegado noticias de la remota existencia de una planta con cuyos frutos se podían preparar muchas y variadas comidas, decidió partir en su búsqueda.

Encontró una fila de hormigas, que solían ocultar maíz y decidió seguirlas. Caminó y caminó tras de ellas, hasta que rendido por el cansancio, se durmió. Entonces las hormigas se aprovecharon y se comieron toda su ropa. Al despertar y verse desnudo y hambriento, el muchacho cayó en sentidas lamentaciones hasta que un pájaro se posó en una rama cercana. Cogió su arco y apuntó su flecha, pero el pájaro le habló y le dijo que no osara matarlo, puesto que era la madre del maíz, y estaba dispuesto a guiarlo hasta donde había maíz en abundancia.

Fueron hasta la casa de maíz, y el muchacho conoció a las hijas de la madre del maíz, con una de las cuales, mazorca azul, se casó y regresó a su pueblo. Como no tenían casa, el muchacho y su bella y dulce esposa durmieron en los lugares del culto. Como un milagro, el lugar de los recién casados amanecía todo lleno de mazorcas de maíz, que mazorca azul repartía generosamente a quien quisiera pedirle, mientras enseñaba cómo preparar las comidas, cómo sembrar y cómo cuidar de la siembra del maíz.

Cuentan que a tanto llegó la generosidad de mazorca azul que, después de enseñar todo lo que sabía acerca del maíz, se molió a sí misma para que su hermoso cuerpo sirviera también de alimento.

Cuento Huichol

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1. Planteamiento del problema.....	4
2. Objetivos.....	5
3. Hipótesis.....	6
4. Estructura de la tesis.....	7
5. Referencias.....	8
CAPÍTULO I. IMPORTANCIA SOCIOECONÓMICA DE LOS MAÍCES NATIVOS PIGMENTADOS EN LOCALIDADES DE PUEBLA Y TLAXCALA, MÉXICO	12
1.1. Introducción.....	15
1.2. Materiales y Métodos.....	16
1.3. Resultados.....	19
1.4. Discusión.....	26
1.5. Conclusiones.....	29
1.6. Referencias.....	30
CAPÍTULO II. RETENCIÓN DE ANTOCIANINAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL “ATOLE AGRIO” DEL MAÍZ AZUL DE ZACAPOAXTLA Y MORADO DE IXTENCO.....	34
2.1. Introducción.....	37
2.2. Materiales y Métodos.....	38
2.3. Resultados.....	45
2.4. Discusión.....	53
2.5. Conclusiones.....	55
2.6. Referencias.....	56
CAPÍTULO III. ESTRATEGIA PARA EL RESCATE Y REVALORIZACIÓN DEL RECURSO FITOGENÉTICO MAÍZ NATIVO PIGMENTADO EN LOCALIDADES DE PUEBLA Y TLAXCALA, MÉXICO	60
3.1. Introducción.....	60
3.2. Problemática.....	63

3.3.	Objetivo estratégico	63
3.4.	Componentes de la estrategia.....	63
3.5.	Estrategia.....	68
3.6.	Elementos de la Estrategia	69
3.7.	Referencias.....	82
	CONCLUSIONES GENERALES.....	86
	ANEXOS.....	87
	ANEXO A. Cuestionario de la encuesta.....	88
	ANEXO B. Protocolos de análisis de laboratorio.....	94
	ANEXO C. Compendio fotográfico	135

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1.1. Temas y variables de la encuesta.	18
Cuadro 1.2. Características de los productores de maíces pigmentados en 2014.	20
Cuadro 2.1 Prueba de medias para las variables cuantificadas a través de los análisis bioquímicos de grano, “olote” y “atole agrio”.....	48
Cuadro 2.2 Diversidad nutracéutico del “atole agrio” de los maíces azul y morado.	49
Cuadro 2.3 Efecto del procesamiento en la retención de fenoles y antocianinas en “atole agrio”.....	51
Cuadro 2.4 Retención de fenoles y antocianinas en el “atole agrio”.....	51
Cuadro 3.1 Plan operativo de la estrategia.	78

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1. Motivos de conservación de los maíces pigmentados.....	21
Figura 1.2. Rendimientos de los maíces pigmentados.....	23
Figura 1.3 Usos del grano de los maíces azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco.	24
Figura 1.4 Lugar de venta de los maíces pigmentados.....	25
Figura 1.5 Precios de venta del grano de los maíces pigmentados.....	26
Figura 2.1 Colectas de maíz azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco, respectivamente..	39
Figura 2.2 Diferencias en los procesamientos para la elaboración del “atole agrio” de Zacapoaxtla e Ixtenco.	41
Figura 2.3 Pericarpios con y sin pigmentación, respectivamente.....	46
Figura 2.4 Agrupación nutracéutica de los maíces azul y morado.	53
Figura 3.1 Microrregión de los valles templados de la Sierra Nororiental (modificado de INEGI, 2010).	66
Figura 3.2 Microrregión de los llanos orientes del volcán Malintzin (modificado de INEGI, 2010).	67
Figura 3.3 Estrategia para el rescate y revalorización del recurso fitogenético maíz nativo pigmentado (elaboración propia).	69

INTRODUCCIÓN GENERAL

El maíz (*Zea mays* L.) se cultiva en cerca de 100 millones de hectáreas en 125 países en desarrollo y es uno de los tres cultivos más producidos en 75 de esos países (FAOSTAT, 2011). En Europa, América del Norte y partes de Sudamérica y Asia, el maíz es un cultivo comercial destinado principalmente a la alimentación animal, en aplicaciones industriales y en biocombustibles; sin embargo, en África, Mesoamérica y partes de Asia, el maíz es un alimento básico para más de 900 millones de personas (Atlin *et al.*, 2010).

En 2010, México registró una producción aproximada de 23 millones de toneladas de maíz de la cual, el 99.5 % se comercializó en el mercado de maíz para la industria de la masa, la tortilla y la harina nixtamalizada así como en alimentos balanceados (SIAP, 2011). Durante ese mismo año, de las 115 mil toneladas de maíz de color, el 80 % de esa producción provino de zonas de temporal, donde el rendimiento promedio fue de 1.6 t·ha⁻¹ (Salinas *et al.*, 2010).

En México se han reportado variantes de grano de maíz pigmentado con coloraciones que van desde el amarillo, rojo, café, hasta el azul y el morado para las 59 razas presentes (Ron *et al.*, 2006). Los agricultores mantienen y utilizan esta diversidad genética del maíz como una estrategia de sobrevivencia y seleccionan estos genotipos de acuerdo a sus preferencias y necesidades alimentarias así como económicas (Delgado y Delgado, 2014). Aproximadamente el 95 % de la producción de maíz de color en México se destina al autoconsumo y menos del 5 % se destina únicamente para la venta en el mercado (Lazos y Chauvet, 2011).

En México, las poblaciones nativas de maíz pigmentado que se destinan para la venta, se conservan entre otras razones, por la existencia de mercados especializados de maíz, que exigen características gastronómicas de textura y sabor que solo tales tipos de maíz poseen (Hellin *et al.*, 2013). Estos mercados contribuyen a mejorar las estrategias de vida locales y la conservación *in situ* de los recursos genéticos, abriendo la posibilidad de seguir sembrando los maíces nativos, con destino a nichos especializados, aun cuando tengan una aceptación menor en el mercado de grano blanco a gran escala (Keleman y Hellin, 2009).

Los compuestos que le confieren la coloración característica a los maíces azul, morado, rojo y magenta son las antocianinas y los flabofenos, que representan los principales pigmentos solubles en agua visibles al ojo humano (Harakotr *et al.*, 2014). Las antocianinas simples reportadas para maíz son: cianidina 3-glucósido, pelargonidina 3-glucósido y peonidina 3-glucósido (Raghvendra, 2011). La primera es común en los maíces de grano azul y morado y las dos restantes en maíces de grano rojo (Gorriti *et al.*, 2014; Salinas *et al.*, 2012).

En la planta de maíz la acumulación de antocianinas puede ser de forma basípeto y acrópeto, y su pigmentación se presenta en los órganos con la siguiente secuencia: vainas foliares, láminas foliares, tallo, espiga, jilotes inferiores, brácteas del jilote superior o mazorca, pedúnculo, olote y finalmente grano (Mendoza, 2012). Por lo general, en los granos de maíz azules el pigmento se localiza en la capa de aleurona, en los granos rojo claro se ubica en el pericarpio y en los granos rojo magenta se presenta tanto en la capa de aleurona como en el pericarpio (Gorriti *et al.*, 2014).

En años recientes, las antocianinas han atraído bastante interés debido a los beneficios reportados de tales compuestos en la salud humana, tales como la reducción del estrés oxidativo (He y Giusti, 2010; Prior y Wu, 2006), la prevención de enfermedades cardiovasculares (Soto *et al.*, 2012; Toufektsian *et al.*, 2008), la actividad anticarcinogénica (Fukamachi *et al.*, 2008; Hagiwara *et al.*, 2001), el control de la diabetes (Thiraphatthanavong *et al.*, 2014; Wallace y Giusti, 2013), la prevención de la obesidad (Tsuda *et al.*, 2003), la actividad antiinflamatoria (Jones, 2005) y la actividad antimicrobiana (Zhao *et al.*, 2009). Aun cuando el maíz no es una fuente habitual de antocianinas en la dieta cotidiana del mexicano como lo son la jamaica, uvas y manzanas (Escamilla *et al.*, 2009), las variedades de maíz ricas en estos compuestos pueden originar una gran atención en este renglón (López *et al.*, 2010).

A la fecha, es escasa la información sistematizada sobre el valor social, económico y nutracéutico de los maíces nativos pigmentados como el maíz azul de Zacapoaxtla, Puebla y el maíz morado de Ixtenco, Tlaxcala. En este sentido, la mayor parte de los estudios orientados a evaluar la capacidad antioxidante de antocianinas y fenoles en maíz, se han hecho en productos nixtamalizados como “masa”, “tortilla”, “totopo” o simplemente en grano (Reyes *et al.*, 2012), dejando de lado otros

tipos de alimentos tradicionales, con procesos diferentes a la nixtamalización, y de gran importancia cultural por ser símbolo de identidad, como el “atole agrio” (Barros, 2009).

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar el valor social, económico y nutracéutico de los maíces nativos pigmentados en localidades de Puebla y Tlaxcala, y cuantificar la capacidad antioxidante del “atole agrio” elaborado con los maíces azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco para diseñar una estrategia para el rescate y revalorización de este recurso fitogenético local.

1. Planteamiento del problema

Los defensores de la conservación de la agrobiodiversidad han resaltado los posibles vínculos entre las variedades nativas de maíz de los agricultores, los mercados agrícolas y las mejores condiciones de vida (Brush, 1991). Por tal motivo, el desarrollo de investigaciones tendientes a la conservación de los recursos fitogenéticos y el rescate del conocimiento asociado a estos se ha visto incrementado en los últimos años, otro motivo ha sido el que con los avances tecnológicos actuales se puede llegar al extremo de desplazar o afectar severamente toda la diversidad local existente para una especie en una región determinada, con lo que también pueden llegar a desaparecer los saberes locales de los agricultores en torno a tal diversidad (Altieri y Toledo, 2011). Ello es particularmente preocupante para el caso del maíz, donde en el complejo genético primario y en sus parientes silvestres existe diversidad genética no aprovechada en forma de caracteres y alelos novedosos (Ortiz *et al.*, 2010). En este marco, entre los componentes que menos se han atendido y para los cuales existe poco conocimiento sistematizado, está aquel referente al valor social, económico y nutracéutico presente en alimentos tradicionales con procesos diferentes a la nixtamalización, elaborados a partir de maíces nativos pigmentados que son consumidos al interior de la unidad familiar (Escalante *et al.*, 2013). Bajo este contexto, el problema de investigación del estudio, lo constituye la falta de conocimiento sistematizado sobre el valor socioeconómico presente en la conservación, el aprovechamiento y la comercialización en torno a los maíces nativos pigmentados en localidades de Puebla y Tlaxcala, y el valor nutracéutico para su uso en alimentos tradicionales con procesos diferentes a la nixtamalización, como el “atole agrio” elaborado con los maíces azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco. El conocimiento científico que se genere permitirá diseñar una estrategia para el rescate y revalorización del recurso fitogenético maíz nativo pigmentado. Con base en lo indicado, se plantean las siguientes preguntas de investigación:

- ¿Cómo se lleva a cabo la conservación, aprovechamiento y comercialización de los maíces nativos pigmentados en localidades de Puebla y Tlaxcala?
- ¿Cuál es el perfil de fenoles y antocianinas y la capacidad antioxidante del “atole agrio” elaborado con los maíces azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco?
- ¿Es factible diseñar una estrategia de conservación, aprovechamiento y comercialización del recurso fitogenético maíz pigmentado a partir de las respuestas a las preguntas anteriores?

2. Objetivos

Objetivo General

Determinar el valor social, económico y nutraceutico de los maíces nativos pigmentados en localidades de Puebla y Tlaxcala, y cuantificar la capacidad antioxidante del “atole agrio” elaborado con los maíces azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco para diseñar una estrategia para el rescate y revalorización de este recurso fitogenético local.

Objetivos Específicos

- ▲ Determinar la importancia socioeconómica de la conservación, el aprovechamiento y la comercialización de los maíces nativos pigmentados en localidades de Puebla y Tlaxcala.
- ▲ Cuantificar la capacidad antioxidante del “atole agrio” elaborado los maíces azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco.
- ▲ Diseñar una estrategia para el rescate y revalorización del recurso fitogenético maíz nativo pigmentado a través de su valor social, económico y nutraceutico.

3. Hipótesis

Hipótesis General

El valor social, económico y nutracéutico de los maíces nativos pigmentados permiten diseñar una estrategia para el rescate y revalorización de este recurso fitogenético en localidades de Puebla y Tlaxcala.

Hipótesis Específicas

- ▲ El uso alimenticio tradicional y su incorporación en celebraciones locales, señalan el valor social, económico y cultural de los maíces nativos pigmentados.
- ▲ La mayor capacidad antioxidante está en el “atole agrio” elaborado con los granos de mayor concentración de compuestos fenólicos y antocianinas.
- ▲ La importancia socioeconómico y capacidad antioxidante de los maíces azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco permiten diseñar una estrategia para el rescate y revalorización del recurso fitogenético maíz nativo pigmentado.

4. Estructura de la tesis

La presente investigación se abordó con dos enfoques teóricos, el agroecológico y el “Vivir Bien”, debido a que la agroecología es una interfaz al nuevo paradigma alternativo del “Vivir Bien” (Delgado, 2011) por incluir elementos teóricos presentes en ambos enfoques, mismos que permitieron analizar esta investigación a partir del desarrollo de las siguientes conceptualizaciones. Por un lado, la agroecología orientada a lo campesino, en la cual se contemplan conceptos como la agricultura campesina, los saberes locales, el conocimiento campesino, la biodiversidad cultivada, la conservación de recursos fitogenéticos y el valor del recurso genético en los sistemas de manejo tradicional y por otro lado el “Vivir Bien” enfocado a lo indígena, que aborda conceptos como el diálogo intercultural, el desarrollo endógeno sustentable, la investigación participativa revalorizadora y la revalorización del conocimiento ancestral.

Esta investigación contiene una introducción general, tres capítulos y un apartado de conclusiones generales.

5. Referencias

- Altieri, M. A., & Toledo, V. M. (2011). The agroecological revolution in Latin America: rescuing nature, ensuring food sovereignty and empowering peasants. *The Journal of Peasant Studies*, 38(3), 587-612.
- Atlin, G. N., Palacios, N., Babu, R., Das, B., Twumasi-Afriyie, S., Friesen, D. K., DeGroot, H., Vivek, B. & Pixley, K. V. (2010). Quality Protein Maize: Progress and Prospects. In: J. Janick (Ed.), *Plant Breeding Reviews* (83-130 p.).
- Barros, C. (2009). Maíz, alimentación y cultura. *Ciencias*, 92, 56–59.
- Brush, S. B. (1991). A Farmer-based approach to conserving crop germplasm. *Economic Botany*, 45(2), 153-165.
- Delgado-Burgoa, F. (2011). Agroecología y desarrollo endógeno sustentable para Vivir Bien: 25 años de las experiencias de AGRUCO. Cochabamba, Bolivia ; La Paz, Bolivia: AGRUCO. <http://www.agruco.org/agruco/publicaciones/libros>
- Delgado-Burgoa, F. & Delgado-Ávila, M. (2014). *Vivir y comer bien en los andes bolivianos. Primera Edición*, PLURAL, La Paz, Bolivia. <http://www.agruco.org/agruco/pdf/libros/vivir-y-comer-bien.pdf>
- Escalante-Aburto, A., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P. I., Barrón-Hoyos, J. M., Figueroa-Cárdenas, J. de D., & López-Cervantes, J. (2013). La nixtamalización y su efecto en el contenido de antocianinas de maíces pigmentados, una revisión. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(4), 429-437.
- Escamilla-Jiménez, C. I., Cuevas-Martínez, E. Y. & Guevara-Fonseca, J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 52(2), 73-75.
- FAOSTAT (2011). CountrySTAT. Disponible en: <http://www.countrystat.org>
- Fukamachi, K., Imada, T., Ohshima, Y., Xu, J., & Tsuda, H. (2008). Purple corn color suppresses Ras protein level and inhibits 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary carcinogenesis in the rat. *Cancer Science*, 99(9), 1841–1846.
- Gorriti, A., Quispe, F., Arroyo, J. L., Córdova, A., Jurado, B., Santiago, I., & Taype, E. (2014). Extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays* L. Maíz morado. *Ciencia e Investigación*, 12(2), 64–74.

- Hagiwara, A., Miyashita, K., Nakanishi, T., Sano, M., Tamano, S., Kadota, 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*(1), 17–25.
- Harakotr, B., Suriharn, B., Tangwongchai, R., Scott, M. P., & Lertrat, K. (2014). Anthocyanins and antioxidant activity in coloured waxy corn at different maturation stages. *Journal of Functional Foods*, *9*, 109-118.
- He, J., & Giusti, M. M. (2010). Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, *1*(1), 163-187.
- Hellin, J., Keleman, A., Lopez, D., Donnet, L., & Flores, D. (2013). La importancia de los nichos de mercado. Un estudio de caso del maíz azul y del maíz para pozole en México. *Revista Fitotecnica Mexicana*, *36*(Especial 6), 315-328.
- Jones, K. (2005). The potential health benefits of purple corn. *Herbal Gram*, *65*(2), 46–49.
- Keleman, A., & Hellin, J. (2009). Specialty Maize Varieties in Mexico: A Case Study in Market-Driven Agro-Biodiversity Conservation. *Journal of Latin American Geography*, *8*(2), 147-174.
- Lazos, E. & Chauvet, M. (2011). Análisis del contexto social y biocultural de las colectas de maíces nativos en México. Proyecto *Global de Maíces, informe de gestión, Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad*. Disponible en: <http://governanzabiodiversidad.mx/bibliotecadigital/component/content/article/36-agricultura-y-agrobiodiversidad/agrobiodiversidad/594-analisis-del-contexto-social-y-biocultural-de-las-colectas-de-maices-nativos-en-mexico>
- López-Martínez, L. X., & Baeza -Ramiro, J. (2010). Comparación de la Capacidad Antioxidante, Compuestos Fenólicos y Antocianinas Totales de Diferentes Variedades de Maíz (*Zea mays* L). *INVURNUS*, *5*(2), 19-22.
- Mendoza-Mendoza, C. G. (2012). *Las antocianinas del maíz : su distribución en la planta y producción*. Recuperado a partir de <http://www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/1709>
- Ortiz, R., Taba, S., Tovar, V. H. C., Mezzalama, M., Xu, Y., Yan, J., & Crouch, J. H. (2010). Conserving and enhancing maize genetic resources as global public goods—a perspective from CIMMYT. *Crop Science*, *50*(1), 13-28.

- Prior, R. L., & Wu, X. (2006). Anthocyanins: Structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Research*, 40(10), 1014–1028.
- Raghvendra, V. S., Shakya, A., Arya, G. S., Mishra, A., Gupta, A. D., Pachpute, A. P., & Patel, D. (2011). Chemical and potential aspects of anthocyanins- a water- soluble vacuolar flavonoid pigments: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review & Research*, 6(1), 28-33.
- Reyes-Moreno, C., Aguayo-Rojas, J., & Milán-Carrillo, J. (2012). Nutraceutical Changes Induced in Blue and Red Pigmented Maize by Nixtamalization Process. En M. H. Tunick & E. González de Mejía (Eds.), *Hispanic Foods: Chemistry and Bioactive Compounds* (Vol. 1109, pp. 173-187). Washington, DC: American Chemical Society. Recuperado a partir de <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-2012-1109.ch011>
- Ron-Parra, J., Sánchez-González, J. J., Jiménez-Cordero, A. A., Carrera-Valtierra, J. A., Martín-López, J. G., Morales-Rivera, M. M., De la Cruz-Larios, L., Mena-Munguía, S., & Rodríguez-Flores, J. G. (2006). Maíces nativos del occidente de México I. Colectas 2004. *Scientia-CUCBA*, 8, 1–139.
- Salinas, M. Y., Soria R. J., & Espinosa T. E. (2010). Aprovechamiento y Distribución de Maíz Azul en el Estado de México. Folleto Técnico No. 42. *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*. Campo Experimental Valle de México, México. 50 p.
- Salinas-Moreno, Y., Chávez, C., J, F., Ortiz, D., A, S., & Castillo González, F. (2012). Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 33-41.
- SIAP, Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (2011). *Estadística Básica Agrícola, Anuario 2011*. Disponible en: www.siap.gob.mx
- Soto-Vaca, A., Gutierrez, A., Losso, J. N., Xu, Z., & Finley, J. W. (2012). Evolution of phenolic compounds from color and flavor problems to health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(27), 6658-6677.
- Thiraphatthanavong, P., Wattanathorn, J., Muchimapura, S., Thukham-mee, W., Lertrat, K., & Suriharn, B. (2014). The combined extract of purple waxy corn and ginger prevents cataractogenesis and retinopathy in streptozotocin-diabetic rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014(1), 1-11.

- Toufektsian, M.-C., De Lorgeril, M., Nagy, N., Salen, P., Donati, M. B., Giordano, L., Mock, H. P., Peterek, S., Matros, A., Petroni, K., Pilu, R., Rotilio, D., Tonelli, C., De Leiris, J., Boucher, F., & Marin, C. (2008). Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury. *The Journal of nutrition*, *138*(4), 747–752.
- Tsuda, T., Horio, F., Uchida, K., Aoki, H., & Osawa, T. (2003). Dietary cyanidin 3-o- β -d-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *The Journal of Nutrition*, *133*(7), 2125–2130.
- Wallace, T. C., & Giusti, M. M. (2013). *Anthocyanins in Health and Disease*. CRC Press.
- Zhao, X., Zhang, C., Guigas, C., Ma, Y., Corrales, M., Tauscher, B., & Hu, X. (2008). Composition, antimicrobial activity, and antiproliferative capacity of anthocyanin extracts of purple corn (*Zea mays* L.) from China. *European Food Research and Technology*, *228*(5), 759–765.

CAPÍTULO I. IMPORTANCIA SOCIOECONÓMICA DE LOS MAÍCES NATIVOS PIGMENTADOS EN LOCALIDADES DE PUEBLA Y TLAXCALA, MÉXICO

Díaz-Mora Daniel¹, Mario Valadez-Ramírez¹, Ignacio Ocampo-Fletes^{1*}, José Sergio Escobedo-Garrido¹, Abel Gil-Muñoz¹, Natalia Palacios-Rojas²

¹Programa en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional, Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Boulevard Forjadores de Puebla, Núm. 205, Santiago Momoxpan, Municipio de San Pedro Cholula. C.P. 72760, Puebla, México.

²Programa Global de Maíz, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Km 45 Carretera México-Veracruz, Texcoco. C.P. 56130, Estado de México.

* Autor para correspondencia (agroecologia_iof@yahoo.com).

Resumen

Los agricultores mantienen y utilizan la diversidad genética de sus recursos como estrategia de sobrevivencia por medio de la selección de genotipos de maíz, de acuerdo a sus preferencias y necesidades alimentarias y económicas; sin embargo aún es escasa la información sistematizada sobre la importancia de los maíces nativos pigmentados en localidades de México. El objetivo de este estudio fue determinar la importancia socioeconómica de la conservación, el aprovechamiento y la comercialización de los maíces nativos pigmentados en localidades de Puebla y Tlaxcala, México. Se aplicaron 21 entrevistas y una encuesta a 44 familias productoras de maíces nativos pigmentados. Los colores de maíces sembrados presentaron mayor distribución en los genotipos azul de Zacapoaxtla con 33.3 % y morado de Ixtenco con 17.4 %. El uso principal fue la “tortilla” con 15.8 % para el maíz azul y el “atole” con 17.7 % para el maíz morado, por otro lado el maíz morado presentó otros usos no alimenticios como el ceremonial con 9.7 % y el artesanal con 4.0 %. Los precios por kilogramo de grano de maíz pigmentado oscilaron entre \$0.13 USD y \$0.80 USD por el lugar de venta, la fabricación de artesanías y el pre-procesamiento para harina. El uso alimenticio tradicional para “tortilla” y “atole”, el sincretismo religioso por medio de la elaboración de “atole agrio” y la fabricación de artesanías, como estrategia de vida para su comercialización, determinan la importancia socioeconómica de los maíces azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco.

Palabras clave: Usos del maíz, conservación, comercialización, sincretismo religioso, diversidad.

Abstract

Farmers preserve the genetic diversity of its resources as a survival strategy by the selection of maize genotypes. The socio-economic importance in the conservation, development and commercialization of pigmented maize native localities of Puebla and Tlaxcala, Mexico is analyzed. Interviews and surveys of native farming families applied pigmented maize. The results show greater distribution of genotypes in blue and purple Ixtenco Zacapoaxtla. The main use was the "tortilla" for blue corn and "atole" for the purple corn. Purple corn is ceremonial and craft uses. The price per kilogram of grain pigmented corn ranged from \$ 0.13 USD and \$ 0.80 USD. We conclude that the traditional food use for "tortilla" and "atole" religious syncretism through the development of "atole agrio", making handicrafts and marketing strategies, determine the socioeconomic importance of blue corn Zacapoaxtla Ixtenco and purple.

Keywords: Uses of maize, conservation, merchandising, religious syncretism and diversity.

1.1. Introducción

México es centro de origen y diversidad genética del maíz (Ortega, 2003). En el país se han reportado 59 razas de maíz (Ron *et al.*, 2006), algunas de ellas con variantes de grano pigmentado que incluyen coloraciones que van desde el amarillo, rojo, café, hasta el azul y el morado (Lazos y Chauvet, 2011). La gran diversidad de razas y ecotipos de maíz en México es producto del trabajo heredado de los agricultores prehispánicos, quienes los formaron mediante el intercambio de semillas, el cruzamiento y la selección de tipos que consideraron útiles para propósitos muy bien definidos (Betanzos, 2004).

Los principales estados del altiplano central mexicano donde se cultivan maíces pigmentados son Puebla, Tlaxcala, México e Hidalgo (Salinas *et al.*, 2010). En Puebla, Gil *et al.*, (2004) reportaron que en 15 microrregiones representativas del estado se conservan maíces con pigmentación azul, amarilla y morada entre otros colores, lo cual refleja la presencia de diversidad de coloración del grano en la entidad.

De acuerdo con Polanco y Flores (2008), la mayor parte de los maíces de colores se producen en pequeña escala, en zonas marginadas, y se destinan principalmente al autoconsumo. En localidades de Puebla, el maíz azul resulta importante socioeconómicamente en las actividades productivas, artesanales y culinarias, con la preparación de platillos tradicionales degustados localmente (CONACULTA, 2004) o como medio de intercambio en el trueque que se acostumbra en algunas localidades (Escobedo y Benítez, 2013).

La memoria biocultural tiene especial interés en relación con los conocimientos asociados a las variedades locales (Toledo, 2008), este conocimiento tradicional tiene un gran valor para entender cómo y por qué el hecho de cultivar las variedades locales constituye un elemento clave para la conservación de la agrobiodiversidad y diversidad en sus usos agrícolas y pecuarios (Acosta y Rodríguez, 2014).

Una de las estrategia para conservar *in situ* las reservas de germoplasma del grano consiste en preservar los agroecosistemas tradicionales, para lo cual se requiere mantener la organización

sociocultural de las comunidades locales (Wezel *et al.*, 2011). La vía campesina sostiene que: “la biodiversidad debe ser base para garantizar la seguridad alimentaria como un derecho fundamental y básico de los pueblos, no negociable” (Cuéllar y Sevilla, 2009). Uno de los elementos en los que los agricultores basan su estrategia de sobrevivencia es el mantenimiento y utilización de la diversidad genética, por su aporte como alimento y diversificación en la dieta (Manuel, 2005). La consecución de una soberanía alimentaria, pasando por una soberanía filogenética, marca las estrategias de acción a la hora de elegir manejos de los recursos más sostenibles y de construir estructuras sociales que sean la plataforma de toda actividad agrícola (Vara y Cuéllar, 2013).

La pérdida de biodiversidad se ha incrementado como consecuencia del cambio climático y de no tomarse las medidas necesarias para frenar el calentamiento global, entre 10 y 15% de las especies podrían extinguirse en los próximos 30 años (Trejo, 2004). La diversidad del maíz forma parte especialmente del subconjunto denominado como agrobiodiversidad que el ser humano ha seleccionado adaptado y mejorado a través de sus sistemas agrícolas para satisfacer sus necesidades (Boege, 2009).

Lo anterior cobra particular relevancia para el consumo y la comercialización de estos genotipos, debido a que desde épocas remotas el agricultor ha seleccionado los tipos de maíz de acuerdo con las características ambientales de su área de cultivo y con sus preferencias y necesidades alimentarias así como económicas (Ortiz *et al.*, 2010); sin embargo existen pocos estudios que muestren información sistematizada sobre la importancia socioeconómica de los maíces nativos pigmentados en localidades de México.

El objetivo de este estudio fue determinar la importancia socioeconómica de la conservación, el aprovechamiento y la comercialización de los maíces nativos pigmentados en localidades de Puebla y Tlaxcala, México.

1.2. Materiales y Métodos

1.2.1. Área del estudio

Se trabajó con familias productoras de maíces nativos pigmentados (azul y morado) de las localidades de Ixtacapan, Texocoyohuac, Nexticapan y El Molino pertenecientes al municipio de Zacapoaxtla, Puebla y de San Juan Ixtenco pertenecientes al municipio de Ixtenco, Tlaxcala.

Las localidades de Ixtacapan, Texocoyohuac, Nexticapan y El Molino se encuentran en la microrregión de los valles templados de la Sierra Nororiental del estado de Puebla y están ubicadas entre los 19° 46' y 19° 51' LN y los 97° 32' y 97° 36' LO, con rangos de temperatura de 12 a 20 °C y de precipitación anual de 800 a 2,100 mm. Por ser una zona de transición, la microrregión presenta un clima variado que va de templado subhúmedo con lluvias en verano a templado húmedo con abundantes lluvias en verano (INEGI, 2014). Las áreas agrícolas se encuentran entre los 2,000 y 2,400 msnm en suelo andosol, con 48 % de la superficie sembrada de maíz (SIAP, 2013).

La localidad de San Juan Ixtenco se encuentra en la microrregión de los llanos orientes del volcán Malintzin del estado de Tlaxcala, ubicada entre los 19° 14' y 19° 16' LN y los 97° 51' y 97° 55' LO, con rangos de temperatura de 8 a 16 °C y de precipitación anual de 600 a 1,100 mm. En las faldas del volcán se presenta un clima templado subhúmedo con lluvias en verano, de menor humedad y humedad media (INEGI, 2014). Las áreas agrícolas se encuentran entre los 2,400 y 2,900 msnm en suelos phaeozem y regosol, con 96 % de la superficie sembrada de maíz (SIAP, 2013).

1.2.2. Técnicas de investigación

1.2.2.1. La entrevista

En 2014 se aplicaron entrevistas a 21 familias productoras de maíces nativos pigmentados de Zacapoaxtla, Puebla e Ixtenco, Tlaxcala. Para ello se utilizó la guía como instrumento de la entrevista, con el objetivo de explorar los temas de conservación, aprovechamiento y comercialización para elaborar el cuestionario de la encuesta.

1.2.2.2. La encuesta

Se aplicó una encuesta a través de un cuestionario estructurado como señalan Hernández *et al.* (2006). La selección de la muestra, se realizó a través de un muestreo dirigido no probabilístico con la técnica de bola de nieve (Hernández *et al.*, 2006). El cuestionario se aplicó entre enero y abril de 2014 a 44 familias: 13 en Zacapoaxtla y 31 en Ixtenco (Cuadro 1.1). Los puntos de partida fueron los líderes campesinos de cada una de las dos regiones de estudio, los señores Juan Mora Zacarías de Zacapoaxtla y Jaime Domínguez Ortega de Ixtenco; quienes ayudaron a identificar a las familias productoras de maíz azul y morado que condujeron a otras familias productoras de estos genotipos.

Cuadro 1.1. Temas y variables de la encuesta.

Tema	Variable
Características de los productores de maíces nativos pigmentados	<ul style="list-style-type: none"> • Superficie total sembrada por productor • Porcentaje de superficie dedicada al cultivo de maíz • Superficie de maíz sembrada
Conservación de los maíces nativos pigmentados	<ul style="list-style-type: none"> • Tendencias de conservación de los productores de maíces pigmentados • Características favorables en alimentos que fomentaron la conservación • Preferencias de conservación de maíces pigmentados • Conservación de semillas nativas
Diversidad de los maíces nativos pigmentados	<ul style="list-style-type: none"> • Número de colores de maíz sembrados • Colores de maíz sembrados • Rendimiento de grano por color de maíz
Uso y manejo de los maíces nativos pigmentados	<ul style="list-style-type: none"> • Usos por color de maíz pigmentado • Beneficios por el consumo de maíces pigmentados
Percepciones de comercialización de los productores de maíces nativos pigmentados	<ul style="list-style-type: none"> • Facilidad de venta de los maíces pigmentados • Propuestas para mejorar la comercialización de maíces pigmentados

1.2.3. Análisis estadístico

Se emplearon técnicas de estadística descriptiva, como cálculo de frecuencias, promedios y gráficas para las variables de caracterización de productores, conservación, diversidad, uso, manejo y comercialización de los maíces nativos pigmentados, a través del paquete estadístico Statistical Package for the Social Sciences IBM – SPSS Statistics® (SPSS, I., 1999).

Para las variables porcentaje de superficie dedicada al cultivo de maíz, tendencias de conservación de los productores de maíces pigmentados, conservación de semillas nativas, características favorables en alimentos que fomentaron la conservación, preferencias de conservación de maíces pigmentados, número de colores de maíz sembrados, colores de maíz sembrados, usos por color de maíz pigmentado, beneficios por el consumo de maíces pigmentados, facilidad de venta de los maíces pigmentados y propuestas para mejorar la comercialización de maíces pigmentados, se hicieron pruebas de ji-cuadrada para tablas de contingencia, considerando las regiones de estudio como criterios de clasificación para cada variable. Para ello se empleó el paquete estadístico Statistical Analysis System SAS® (SAS Institute, 1999).

Para las variables superficie total sembrada por productor, superficie de maíz sembrada y rendimiento de grano por color de maíz, se hizo un análisis de varianza entre regiones, considerando a los agricultores como repeticiones dentro de cada región. Se empleó el paquete estadístico SAS® (SAS Institute, 1999).

1.3. Resultados

1.3.1. Caracterización de los productores de maíces nativos pigmentados

Los productores encuestados de las dos microrregiones de estudio que producen maíces de color, son personas que rondan los 60 años de edad, que tienen un pleno dominio de su lengua indígena y que además cultivan en tierras ejidales a través de una agricultura de temporal (secano) donde conjuntamente con el maíz, como cultivo principal, también producen frijol y haba. Aun así, algunos están distribuidos en varias comunidades con diferentes tipos de suelo y superficies totales así como diferentes cultivos secundarios ya que no pertenecen a la misma etnia indígena o tienen el mismo grado de escolaridad, o la misma participación de sus mujeres (Cuadro 1.2).

Cuadro 1.2. Características de los productores de maíces pigmentados en 2014.

Elemento	Microrregión	
	Zacapoaxtla	Ixtenco
Distribución por localidades	4.0	1.0
Sin escolaridad	15.4 %	9.7 %
Lengua indígena	Náhuatl	Otomí
Dominio de lengua indígena	61.5 %	77.4 %
Tipo de agricultura	Temporal	
Tierra ejidal	69.2 %	77.4 %
Edad promedio (años)	64.4	59.8
Participación de mujeres	7.7 %	22.6 %
Tipo de suelo	Polvilla (andosol)	Arenosa (regosol)
Superficie total cultivada (hectáreas)	3.1	3.9
Cultivos y porcentajes de superficie cultivada		
Maíz	82.1 %	85.4 %
Frijol	4.7 %	5.8 %
Calabaza	0.0 %	2.6 %
Alverjón	2.8 %	3.3 %
Haba	9.4 %	2.6 %
Papa	0.9 %	0.0 %
Trigo	0.0 %	0.4 %

1.3.2. Tipos de maíz pigmentado conservados, percepción y razones de conservación

Los productores de las microrregiones de Zacapoaxtla e Ixtenco consideraron que sus maíces de color se siguen conservando en un 61.5 % y en un 58.1 %, respectivamente. En Zacapoaxtla, el resto consideró que la conservación de sus maíces de color ha disminuido, en Ixtenco, un 38.7 % también afirmó que la conservación ha disminuido mientras que un 3.2 % consideró que ha aumentado. En ambas microrregiones los productores consideran que los maíces de colores se siguen conservando.

Los motivos de conservación de los maíces pigmentados en cada microrregión fueron diferentes. En Zacapoaxtla sobresalieron los beneficios a la salud por su consumo (resaltaron su utilidad como suplemento alimenticio en la dieta de enfermos y para la producción de leche materna en mujeres lactantes), el bajo porte en planta comparado con el maíz blanco, el rendimiento en la elaboración de “tortilla” y “atole”, el desempeño del genotipo en la región y el uso de la semilla por tradición la elaboración de “rosarios” y “atole agrio” durante semana santa. En Ixtenco fueron el consumo como fuente de energía, el uso de la semilla por tradición en la elaboración de “atole agrio” y la diversidad de colores, primordial para la fabricación de artesanías como cuadros, collares, aretes y figuras (Figura 1.1).

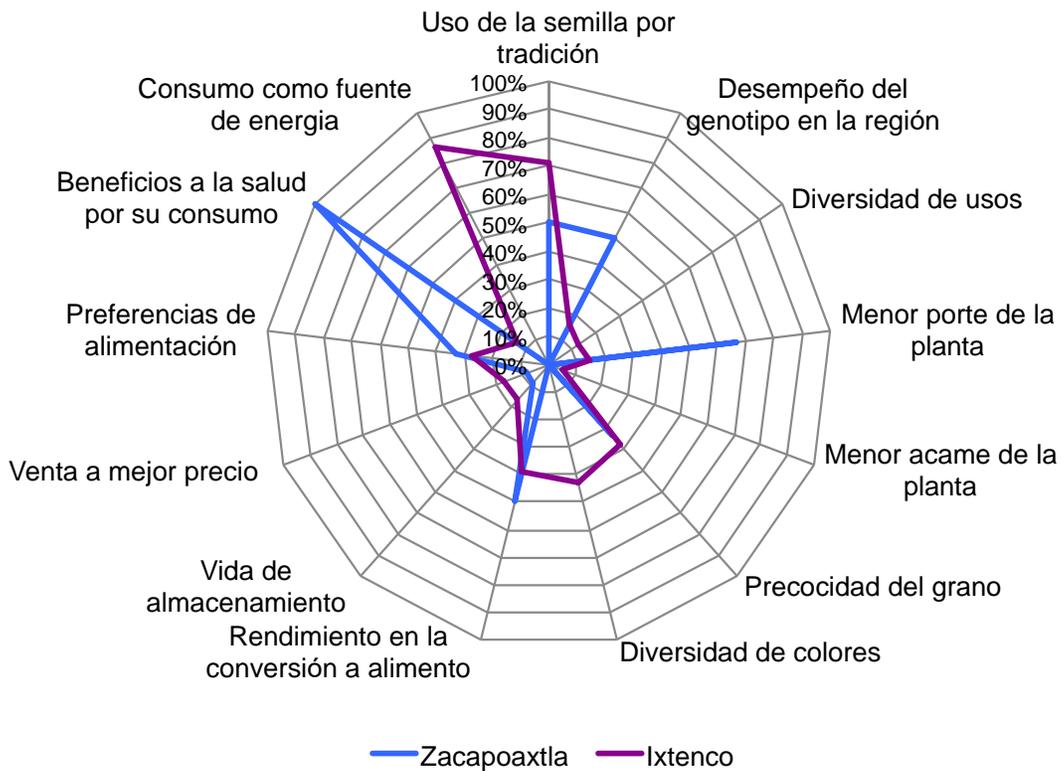


Figura 1.1. Motivos de conservación de los maíces pigmentados.

De acuerdo con los resultados de las entrevistas, las causas que afectaron la conservación de los maíces pigmentados fueron la vulnerabilidad al acame, con 76.9 % en la microrregión de Zacapoaxtla y la corta vida de almacenamiento de grano, con 50 % en la microrregión de Ixtenco y para ambas microrregiones. Adicionalmente, puede decirse que otro factor que puede incidir es

el desconocimiento por parte de los productores de las propiedades antioxidantes de los maíces azules y morados.

La prueba de ji-cuadrada reveló diferencias ($p < 0.01$) entre regiones para características favorables para la alimentación, que fomentaron la conservación de los maíces azul, rojo y morado ($X^2= 19.90$) con un 76.9 % para el carácter de “consistencia-rendimiento” en la microrregión de Zacapoaxtla, y con un 90.3 % para el carácter de “sabor-color” en la microrregión de Ixtenco. El genotipo azul, rojo y morado de cada microrregión se conservó a través del uso por presentar diferentes características en alimentos.

La distribución de porcentajes en el número de colores de maíz sembrada en cada región fue diferente ($X^2= 12.77$; $p < 0.01$); la diferencia más notable se debió a que en Zacapoaxtla un 61.5 % de los productores reportó emplear de 2 a 3 materiales mientras que en Ixtenco el porcentaje más alto (58.1 %) correspondió a más de 5 materiales. Los tipos de maíz por coloración de grano ($X^2= 14.68$; $p < 0.01$) presentaron mayor distribución en los genotipos azul de Zacapoaxtla (33.3 %) y morado de Ixtenco (17.4 %). El maíz de color blanco registró el subtipo cacahuacintle en Zacapoaxtla (10.3 %) y en Ixtenco (11.2 %). La microrregión de Ixtenco registró la presencia de maíz híbrido (0.6 %) con 7 años de uso. El resto de las variables sometidas a la prueba de ji-cuadrada no reveló diferencias significativas entre regiones.

En ambas microrregiones, la superficie total sembrada con maíces pigmentados fue de 1.3 hectáreas en promedio, es decir, menor al 50 % de la superficie total sembrada. Los maíces pigmentados con mayor superficie sembrada fueron el amarillo en Zacapoaxtla con 0.606 de hectárea y el morado en Ixtenco con 0.176 de hectárea. Las principales superficies de siembra después del maíz blanco fueron para los maíces amarillo y azul en Zacapoaxtla y morado y azul en Ixtenco.

El rendimiento de grano reportado por los agricultores resultó diferente entre regiones: el maíz azul de Zacapoaxtla rindió más que el de Ixtenco. De acuerdo al análisis de varianza realizado, los rendimientos del maíz blanco y azul de Zacapoaxtla presentaron diferencias significativas ($p < 0.01$) en relación a los materiales de Ixtenco, con 2,872 kg/ha para el maíz blanco y 2,403 kg/ha

para el maíz azul (Figura 1.2). Para el resto de materiales de color comparados no hubo diferencias significativas en cuanto a rendimiento de grano.

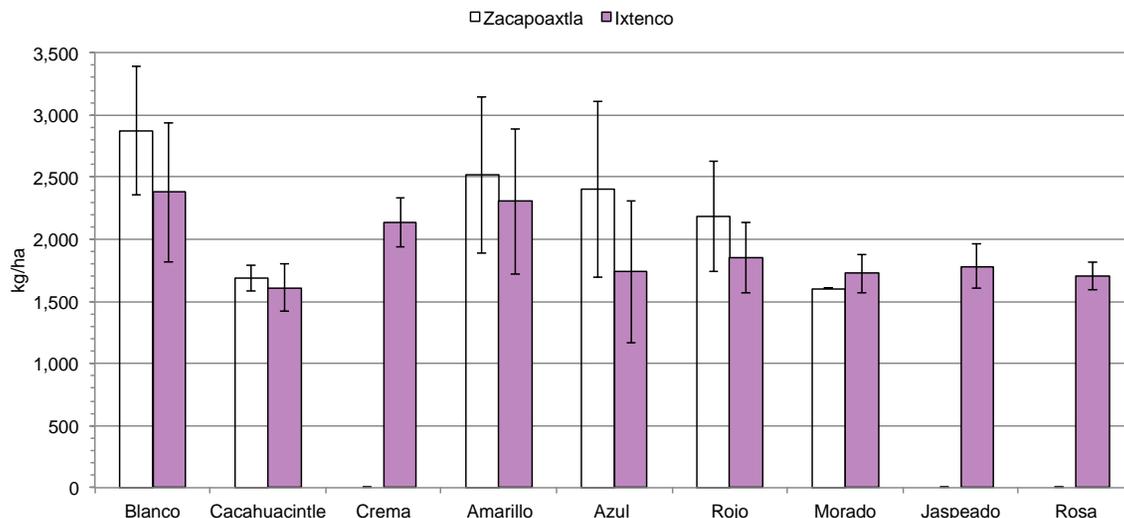
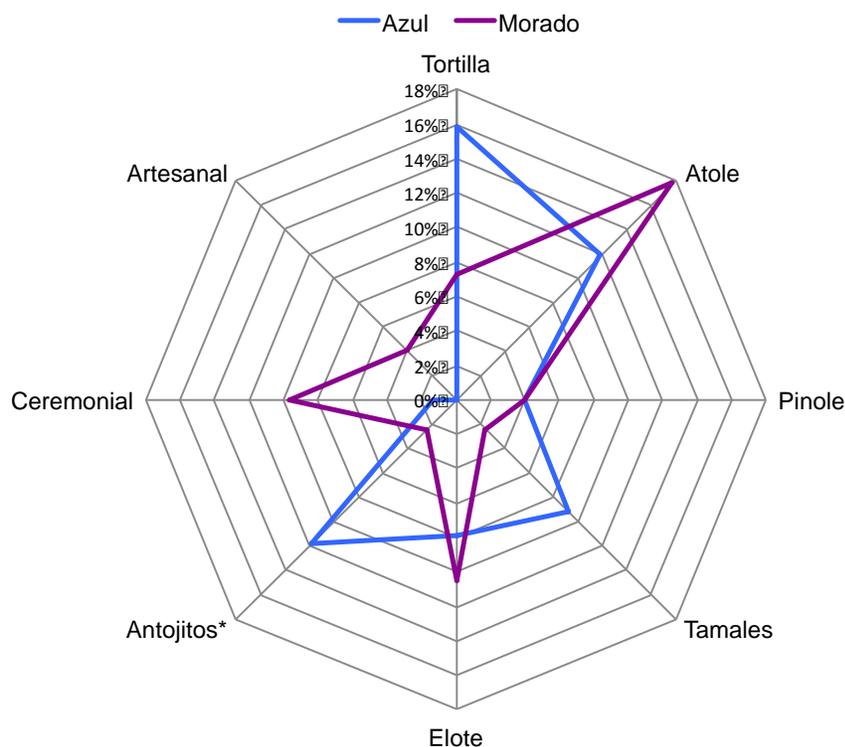


Figura 1.2. Rendimientos de los maíces pigmentados.

1.3.3. Uso de los maíces nativos pigmentados

El uso alimenticio humano (59.6 %) y animal (37.3 %), para ambas microrregiones, reportó la mayor distribución en el uso de maíces pigmentados. El uso principal fue para la elaboración de “tortilla” en Zacapoaxtla y para la elaboración de “atole” en Ixtenco (Figura 1.3). Es de resaltar el hecho de que en las dos microrregiones de estudio, aunque en baja frecuencia, persiste el uso ceremonial del maíz. Así, en Zacapoaxtla, se emplea para la elaboración de “rosarios” y “atole agrio” durante semana santa, en tanto que en Ixtenco se utiliza por los “Mayordomos” para la elaboración de “atole agrio” el cual es repartido mensualmente en la Parroquia de San Juan Bautista, así como para la fabricación de cuadros, collares, aretes, figuras y extracción de tinta.



*tlacoyos, quesadillas, memelas, gorditas etc.

Figura 1.3 Usos del grano de los maíces azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco.

1.3.4. Comercialización de los maíces nativos pigmentados

Más del 70 % de los productores de maíces nativos pigmentados de ambas microrregiones consideraron que no hubo facilidad en la venta de sus maíces debido a la escasa demanda y la corta vida de almacenamiento de estos materiales. No obstante, un 66 % aceptó que el desarrollo de propuestas de venta encaminadas a la difusión y publicidad de sus maíces de color como “la fiesta del maíz” (un evento local de Ixtenco que promueve la conservación de la diversidad en dicho cultivo) mejoraron la venta. El 34 % restante consideró que la agregación de valor a través de la gastronomía (elaboración de “tortillas” y “atoles”) y la artesanía (elaboración de cuadros, collares, aretes y figuras), también contribuyen a la venta debido a la poca competencia que hay para estos usos particulares.

Los lugares de venta para la microrregión de Zacapoaxtla fueron la cabecera municipal (63.3 %), otras comunidades (18 %), particularmente Zaragoza, dentro de las comunidades (11.7 %) y

mediante intermediarios (6.7 %) (Figura 1.4). Del porcentaje total de la producción por color, los maíces vendidos fueron el azul (40.0 %) y el amarillo (38.8 %) a un precio, para ambos materiales, de \$0.24 USD. Los materiales que no se destinaron a la venta fueron el cacahuacintle, el rojo y el morado. Aun cuando para los productores de la microrregión de Zacapoaxtla les fue más difícil vender sus maíces de color por el gasto y la frecuencia que implica el traslado a la cabecera municipal, lograron obtener los más altos precios de venta en los genotipos de maíz blanco y azul.

Los lugares de venta de grano más frecuentes para la microrregión de Ixtenco fueron la propia comunidad (64.7 %) y mediante intermediarios (27.9 %). Conviene señalar que en esta comunidad, los “productores-artesanos” (productores de maíces pigmentados que además se dedica a la fabricación de artesanías) vendieron cantidades adicionales de grano a través de los cuadros, collares, aretes y figuras que elaboran y que comercializan en otros estados como Puebla y el Distrito Federal (Figura 1.4). Aunque todos los materiales de color se vendieron, los genotipos menos vendidos fueron el amarillo con 50.5 %, el crema con 55.0 % y el morado con 57.8 %. Los precios por kilogramo de grano oscilaron entre \$0.13 USD y \$0.80 USD, donde el genotipo morado reportó el precio máximo de venta.

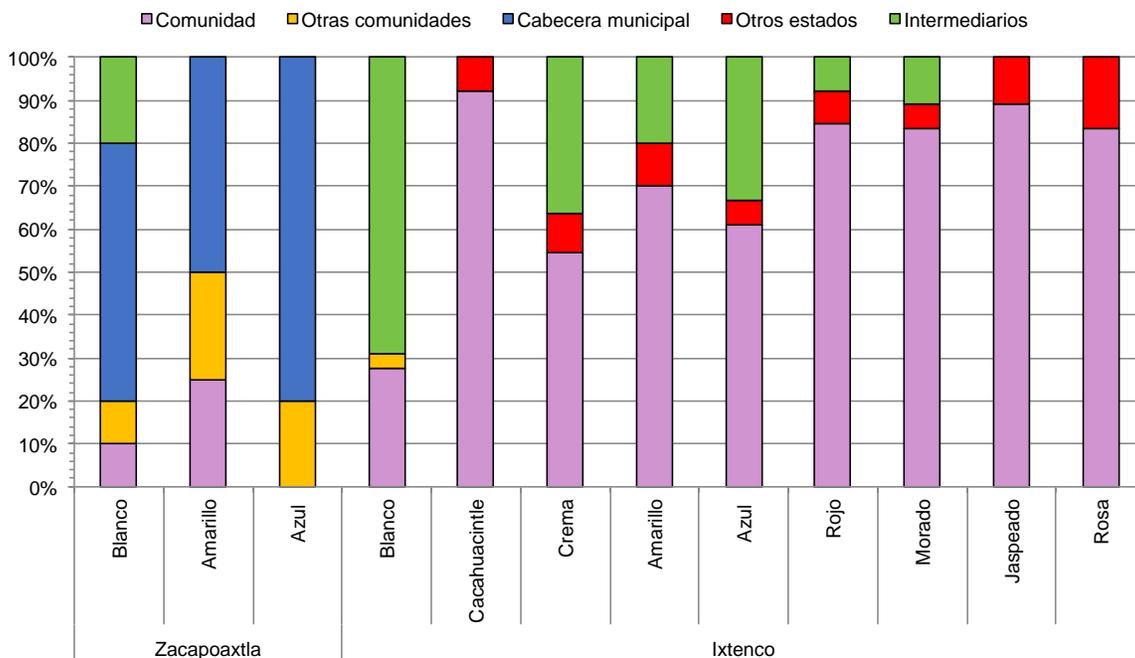


Figura 1.4 Lugar de venta de los maíces pigmentados.

En los precios del grano de los maíces nativos en cada microrregión se observó que en Ixtenco hubo variación en los precios de venta de los genotipos de color; por un lado los precios máximos correspondieron a aquéllos casos en los que el grano se empleó para la fabricación de artesanías y el pre-procesamiento al moler el grano y vender la harina para la elaboración de “atole” en la comunidad mientras que los precios mínimos se registraron en aquéllos casos en los que el grano de los genotipos de colores se vendió a artesanos de la misma comunidad para la elaboración de artesanías, reflejando un tipo de solidaridad económica al interior de la comunidad (Figura 1.5).

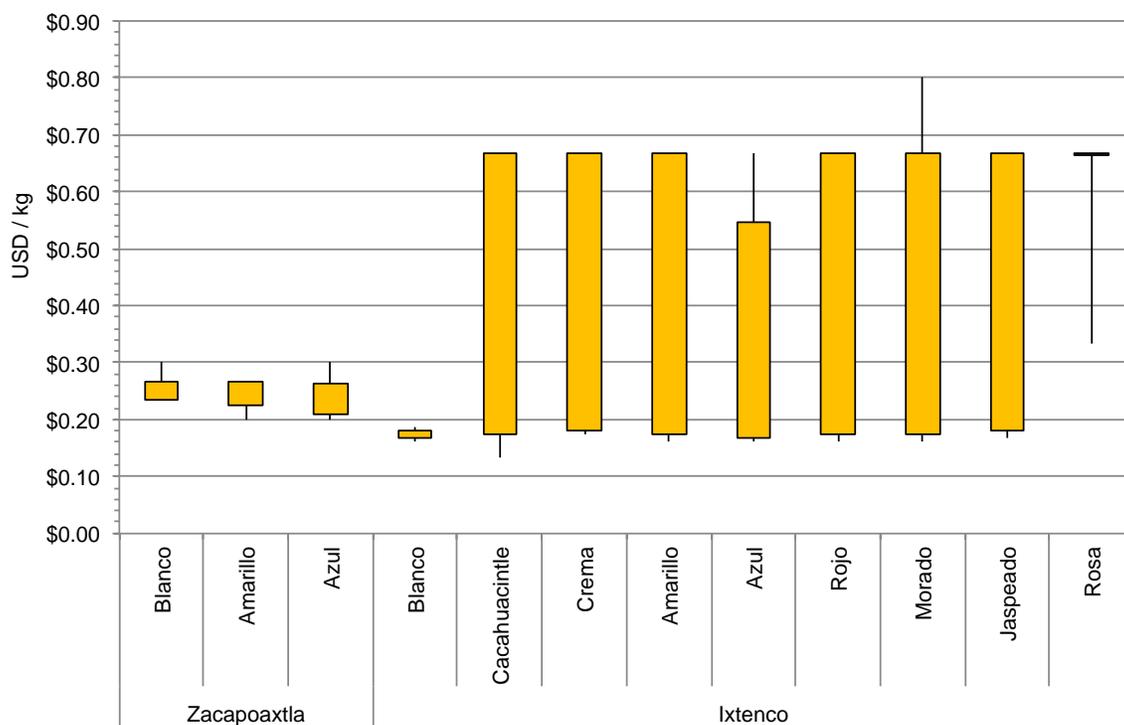


Figura 1.5 Precios de venta del grano de los maíces pigmentados.

1.4. Discusión

La diversidad del maíz es un fenómeno complejo que se enriquece por los diferentes vínculos que se establecen con los agricultores, las fiestas religiosas que se hacen entorno al cultivo del maíz y las condiciones climáticas del mismo (Brush, 1995). Al caracterizar, no se trata de solo conocer y de inventariar la semilla que conservan los agricultores, sino también la cultura agronómica, agrícola-religiosa y culinaria, es decir, la poblaciones nativas de maíz mantienen su valor cultural y como alimento popular, con una gran diversidad de tipos y productos que de ellos se derivan

(Ortiz *et al.*, 2010). Por lo que es importante incorporar este tipo de información al momento de hacer la recolección y caracterización, ya que se pueden utilizar como eje económico para ampliar sus mercados y usos, y reactivar la conservación *in situ* de la agrobiodiversidad (Turrent y Cortés, 2005).

Con base en lo observado, se puede afirmar que, en las microrregiones de estudio, los maíces pigmentados han sido conservados a través del uso alimenticio, ceremonial y artesanal, tal como lo han reportado autores como María *et al.* (2003); Hernández (1985) y Saravia (1975) quienes exponen que los maíces pigmentados siempre han estado presentes en la alimentación, en la mitología y en los rituales religiosos de las culturas indígenas de México. Altieri y Toledo (2011) afirman que las adaptaciones agroecológicas de este recurso fitogenético permitieron que los granos de maíz adquirieran diversos usos; complementando lo anterior, Boege (2009) y Ortega (2003) apuntan que los usos especiales del maíz determinaron los criterios de selección en aquellos genotipos de maíz más aptos para la elaboración de un producto en específico, dándole a la variedad de maíz características deseables, distintivas, sobresalientes y únicas. Todo ello contribuyó a mejorar su valor social y económico, además de incentivar su conservación *in situ* (Landini, 2010).

Los principales tipos de maíz pigmentado conservados fueron el azul y el morado. Ello probablemente se deba a que ambos tipos de maíz se han utilizado en los valles altos de México desde épocas prehispánicas para la elaboración de “atole”, “tortillas”, “tlacoyos”, “gorditas”, “pinole” y una gran variedad de alimentos tradicionales (Lazos y Chauvet, 2011) y a que por lo general el grano de maíz azul en México ha recibido un precio aproximado entre 10 % y 15 % más en comparación con el maíz blanco debido a que es comercializado como maíz para especialidades, como el “pozolero” y el “palomero” (Hellin *et al.*, 2013; Keleman y Hellin, 2009). En esta categoría, el tipo más importante por volumen de producción ha sido el de colores y dentro de este subgrupo el más importante por su cantidad ha sido el azul (SIAP, 2011; CONABIO 2011), principalmente por el rendimiento que ha presentado en algunos variedades como el arrocillo (Mauricio *et al.*, 2004).

El maíz azul presentó diversos usos alimenticios. La explicación de ello es que en México existen no menos de setecientas formas de comer el maíz (Echeverría y Arroyo, 2000); el uso alimenticio principal del maíz azul ha sido el “atole”, la “tortilla” y otros productos derivados de la masa, a diferencia del maíz morado que predominantemente se ha destinado a la elaboración de “atole agrio” (Suárez *et al.*, 2013; Narváez *et al.*, 2006).

Los productores de maíces nativos pigmentados desarrollaron estrategias de vida económica y solidaria para la comercialización de sus maíces nativos pigmentados. Es de resaltar el hecho de que en Ixtenco, el consumo y la elaboración de artesanías que los pobladores venden cuando celebran “la fiesta del maíz” así como la preparación de “atole agrio”, el cual se prepara con maíz morado fermentado durante los festejos religiosos (Guevara y Romero, 2011; Barros, 2009; Guadarrama y Hernández, 1981), permitieron el surgimiento de un mecanismo de apoyo solidario para la comercialización de maíces nativos pigmentados al interior de la comunidad, promoviendo así un valor de uso para este recurso genético local, y generando una estrategia de conservación y uso (Collin, 2007; Chávez *et al.*, 2004). De esta manera se propicia un desarrollo basado principalmente, pero no exclusivamente, en los recursos disponibles, el conocimiento, la cultura y el liderazgo a nivel local, por medio de la integración de saberes, prácticas endógenas/exógenas, mecanismos de aprendizaje local y beneficio común (Haverkort *et al.*, 2013).

Este estudio ha avanzado un paso más hacia la generación de información sobre los procesos sociales en torno a los maíces nativos pigmentados, particularmente en la importancia socioeconómica de los maíces azul y morado. Es posible que existan otras variedades de maíz azul y morado con procesos sociales totalmente diferentes. Por tal motivo, es importante enfatizar que las variedades de maíz pigmentado empleadas en este estudio limitan nuestra interpretación con otros genotipos similares.

El método de investigación planteado en este estudio debe ser repetido en otras variedades de maíz azul y morado, con el propósito de generar una base de información científica sobre la importancia socioeconómica de un mayor número de genotipos similares. De igual manera es indispensable realizar investigaciones que permitan conocer si estos genotipos de maíz pigmentado, presentes en

la cultura mexicana, también son importantes socioeconómicamente como recurso fitogenético en otras culturas a nivel mundial.

1.5. Conclusiones

- La importancia socioeconómica en la conservación de los maíces nativos pigmentados en comunidades de México reside en los diferentes usos, aplicaciones y estrategias de sobrevivencia, motivos que sustentan su “conservación a través del uso” y que están determinados por los mismos grupos sociales que los custodian, sus creencias y los conocimientos asociados a estos tipos de maíces.
- La importancia socioeconómica en el aprovechamiento de estos materiales de color está determinada por el uso alimenticio para “tortilla” y “atole”, el sincretismo religioso por medio de la elaboración de “atole agrio” y la fabricación de artesanías como estrategia de vida para la comercialización.
- La importancia socioeconómica en la comercialización radica en que el uso de estos granos pigmentados es predominantemente hacia el interior de las propias comunidades, registrando poco volumen y pocos productores que lo comercializan. A pesar de alcanzar mayores precios que el grano blanco. Su uso en artesanías y en “atole agrio” predomina en la comunidad de Ixtenco. En tanto, en Zacapoaxtla su uso está más dirigido al autoconsumo a través de “tortilla”.

1.6. Referencias

- Acosta-Naranjo, R., & Rodríguez-Franco, R. (2014). La biodiversidad cultivada: Actores sociales y estrategias en el contexto de la nueva ruralidad en España. *Agrociencia*, 48(1), 115-130.
- Altieri, M. A., & Toledo, V. M. (2011). The agroecological revolution in Latin America: rescuing nature, ensuring food sovereignty and empowering peasants. *The Journal of Peasant Studies*, 38(3), 587-612.
- Barros, C. (2009). Maíz, alimentación y cultura. *Ciencias*, 92, 56-59.
- Betanzos, M. (2004). Contribuciones de la genotecnia en el cultivo de maíz en México. En P.E. Preciado y S.A. Rios (eds.). Memoria del simposium aportaciones de la genotecnia a la agricultura. *Sociedad Mexicana de Fitogenética A.C.* Chapingo, México. 87-102 p.
- Boege Schmidt, E. (2009). Centros de origen, pueblos indígenas y diversificación del maíz. *Ciencias*, 92, 18-28.
- Brush, S. B. (1995). In Situ Conservation of Landraces in Centers of Crop Diversity. *Crop Science*, 35(2), 346-354.
- Collin Harguindeguy, L. (2007). Experiencias en torno al dinero alternativo, fortalezas y debilidades. *Pasos*, 132, 11-22.
- 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"*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Recuperado a partir de <http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/proyectoMaices.html>
- CONACULTA, Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. (2004). *Pueblo de maíz: la cocina ancestral de México. Ritos, ceremonias y prácticas culturales de la cocina de los mexicanos* (CONACULTA). México, D.F.
- Chávez-Servia, J. L., Tuxill, J., & Jarvis, D. I. (2004). *Manejo de la diversidad de los cultivos en los agroecosistemas tradicionales*. Bioersivity International. Roma, Italia. 255 p.
- Cuéllar Padilla, M., & Sevilla Guzmán, E. (2009). Aportando a la construcción de la Soberanía Alimentaria desde la Agroecología. *Ecología Política*, (38), 43-51.
- Echeverría, M. & Arroyo, L. (2000). Recetario del maíz. *Cocina Indígena y Popular* No. 10. *Consejo Nacional para las Culturas y las Artes*. Mexico, D.F. 397-407 p.

- Escobedo-Garrido, J. S., & Benítez-Vázquez, J. A. (2013). Agronegocios con maíz azul frente a emigración y desarrollo local. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 17(33), 609-620.
- Gil, M. A., Antonio, L. P., Muñoz, O. A. y López, S. H. (2004). Variedades criollas de maíz (*Zea mays* L.) en el estado de Puebla, México: diversidad y utilización. In: Chávez-Servia, J. L., Tuxill, J., & Jarvis, D. I. (eds.) Manejo de la diversidad de los cultivos en los agroecosistemas tradicionales. IPGRI. Roma, Italia. 18-25 p.
- Guadarrama, Z. C., & Hernández, X. E. (1981). Valor de uso y relaciones económicas en la agricultura tradicional de Nauzontla, Pue. *Geografía Agrícola* 1. 73-76.
- Guevara-Hernández, J., & Romero-Melgarejo, O. (2011). La cultura étnica de los Nahuas y los Yuhmu (Otomíes) de la región del volcán La Malinche. *Revista Teccalli*, 1(2), 40-48.
- Haverkort, B., Delgado-Burgoa, F., Shankar, D., & Millar, D. (2013). Hacia el diálogo intercultural: construyendo desde la pluralidad de visiones de mundo, valores y métodos en diferentes comunidades de conocimiento. La Paz, Bolivia: AGRUCO/Plural editores. 233 p.
- Hellin, J., Keleman, A., Lopez, D., Donnet, L., & Flores, D. (2013). La importancia de los nichos de mercado. Un estudio de caso del maíz azul y del maíz para pozole en México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(Especial 6), 315-328.
- Hernández-Sampieri, R., Fernández-Collado, C., & Baptista-Lucio, P. (2006). *Metodología de la investigación* (4a. ed). México: McGraw-Hill. 850 p.
- Hernández-Xolocotzi, E. (1985). Maize and man in the Greater Southwest. *Economic Botany*, 39(4), 416-430.
- INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2014). *Marco Geoestadístico Nacional*. Disponible en: http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/geoestadistica/m_geoestadistico_2014.aspx
- Keleman, A., & Hellin, J. (2009). Specialty Maize Varieties in Mexico: A Case Study in Market-Driven Agro-Biodiversity Conservation. *Journal of Latin American Geography*, 8(2), 147-174.
- Landini, F. (2010). Local knowledge dynamics and the search for scientific knowledge process - Contribution of a case study. *Cuadernos de Desarrollo Rural*, 7(65), 19-40.
- Lazos, E. & Chauvet, M. (2011). Análisis del contexto social y biocultural de las colectas de maíces nativos en México. Proyecto *Global de Maíces, informe de gestión*, Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad. Disponible en: <http://governanzabiodiversidad.mx/bibliotecadigital/component/content/article/36->

agricultura-y-agrobiodiversidad/agrobiodiversidad/594-analisis-del-contexto-social-y-biocultural-de-las-colectas-de-maices-nativos-en-mexico

- María-Ramírez, A., Salinas Moreno, Y., & Taboada Gaytán, O. R. (2003). Maíz azul de los Valles Altos de México. I. Rendimiento de grano y caracteres agronómicos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 26(2), 101-107.
- Manuel-Rosas, I., Gil-Muñoz, A., Ramírez-Valverde, B., Hernández-Salgado, J. H., & Bellon, M. (2007). Calidad física y fisiológica de semilla de maíz criollo almacenada en silo metálico y con métodos tradicionales en Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(1), 69-78.
- Mauricio-Sánchez, R. A., Figueroa-Cárdenas, J. de D., Taba, S., Reyes-Vega, M. de la L., Rincón-Sánchez, F., & Mendoza-Galván, A. (2004). Caracterización de accesiones de maíz por calidad de grano y tortilla. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(3), 213-222.
- Narváez-González, E. D., de Dios Figueroa-Cárdenas, J., Taba, S., Tostado, E. C., Peniche, R. Á. M., & Sánchez, F. R. (2006). Relationships Between the Microstructure, Physical Features, and Chemical Composition of Different Maize Accessions from Latin America. *Cereal Chemistry Journal*, 83(6), 595-604.
- Ortega, P. R. (2003). La diversidad de maíz en México. In: Esteva, G. y C. Marielle (eds). Sin maíz no hay país. *Consejo Nacional para las Culturas Populares*. 123-154 p.
- Ortiz, R., Taba, S., Tovar, V. H. C., Mezzalama, M., Xu, Y., Yan, J., & Crouch, J. H. (2010). Conserving and Enhancing Maize Genetic Resources as Global Public Goods—A Perspective from CIMMYT. *Crop Science*, 50(1), 13-28.
- Polanco J. A., & Flores M. T. (2008). Bases para una Política de I&D e Innovación de la Cadena de Valor del Maíz. Foro Consultivo. Recuperado a partir de <http://www.foroconsultivo.org.mx/home/index.php/libros-publicados/politicas-en-cti/961-maiz>
- Ron-Parra, J., Sánchez-González, J. J., Jiménez-Cordero, A. A., Carrera-Valtierra, J. A., Martín-López, J. G., Morales-Rivera, M. M., De la Cruz-Larios, L., Mena-Munguía, S., & Rodríguez-Flores, J. G. (2006). Maíces nativos del occidente de México I. Colectas 2004. *Scientia-CUCBA*, 8, 1-139.
- Salinas, M. Y., Soria R. J., & Espinosa T. E. (2010). Aprovechamiento y Distribución de Maíz Azul en el Estado de México. Folleto Técnico No. 42. *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*. Campo Experimental Valle de México, México. 50 p.

- Saravia, A. (1975). *Popol Vuh: antiguas historias de los indios Quichés de Guatemala*. Porrúa, Guatemala. 166 p.
- SAS Institute (1999). *SAS Procedures Guide*. Ver. 8. *SAS Institute Inc. Cary, NC, U.S.A.* 1643 p.
- SIAP, Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (2011). *Estadística Básica Agrícola, Anuario 2011*. Disponible en: www.siap.gob.mx
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2013). *Cierre de la producción agrícola por cultivo*. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>
- SPSS, I. (1999). *SPSS para Windows*. Ver. 10.0. *Syntax Reference Guide*. Illinois.
- Suárez, R. F., Chávez, L. A. M., & Mariscal, A. G. (2013). Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(3-A), 275-283.
- Toledo, V. M. (2008). Metabolismos rurales: hacia una teoría económico-ecológica de la apropiación de la naturaleza. En *Revibec: revista de la Red Iberoamericana de Economía Ecológica* (Vol. 7, pp. 01-26). Recuperado a partir de <http://ddd.uab.cat/record/25647>
- Trejo, I. (2004). El impacto del cambio climático en los bosques y áreas naturales protegidas de México. En J. Martínez & A. Fernández Bremauntz (Eds.), *Cambio climático: una visión desde México* (pp. 10–19). Mexico, D.F.: Instituto Nacional de Ecología.
- Turrent-Fernández, A., & Cortés-Flores, J. I. (2005). Ciencia y tecnología en la agricultura mexicana: I. Producción y sostenibilidad. *Terra*, 23, 265–272.
- Vara Sánchez, I., & Cuéllar Padilla, M. (2013). Biodiversidad cultivada: una cuestión de coevolución y transdisciplinariedad. *Revista Ecosistemas*, 22(1), 5–9.
- Wezel, A., Bellon, S., Doré, T., Francis, C., Vallod, D., & David, C. (2011). Agroecology as a Science, a Movement and a Practice. En E. Lichtfouse, M. Hamelin, M. Navarrete, & P. Debaeke (Eds.), *Sustainable Agriculture Volume 2* (pp. 27-43).

CAPÍTULO II. RETENCIÓN DE ANTOCIANINAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL “ATOLE AGRIO” DEL MAÍZ AZUL DE ZACAPOAXTLA Y MORADO DE IXTENCO

Díaz-Mora Daniel¹, Natalia Palacios-Rojas^{2*}, Mario Valadez-Ramírez¹, Abel Gil-Muñoz¹,
Alejandra Miranda-Piliado², José Sergio Escobedo-Garrido¹, Ignacio Ocampo-Fletes¹

¹Programa en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional, Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Boulevard Forjadores de Puebla, Núm. 205, Santiago Momoxpan, Municipio de San Pedro Cholula. C.P. 72760, Puebla, México.

²Programa Global de Maíz, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Km 45 Carretera México-Veracruz, Texcoco. C.P. 56130, estado de México.

* Autor para correspondencia (n.palacios@cgiar.org).

Resumen

Las antocianinas del maíz pueden ser utilizadas como colorantes o bien ser aprovechadas en la industria nutracéutica por sus propiedades como antioxidante, actividad antimicrobiana, capacidad antiproliferativa de células carcinogénicas, efecto antiobesidad y reducción y control de la hiperglucemia. La mayoría de las investigaciones de alimentos tradicionales se han destinado a evaluar la capacidad antioxidante de antocianinas y fenoles en productos nixtamalizados como “masa”, “tortilla”, “totopo” o simplemente en grano, dejando de lado otros tipos de alimentos tradicionales con procesos diferentes a la nixtamalización como el “atole agrio”. El objetivo de este estudio fue cuantificar la capacidad antioxidante del “atole agrio” elaborado con los maíces azul y morado a través de su caracterización fenólica y antociánica. Se analizaron bioquímicamente por HPLC, ORAC y DPPH un total de 13 accesiones por cada genotipo de maíz azul y morado en grano, “olote” y “atole agrio” con y sin “olote”. El maíz morado en grano se encontró 2.30 mg/g de ácido ferúlico y 1,173.90 µg/g de antocianinas totales, mientras que en “atole agrio” sin “olote” se encontró 0.22 mg/g de ácido ferúlico y 194.56 µg/g de antocianinas totales, sin embargo, en este último genotipo en “atole agrio” con “olote”, se encontró 0.25 mg/g de ácido ferúlico y 319.71 µg/g de antocianinas totales. El rango de capacidad antioxidante de antocianinas totales en maíz azul fue de 80.62 % y 62.86 % de DPPH y el % RV de antocianinas totales fue de 37.51 % y 13.97 %. El porcentaje de retención verdadera de cianidina-3-glucósido e incorporación de “olote” durante el procesamiento aumentan la capacidad antioxidante del “atole agrio” de los maíces azul y morado.

Palabras clave: cianidina, “olote”, ferúlico, nutracéutico, tradicional, cumárico.

Abstract

The maize anthocyanins can be used as dyes or be exploited in the nutraceutical industry for its properties as an antioxidant, antimicrobial, anti-proliferative capacity of carcinogenic cells, and anti-obesity effect reduction and control of hyperglycemia. The majority of the investigations of traditional foods have been used to evaluate the antioxidant capacity of anthocyanins and phenolic in nixtamalized products as "masa", "tortilla", "totopo" or just kernels, leaving out other types of traditional food products with processes different to the nixtamalization as "sour atole". The aim of this study was to quantify the antioxidant capacity of "sour atole" made with blue and purple maize through its phenolic and anthocyanin characterization. A total of 13 accessions were biochemically analyzed by HPLC, ORAC and DPPH per genotype of blue and purple maize in kernel, "cob" and "sour atole" with and without "cob". The purple maize kernel reported 2.30 mg/g of ferulic acid and 1,173.90 µg/g of total anthocyanins, whereas in "sour atole" without "cob" reported 0.22 mg/g of ferulic acid and 194.56 µg/g of total anthocyanins, however, in the latter genotype in "sour atole" with "cob" reported 0.25 mg/g of ferulic acid and 319.71 µg/g of total anthocyanins. The range of antioxidant capacity of total anthocyanins in blue maize was 80.62 % and 62.86 % of DPPH and % RV from total anthocyanins was 37.51% and 13.97 %. The percentage of real retention cyanidin-3-glucoside and incorporation of "cob" during processing increase the antioxidant capacity of "sour atole" of blue and purple maizes.

Keywords: cyanidin, "cob", ferulic, nutraceutical, traditional and coumaric.

2.1. Introducción

El maíz representa uno de los alimentos esenciales para la dieta de los mexicanos, evidencia de ello es que se destina un 69 % de la producción al consumo humano (Salinas *et al.*, 2010), ya sea en forma de mazorca, hervido o asado; en harina, horneado, procesado con cal o fermentado (Echeverría y Arroyo, 2000). Con una ingesta diaria promedio *per cápita* de más de 342 gramos al día, el maíz proporciona alrededor de un tercio de las calorías para los mexicanos (Atlin *et al.*, 2010).

En varias regiones de México se conservan y emplean genotipos nativos de maíces de colores, entre otras razones, por su uso tradicional para la elaboración de productos como “tortillas”, y “atole” (CONACULTA, 2004). El “atole” es una bebida dulce de maíz en agua, en proporciones tales que al final de la cocción tiene una moderada viscosidad (Aparicio, 2013). Se consume desde épocas prehispánicas como fuente de energía y como suplemento alimenticio en la dieta de enfermos (Barros y Buenrostro, 2007; Coe, 2004; Barragán *et al.*, 1998; Hernández, 1942), es hoy en día una bebida importante en la dieta y cultura de los mexicanos (Benítez, 2014; Barros, 2009; Alvarado, 2007).

El color de los granos de los maíces azules está dado por la presencia de antocianinas, compuestos fenólicos con actividad antioxidante que juegan un papel importante en la disminución de los niveles de colesterol (inhibiendo su síntesis), protección contra enfermedades cardíacas y prevención de ciertos tipos de cáncer (Soto *et al.*, 2012; Hosoda *et al.*, 2012). Las antocianinas presentes en maíz son mayoritariamente glucósiladas (cianidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido, respectivamente) (Salinas *et al.*, 2012).

Las antocianinas y otros compuestos fenólicos se reducen durante el proceso de nixtamalización, o cocción con cal, el cual es utilizado en la elaboración de “masa”, “tortillas” y “totopos”. Dichas pérdidas varían entre 95 % y 65 % y se reflejan igualmente en una disminución de la actividad antioxidante presente en los productos alimenticios (Reyes *et al.*, 2012).

En maíz, las antocianinas simples reportadas son: cianidina 3-glucósido, pelargonidina 3-glucósido y peonidina 3-glucósido (Raghvendra, 2011). La primera es común en los maíces de

grano azul y morado (Gorriti *et al.*, 2014) y las dos restantes en los de grano rojo (Salinas *et al.*, 2012). El proceso de nixtamalización del grano de maíz empleado en México para la elaboración de una gran cantidad de alimentos ocasiona una pérdida de tales compuestos (Reyes *et al.*, 2012), razón por la cual una proporción importante de las investigaciones sobre alimentos tradicionales se han orientado a evaluar la capacidad antioxidante de antocianinas y fenoles en productos nixtamalizados como “masa” (De la Parra *et al.*, 2007), “tortilla” (Cortés *et al.*, 2005) o “totopo” (Serna *et al.*, 2013). Otros trabajos se han enfocado a cuantificar los contenidos de antocianinas y la capacidad antioxidante en el grano sin procesar (Salinas *et al.*, 2012), pero se ha dejado de lado el estudio de otros alimentos tradicionales en cuya preparación no involucra la nixtamalización, como el “atole agrio”.

Al ser el “atole” un alimento ampliamente consumido por la población mexicana, especialmente del área rural, es importante evaluar la capacidad antioxidante del “atole agrio” elaborado con los maíces azul y morado al igual que la caracterización y retención de compuestos fenólicos y antocianinas. El potencial reconocimiento de un valor nutracéutico del “atole agrio”, contribuye al rescate y la revalorización de los maíces nativos.

Con base en lo antes expuesto, el objetivo de este estudio fue cuantificar la capacidad antioxidante del “atole agrio” elaborado con los maíces azul y morado a través de su caracterización fenólica y antociánica.

2.2. Materiales y Métodos

2.2.1. Material genético

El material base para el estudio lo constituyeron 26 poblaciones nativas de maíz, 13 de maíz azul, procedentes de las localidades de Ixtacapan, Texocoyohuac, Nexticapan y El Molino en Zacapoaxtla, Puebla que se encuentran en la microrregión de los valles templados de la Sierra Nororiental del estado de Puebla y están ubicadas entre los 19° 46' y 19° 51' LN y los 97° 32' y 97° 36' LO, con rangos de temperatura de 12 a 20 °C y de precipitación anual de 800 a 2,100 mm (INEGI, 2014); y 13 de maíz morado, cultivadas en la localidad de San Juan Ixtenco en Ixtenco, Tlaxcala que se encuentra en la microrregión de los llanos orientes del volcán Malintzin del estado

de Tlaxcala localizada entre los 19° 14' y 19° 16' LN y los 97° 51' y 97° 55' LO, con rangos de temperatura de 8 a 16 °C y de precipitación anual de 600 a 1,100 mm (INEGI, 2014). (Figura 2.1)



Figura 2.1 Colectas de maíz azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco, respectivamente.

La elección de ambas poblaciones obedeció a que existen antecedentes (Guevara y Romero, 2011) de que en las dos regiones continúa vigente la preparación del “atole agrio” a partir de maíces nativos. La colecta fue dirigida, ya que se buscó obtener muestras de agricultores que cultivaran maíces de los colores ya mencionados y que lo emplean para la elaboración de “atole agrio”. Para ello, se utilizó un muestreo no probabilístico con la técnica bola de nieve (Hernández *et al.*, 2006), a partir de un agricultor que cultivara maíz azul en el caso de Zacapoaxtla y de maíz morado en Ixtenco. De cada muestra se colectaron aproximadamente 4 kg (20 mazorcas) de la cosecha 2013. Las muestras se numeraron progresivamente del 1 al 13 y se identificaron como C##-ZAC y C##-IXT, respectivamente.

2.2.2. Preparación de atole agrio

Para la preparación de “atole agrio” se utilizaron las técnicas tradicionales utilizadas en cada localidad de estudio (Figura 2.2). La preparación se llevó a cabo en Zacapoaxtla para el maíz azul y en Ixtenco para el maíz morado, ambas en julio del 2014.

En Zacapoaxtla (ZAC), se hirvieron hasta ablandar (20 a 30 minutos), 200 g del maíz azul en un litro de agua. Después de enfriar, se molió el maíz en un molino de tornillo hasta obtener una masa martajada. Para quitar parte de los pericarpios no molidos, se limpió la masa resultante con agua, sustituyendo el litro de agua empleada. En seguida se dejó la mezcla de agua y masa en el rescoldo de una estufa de leña (“tlecuil”), con una temperatura aproximada de 30 °C durante 12 horas continuas para que la mezcla adquiriera una tonalidad rosa y un ligero sabor agrio. Por último, con una coladera, se coló la mezcla y el líquido se coció a 90 °C durante 60 minutos, para que tomará una consistencia espesa, cuidando que no alcanzará la ebullición y que no se pegará en la olla de barro.

En Ixtenco (IXT), hay dos variantes de preparación, las cuales se diferencian en que en una no se agregan olotes morados y en otra sí. Se estudiaron las dos. En ambos casos, se partió del remojo de 200 g de maíz morado en un litro de agua durante 6 horas. Para la segunda versión de “atole agrio” junto con los granos de maíz se remojaron tres “olotes” morados enteros. Transcurrido el tiempo de remojo, el maíz se molió en un molino de tornillo hasta obtener una masa martajada. En la variante en la cual se habían incluido los olotes, estos se retiraron antes de realizar la molienda y se utilizó el litro de agua en donde se remojo el maíz junto con los “olotes” morados. La mezcla de agua y masa resultante se dejó reposar en el rescoldo de una estufa de leña (“tlecuil”), con una temperatura aproximada de 30 °C durante 12 horas continuas para que la mezcla adquiriera una tonalidad rosa y un ligero sabor agrio. Por último, con una coladera, se coló la mezcla y el líquido se coció a 90 °C durante 80 minutos, para que tomará una consistencia espesa, cuidando que no alcanzará la ebullición y que no se pegará en la olla de barro.

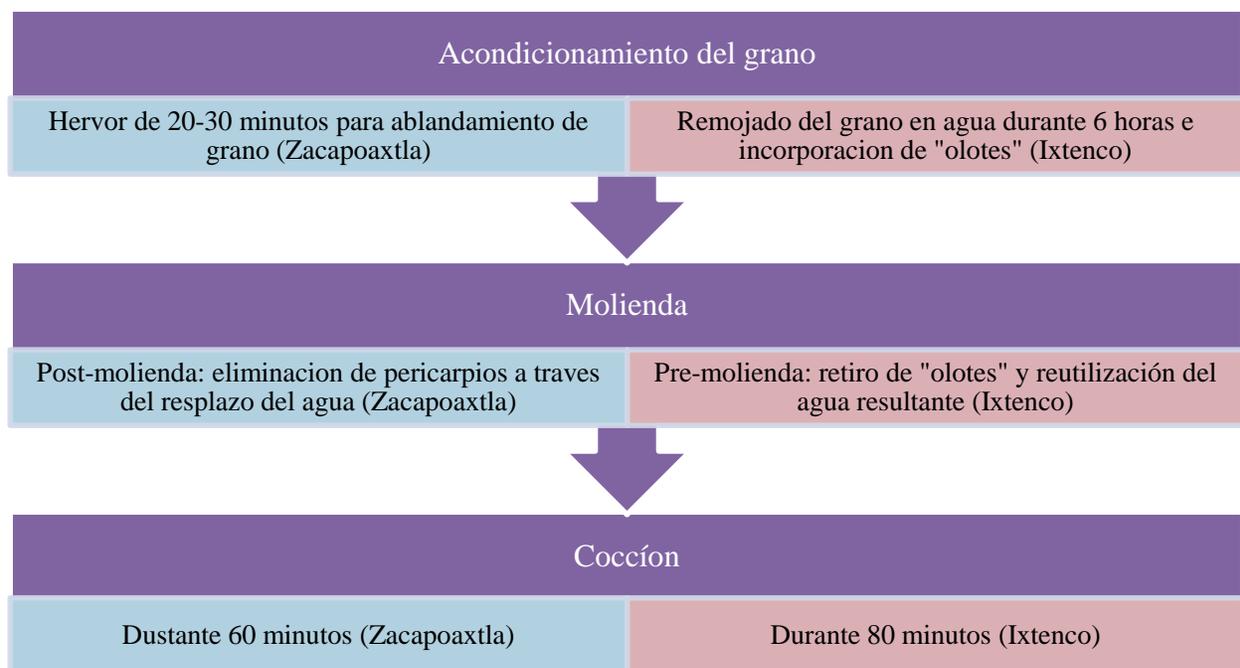


Figura 2.2 Diferencias en los procesamientos para la elaboración del “atole agrio” de Zacapoaxtla e Ixtenco.

2.2.3. Preparación de muestras y análisis bioquímicos

Para los análisis de grano, se tomó al azar una muestra representativa de 20 a 30 granos de cada material. Primero, se trituraron los granos completos en un molino Wiley® con puntos de contacto de acero inoxidable (malla de 2 mm de diámetro). Posteriormente se utilizó un molino Tecator Cyclotec® con malla de acero inoxidable (0.5 mm de diámetro) para obtener la harina empleada en los análisis.

Para los análisis del “atole agrio”, se tomó una sub-muestra de 50 mL de la bebida y se almacenó por 48 horas a -80 °C. Posteriormente, cada muestra se deshidrató en un liofilizador Labconco 18L® durante 25 días a -50 °C y 0.470 mBar de vacío. Por último, para obtener la harina empleada en los análisis, la molienda se realizó en un molino de bolas Retsch MM 400® a una frecuencia de 29.0 durante 3 minutos.

2.2.3.1. Análisis de Antocianinas

La cuantificación de antocianinas totales se realizó como describen Galicia *et al.* (2012). Por otro lado, la cuantificación de antocianinas glicosiladas se realizó en un sistema HPLC Waters Alliance 2695® que consta de tres módulos: Alliance 2695, PDA 2690 y horno para columnas (Milford, MA, USA). La separación cromatográfica se llevó a cabo utilizando una precolumna Security Guard Phenomenex® y una columna de fase reversa Zorbax SB-Aq (4.6 mm X 150 mm) de 3.5 µm de tamaño de partícula Agilent Technologies®. Las fases móviles utilizadas fueron (A) Solución acuosa de ácido Trifluoroacético al 0.09 % y pH 2.00 ± 0.5 (B) Acetonitrilo: Metanol (50:50) con 0.09 % de ácido Trifluoroacético, con un gradiente lineal en condiciones iniciales de 10 % de B, 1-6 minutos con 17 % B, y posteriormente B se incrementa a 50 % en el minuto 25.1 y se mantiene por 5.1 min en esa proporción, para retornar en 5 minutos a las condiciones iniciales ThermoScientific®. El flujo de trabajo fue de 0.4 mL/min, manteniendo una temperatura en la columna cromatográfica de 35 °C. La detección de las antocianinas se realizó a 525 nm, inyectando 20 µL para la muestra y los estándares correspondientes.

Para la identificación y cuantificación de los picos en las muestras se utilizaron los estándares de Cianidina 3-glicósido, Pelargonidina 3-glicósido, Malvidina 3-glicósido y Peonidina 3-glicósido Sigma-Aldrich® verificando el tiempo de retención, el espectro obtenido y la longitud de onda máxima para cada uno.

La muestra inyectada se obtuvo a partir de aproximadamente 20 mg de harina, la cual fue tratada con hexano para remover los lípidos; la extracción de los compuestos antociánicos se realizó con metanol acidificado al 1 %, agitación y temperatura. Se evaporó el metanol acidificado colectado en un evaporador de vacío SpeedVac ThermoScientific® por dos horas aproximadamente. Las muestras se reconstituyeron con 100 µL de metanol acidificado al 1 % y se inyectaron al sistema cromatográfico.

2.2.3.2. Análisis de ácido ferúlico y p-cumárico

La cuantificación de ácido trans-ferúlico y ácido p-cumárico se realizó en un sistema HPLC Waters Alliance 2695® que consta de tres módulos: Alliance 2695, PDA 2690 y horno para columnas (Milford, MA, USA). La separación cromatográfica se llevó a cabo utilizando una columna de fase

reversa Zorbax SB-Aq (4.6 mm X 150 mm) de 3.5 μm de tamaño de partícula Agilent Technologies®. Las fases móviles utilizadas fueron (A) Solución acuosa de ácido Trifluoroacético al 0.09 % pH 2.00 ± 0.5 (B) Acetonitrilo, con un gradiente lineal en condiciones iniciales de 15 % de B, 1-10 min con 58 % B, y posteriormente B se incrementa a 80 % en el minuto 14, para retomar en 6 minutos a las condiciones iniciales (Gutiérrez *et al.*, 2011). El flujo de trabajo fue de 0.5 mL/min, manteniendo una temperatura en la columna cromatográfica de 35 °C. La detección del ácido ferúlico y p-cumárico se realizó a 280 nm, inyectando 10 μL para la muestra y los estándares correspondientes.

Para la identificación y cuantificación de los picos en las muestras se utilizaron los estándares de ácido trans-ferúlico y p-cumárico Sigma-Aldrich® verificando el tiempo de retención, el espectro obtenido y la longitud de onda máxima para cada uno.

La muestra inyectada se obtuvo a partir de aproximadamente 20 mg de harina, los cuales fueron tratados con etanol al 80 %, para posteriormente realizar una hidrólisis con hidróxido de sodio 2 M y un ajuste de pH entre 2 y 3 con ácido clorhídrico 2 M. Se realizó una remoción de lípidos con hexano y una extracción de los compuestos fenólicos con acetato de etilo. Se evaporó el acetato de etilo colectado en un evaporador de vacío SpeedVac ThermoScientific®. Las muestras se reconstituyeron con 1 mL de metanol al 50 % y se inyectaron al sistema cromatográfico.

2.2.3.3. Capacidad Antioxidante por ORAC

El método ORAC se realizó mediante un análisis modificado de Huang *et al.*, (2002). En resumen, alícuotas de 25 μL de los extractos empleados para cuantificar ácidos fenólicos por HPLC se diluyeron en buffer de fosfato (75 mM) y se transfirieron en una microplaca negra con fondo cóncavo de 96 pocillos NUNC. A cada pocillo se le adicionaron 150 μL (0.1 μM) de fluoresceína y 25 μL (153 mM) de la solución AAPH (2,2'-azobis (2-amidinopropane) drochloride dihidroxivitamina) de radicales libres. La reacción de fluorescencia se midió utilizando en lector de microplacas PHERAstar Plus® a una longitud de onda de 485 nm (excitación) y 520 nm (emisión) durante 90 min a intervalos de 2 min. Se calcularon los efectos protectores de las muestras y del control restando el área neta integrada bajo la curva del control desde el área bajo

la curva de la muestra [$AUC_{\text{muestra}} - AUC_{\text{control}}$]. Los resultados se expresaron como mMol de Trolox equivalentes por g de muestra (mMol TE/g).

2.2.3.4. Determinación de la Capacidad Antioxidante de antocianinas glicosiladas por el método DPPH

El método DPPH se realizó por medio de un análisis modificado de Amico *et al.* (2008), basado en la transformación del DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) como radical estable para DPPH reducido. La reacción se monitoreó a 515 nm, por el cambio gradual de color (púrpura a amarillo), que aumenta gradualmente de acuerdo con el número de electrones aceptados (Cotelle *et al.*, 1996). Se emplearon los mismos extractos utilizados para cuantificar antocianinas por HPLC. La concentración inicial del radical DPPH en metanol se obtuvo al medir la absorbancia a 515 nm de las soluciones estándares de DPPH a diferentes concentraciones (Amico *et al.*, 2008). El porcentaje de DPPH se calculó con la fórmula: $\% \text{ DPPH} = (A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}) * 100 / A_{\text{control}}$, donde A_{control} es la absorbancia de control (DPPH 0.1 mM); A_{muestra} es la absorbancia obtenida después de 30 min de cada muestra con 0.2 mM DPPH.

2.2.4. Calculo del Porcentaje de Retención Verdadera

Para calcular el porcentaje de retención verdadera (% RV) se utilizó la ecuación de Murphy *et al.* (1975), en donde “alimento cocido” correspondió al “atole agrio” y “alimento crudo” correspondió al grano:

$$\% \text{ RV} = \frac{\text{Contenido de nutrientes por g de alimento cocido} \times \text{gramo de alimento después de la cocción}}{\text{Contenido de nutrientes por gramo de alimento crudo} \times \text{g de alimento antes de la cocción}} \times 100$$

2.2.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico se trabajó de dos formas; primeramente se realizó una comparación entre regiones (Zacapoaxtla e Ixtenco), para las ocho variables medidas en grano, “olote” y “atole agrio”; se realizó un análisis de varianza tomando a las accesiones como repeticiones de cada región. Posteriormente se realizó un análisis de varianza por región, en el cual se compararon las accesiones de cada región entre sí para las variables antocianinas totales, capacidad antioxidante

de antocianinas y % RV; en este caso, se trabajó con las dos repeticiones existentes por muestra. Para la región de Ixtenco se agregó un análisis de varianza que permitiera comparar las variantes de preparación de “atole agrio” con y sin “olote” para las ocho variables medidas; en este caso, las 13 accesiones se tomaron como repeticiones de cada variante de preparación. En todos los análisis, donde hubo significancia estadística para la fuente de variación de interés, se realizó una prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$). Adicionalmente se efectuó un análisis de correlación de Pearson por región para precisar las relaciones entre antocianinas totales, capacidad antioxidante de antocianinas y % RV. Para definir las variables con mayor poder explicativo, se realizó un análisis de componentes principales para las 26 accesiones y las ocho variables medidas en grano, “atole agrio” y % RV, utilizando una matriz de covarianzas. Para ello se utilizó el procedimiento PROC PRINCOMP del paquete estadístico Statistical Analysis System SAS® (SAS Institute, 1999). Con los resultados de este análisis se elaboró una gráfica para ubicar las 26 accesiones de cada población en un plano bidimensional utilizando los valores de sus dos primeros componentes principales.

2.3. Resultados

2.3.1. Composición bioquímica en grano, “olote” y “atole agrio”

En grano, los materiales que presentaron pigmentación en aleurona y pericarpio fueron las 13 accesiones del maíz morado de Ixtenco y la accesión C12-ZAC del maíz azul de Zacapoaxtla. Las 12 accesiones restantes del maíz azul solo presentaron pigmentación en la capa de aleurona (Figura 2.3). El porcentaje del pericarpio por cada 100 granos fue de 6.22 % en el maíz morado y de 5.01 % en el maíz azul.



Figura 2.3 Pericarpios con y sin pigmentación, respectivamente.

Se observaron diferencias significativas en el contenido total de antocianinas así como en el contenido de cada una de ellas, siendo las accesiones de grano morado las que mayor contenido de antocianinas totales y cianidina-3-glucósido presentaron, 1,173.90 y 323.05 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. En grano la capacidad antioxidante de fenoles, medida por ORAC, de ambos tipos de maíz no presentó diferencias significativas. Sin embargo se observaron diferencias significativas en la capacidad antioxidante de antocianinas, medida por DDPH. El grano del maíz azul presentó una capacidad antioxidante de antocianinas totales de 36.36 % de DPPH y 407.50 $\mu\text{g/g}$ de antocianinas totales con una distribución de 84.12 % de cianidina-3-glucósido, 1.32 % de pelargonidina-3-glucósido y 14.56 % de peonidina-3-glucósido; mientras que el grano del maíz morado presentó una capacidad antioxidante de antocianinas totales de 51.37 % de DPPH y 1,173.90 $\mu\text{g/g}$ de antocianinas totales con una distribución de 75.68 % de cianidina-3-glucósido, 4.05 % de pelargonidina-3-glucósido y 20.27 % de peonidina-3-glucósido (Cuadro 2.1). El contenido de antocianinas en grano aportó mayor capacidad antioxidante que el contenido de fenoles.

El “olote” del maíz morado presentó mayor contenido de fenoles y antocianinas que el grano pero después de la elaboración de “atole agrio”, su contenido de fenoles y antocianinas en los “olotes” disminuyó, aun así la capacidad antioxidante de fenoles y antocianinas en “olotes” fue mayor. Por ejemplo, el maíz morado en “olote” seco (antes del procesamiento) contenía 14.22 mg/g de ácido

p-cumárico, 10.59 mg/g de ácido ferúlico y 3,313.10 µg/g de antocianinas totales mientras que en “olote” húmedo (después del procesamiento) se encontró 7.35 mg/g de ácido p-cumárico, 5.59 mg/g de ácido ferúlico y 3,297.10 µg/g de antocianinas totales. Por otro lado la capacidad antioxidante en “olote” seco fue de 1,345.46 mMol TE/g para fenoles y de 61.25 % de DPPH para antocianinas y en “olote” húmedo de fue de 1,528.26 mMol TE/g para fenoles y de 63.75 % de DPPH para antocianinas (Cuadro 2.1). El contenido de fenoles y antocianinas fue mayor en “olote” y con el procesamiento de “atole agrio” los fenoles fueron más susceptibles a pérdidas que las antocianinas. Sin embargo, después del procesamiento, la capacidad antioxidante del “olote” húmedo fue mayor para ambos compuestos.

Los fenoles y antocianinas del “atole agrio” presentaron pérdidas en sus contenidos y no se registró presencia de ácido p-cumárico. La variante de “atole agrio” con “olote” perdió menos contenido de antocianinas totales y capacidad antioxidante que el “atole agrio” sin “olote”. El contenido de ácido ferúlico del grano de maíz azul fue de 1.99 mg/g y el contenido de antocianinas totales fue de 407.50 µg/g. En “atole agrio” sin “olote” se encontró 0.11 mg/g de ácido ferúlico y 91.45 µg/g de antocianinas totales. Por otro lado en el grano de maíz morado se encontró 2.30 mg/g de ácido ferúlico y 1,173.90 µg/g de antocianinas totales mientras que en “atole agrio” sin “olote” se encontró 0.22 mg/g de ácido ferúlico y 194.56 µg/g de antocianinas totales. Sin embargo, en este último “atole agrio” con “olote”, se encontró 0.25 mg/g de ácido ferúlico y 319.71 µg/g de antocianinas totales (Cuadro 2.1). Independientemente del tipo de maíz empleado, la elaboración de “atole agrio” sin y con “olote” afectó el contenido de fenoles y antocianinas. El ácido p-cumárico fue el único compuesto que se perdió en su totalidad. No obstante, la adición de “olote” aportó antocianinas totales y capacidad antioxidante al “atole agrio”.

Cuadro 2.1 Prueba de medias para las variables cuantificadas a través de los análisis bioquímicos de grano, “olote” y “atole agrio”.

Tratamiento	Fenoles		Antocianinas				Capacidad Antioxidante	
	Ácido p-Cumárico	Ácido Ferúlico	Antocianinas Totales	Cianidina-3-glucósido	Pelargonidina-3-glucósido	Peonidina-3-glucósido	ORAC	DPPH
	(mg/g)	(mg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)	(mMol TE/g)	(% DPPH)
Grano								
Morado	0.25 a	2.3 a	1,173.90 a	323.05 a	17.3 a	86.53 a	132.48 a	51.37 a
Azul	0.14 b	1.99 b	407.5 b	117.04 b	1.84 b	20.25 b	117.71 a	36.36 b
DMS	0.03	0.29	275.15	84.2	5.9	25.11	15.65	8.72
Olote								
Seco (AP)	14.22 a	10.59 a	3,313.10 a	1,812.20 a	128.21 a	548.3 a	1,345.46 b	61.25 b
Húmedo (DP)	7.35 b	5.59 b	3,297.10 a	1,451.10 a	137.41 a	517.1 a	1,528.26 a	63.75 a
DMS	2.67	2.31	1,691.40	672.41	141.98	222.37	122.98	2.01
Atole Agrio								
Morado SO (IXT)	0 a	0.22 a	194.56 a	44.53 a	1.57 a	15.6 a	29.74 a	60.79 b
Azul SO (ZAC)	0 a	0.11 b	91.45 b	32.72 b	0.37 b	4.27 b	12.74 b	70.42 a
DMS	0	0.04	59.91	11.5	1.14	4.14	6.46	4.26
Morado CO (IXT)	0 a	0.25 a	319.71 a	60.48 a	4.25 a	20.09 a	32.89 a	55.98 a
Morado SO (IXT)	0 a	0.22 a	194.56 b	44.53 a	1.57 a	15.6 a	29.74 a	60.79 b
DMS	0	0.05	111.77	19.98	2.7	7.54	9.48	4.75

Medias con letras iguales en una columna son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$), SO= sin olote, CO= con olote, ZAC= procesamiento de “atole agrio” de Zacapoaxtla, IXT= procesamiento de “atole agrio” de Ixtenco, AP= antes del procesamiento, DP= después del procesamiento, DMS= diferencia mínima significativa, ORAC= Oxygen Radical Absorbance Capacity, DPPH= 2,2-difenil-1-picrilhidracilo.

2.3.2. Diversidad nutracéutica del “atole agrio”

El “atole agrio” sin “olote” elaborado con maíz azul presentó mayor capacidad antioxidante de antocianinas totales con respecto al “atole agrio” sin “olote” elaborado con maíz morado. El rango de capacidad antioxidante de antocianinas totales fue de 80.62 % a 62.86 % de DPPH (Cuadro 2.2). En el maíz azul el bajo contenido de antocianinas totales en “atole agrio” no implicó una menor capacidad antioxidante.

El “atole agrio” sin “olote” elaborado con maíz morado presentó mayor contenido de antocianinas totales con respecto al “atole agrio” sin “olote” elaborado con maíz azul. El genotipo C08-IXT presentó un contenido de antocianinas totales de 395.95 µg/g y una capacidad antioxidante de antocianinas totales de 50.91 % de DPPH (Cuadro 2.2). En el maíz morado el alto contenido de antocianinas totales en “atole agrio” no favoreció una mayor capacidad antioxidante.

Cuadro 2.2 Diversidad nutracéutico del “atole agrio” de los maíces azul y morado.

Colecta (maíz azul)	Atole Agrio SO (ZAC)		Colecta (maíz morado)	Atole Agrio SO (IXT)	
	Antocianinas Totales (µg/g)	Capacidad Antioxidante (% DPPH)		Antocianin as Totales (µg/g)	Capacidad Antioxidante (% DPPH)
C02-ZAC	67.36 h	80.62 a	C01-IXT	111.04 e	70.11 a
C03-ZAC	103.85 b	73.37 a	C03-IXT	322.97 b	67.21 a
C10-ZAC	89.59 d	72.29 a	C04-IXT	95.43 f	67.03 a
C09-ZAC	93.15 d	72.28 a	C11-IXT	268.72 c	66.31 a
C11-ZAC	116.87 a	71.92 a	C02-IXT	80.8 f	62.86 a
C08-ZAC	62.43 h	70.84 a	C05-IXT	189.46 d	62.14 a
C01-ZAC	85.41 e	70.11 a	C10-IXT	326.05 b	61.96 a
C06-ZAC	72.23 g	69.93 a	C06-IXT	111.76 e	59.79 a
C04-ZAC	121.85 a	69.75 a	C13-IXT	121.46 e	57.98 a
C13-ZAC	97.52 c	69.02 a	C09-IXT	193.57 d	56.71 b
C07-ZAC	87.22 e	68.66 a	C07-IXT	121.27 e	54.89 b
C12-ZAC	78.35 f	63.77 b	C12-IXT	190.77 d	52.36 c

C05-ZAC	113.04 a	62.86 b	C08-IXT	395.95 a	50.91 c
DMS	16.57	12.4	DMS	14.77	12.89

Medias con letras iguales en una columna son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$), SO= sin olote, ZAC= procesamiento de “atole agrio” de Zacapoaxtla, IXT= procesamiento de “atole agrio” de Ixtenco, DMS= diferencia mínima significativa, DPPH= 2,2-difenil-1-picrilhidracilo.

2.3.3. Efecto del procesamiento en la retención de compuestos nutraceuticos en el “atole agrio”

El análisis de correlación reveló que en el maíz azul hubo una asociación negativa, alta y altamente significativa (-0.78**) entre contenido de antocianinas totales en el grano y % RV de tales compuestos, sugiriendo que a menor contenido de antocianinas totales en el grano, mayor retención de las mismas después de la elaboración del “atole agrio”. Con una correlación positiva de 0.84** se observó que en el maíz morado a mayor contenido de antocianinas totales en grano hubo mayor contenido de antocianinas totales en “atole agrio” sin “olote”; sin embargo, el “atole agrio” del maíz morado presentó menor % RV de compuestos nutraceuticos. El procesamiento tradicional para la elaboración de “atole agrio” afectó el % RV de fenoles y antocianinas, lo cual se atribuyó al hecho de que la técnica de preparación de Ixtenco implica un mayor tiempo de cocimiento (80 min) que cuando se prepara con la técnica de Zacapoaxtla (60 min).

La retención de compuestos nutraceuticos del “atole agrio” presentó dos casos para los 6 variables de % RV estudiados, uno en donde si hubo interacción “variedad \times procesamiento” (4 variables) y otro en donde no (2 variables). Para el primer caso los % RV de ácido p-cumárico, antocianinas totales, cianidina-3-glucosido y peonidina-3-glucosido dependieron tanto del procesamiento como de la variedad, los efectos de interacción en el % RV de antocianinas totales, cianidina-3-glucosido y peonidina-3-glucosido se presentaron fundamentalmente cuando se empleó el procesamiento de Ixtenco. Allí, los % RV dependieron de la variedad empleada. Cuando se empleó el procesamiento de Zacapoaxtla, los % RV finales no se modificaron de manera importante al cambiar la variedad. Para el segundo caso el % RV de ácido ferúlico fue mayor empleando el procesamiento de Zacapoaxtla independientemente de la variedad utilizada. Por otro lado el % RV de pelargonidina-3-glucósido no presento diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 2.3). Los % RV de las

antocianinas dependieron de la interacción “variedad × procesamiento” mientras que el % RV del ácido ferúlico dependió solo del procesamiento.

Cuadro 2.3 Efecto del procesamiento en la retención de fenoles y antocianinas en “atole agrio”.

Interacción		Fenoles			Antocianinas			
Variedad	Procesamiento	Ácido p-Cumárico	Ácido Ferúlico	Antocianinas Totales	Cianidina-3-glucósido	Pelargonidina-3-glucósido	Peonidina-3-glucósido	
		(% RV)	(% RV)	(% RV)	(% RV)	(% RV)	(% RV)	
C08-IXT	IXT (SO)	2.33 c	1.86 c	7.31 a	4.80 a	5.95 a	5.73 a	
C11-IXT	ZAC (SO)	4.27 a	3.65 a	4.24 b	3.20 b	5.36 a	3.56 b	
C11-IXT	IXT (SO)	3.62 b	2.68 b	4.89 b	3.04 b	5.49 a	4.02 a	
C08-IXT	ZAC (SO)	2.62 c	2.51 b	3.62 c	2.73 b	3.04 a	2.59 b	

Medias con letras iguales en una columna son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$), IXT= procesamiento de “atole agrio” de Ixtenco, ZAC= procesamiento de “atole agrio” de Zacapoaxtla, SO= sin olote, % RV= porcentaje de retención verdadera.

El “atole agrio” elaborado con maíz azul sin “olote” y maíz morado con “olote” presentaron mayor % RV de antocianinas totales y cianidina-3-glucosido mientras que el “atole agrio” sin “olote” elaborado con maíz morado presentó mayor % RV de ácido ferúlico y pelargonidina-3-glucosido. Por otro lado, el % RV de peonidina-3-glucosido no presentó diferencias significativas en ningún “atole agrio”. Lo anterior indica que el % RV de los compuestos nutraceuticos dependió del tipo de maíz empleado para elaborar el “atole agrio”. Por otra parte, la incorporación de “olote” al “atole agrio” preparado con maíz morado aportó mayor % RV de antocianinas totales y cianidina-3-glucosido (Cuadro 2.4).

Cuadro 2.4 Retención de fenoles y antocianinas en el “atole agrio”.

Atole Agrio	Fenoles			Antocianinas		
	Ácido p-Cumárico	Ácido Ferúlico	Antocianinas Totales	Cianidina-3-glucósido	Pelargonidina-3-glucósido	Peonidina-3-glucósido

	(% RV)	(% RV)	(% RV)	(% RV)	(% RV)	(% RV)
Morado SO (IXT)	0 a	9.96 a	16.27 b	14.51 b	7.38 a	19.42 a
Azul SO (ZAC)	0 a	5.43 b	23.52 a	29.53 a	0.35 b	24.15 a
DMS	0	1.74	4.54	5.38	4.7	10.86
Morado CO (IXT)	0 a	10.92 a	26.87 a	19.2 a	25.72 a	23.68 a
Morado SO (IXT)	0 a	9.96 a	16.27 b	14.51 b	7.38 a	19.42 a
DMS	0	1.97	5.96	3.84	18.55	6

Medias con letras iguales en una columna son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$), SO= sin olote, CO= con olote, ZAC= procesamiento de “atole agrio” de Zacapoaxtla, IXT= procesamiento de “atole agrio” de Ixtenco, DMS= diferencia mínima significativa, % RV= porcentaje de retención verdadera.

2.3.4. Agrupación nutracéutica de los maíces azul y morado

El análisis de componentes principales reveló que con los dos primeros componentes se explicó el 72.2 % de la variación observada para el conjunto de materiales bajo estudio. Las variables originales más importantes para el primer componente fueron el tipo y contenido de antocianinas en grano (CP1 58.7 %). El segundo componente quedó más influenciado por las variables de % RV de antocianinas y contenido de cianidina-3-glucósido en “atole agrio” (CP2 13.5 %). Al ubicar las poblaciones bajo estudio en el plano definido por los dos primeros componentes principales (Figura 2.4), Se observó que en los cuadrantes II y III se concentraron los materiales de grano azul, mientras que en los cuadrantes I y IV se ubicó la mayoría de los materiales de grano morado. Los maíces morados se dispersaron a lo largo del CP1 al presentar los mayores contenidos de antocianinas en grano, mientras que los maíces azules lo hicieron a lo largo del CP2 al presentar la mayor capacidad antioxidante de antocianinas en “atole agrio”. Aun así, cada variedad de maíz exhibió genotipos con atributos nutracéuticos específicos para grano y “atole agrio”, mismos que correspondieron a la tonalidad presentada en grano para cada material. En este sentido, el grupo de maíces azules pudo subdividirse a su vez en dos conjuntos, el de “azules-morados” y el de “azules-claros”, que presentaron, respectivamente, mayor y menor contenido de cianidina-3-glucosido en “atole agrio” y porcentajes de retención verdadera de antocianinas totales y cianidina-3-glucosido. En los maíces morados se pudieron delinear tres grupos, los “morados-negros”, los “morados-negros-azules” y los “morados-azules” que mostraron respectivamente altos,

intermedios y bajos contenidos de peonidina-3-glucosido, cianidina-3-glucosido y antocianinas totales en grano (Figura 2.4).

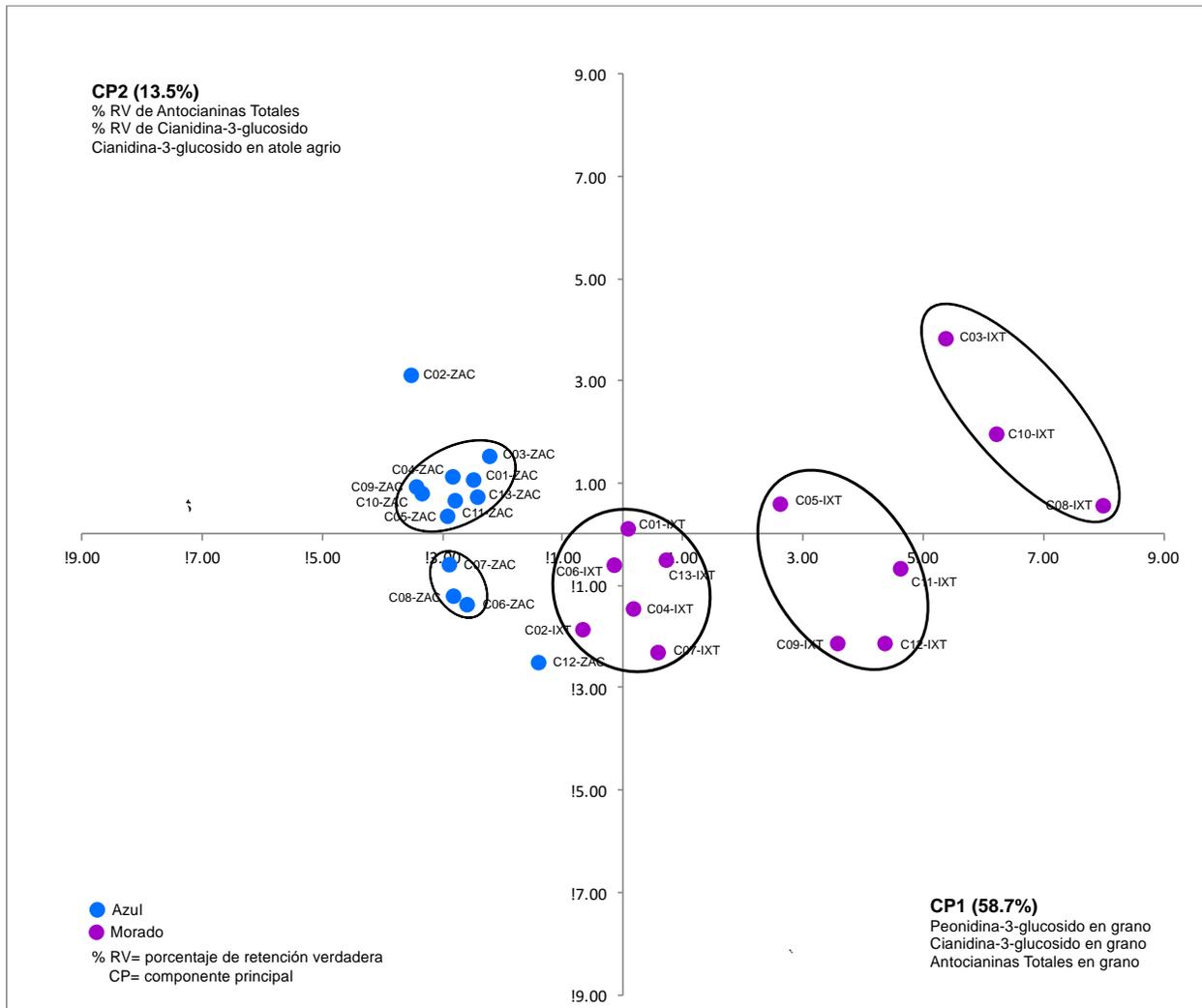


Figura 2.4 Agrupación nutracéutica de los maíces azul y morado.

2.4. Discusión

El alto contenido de antocianinas totales en grano no fue directamente proporcional a la capacidad antioxidante del “atole agrio”. Una posible explicación a lo anterior puede encontrarse en la ubicación de las antocianinas en el grano: en el maíz morado, éstas se encuentran en la capa de aleurona y en el pericarpio mientras que en el maíz azul solo se encuentran en la capa de aleurona (Gorriti *et al.*, 2014; Salinas *et al.*, 2013) y a que las antocianinas del maíz morado solo

mantuvieron la pigmentación y no el contenido en “atole agrio”, debido a que durante el procesamiento hubo menor retención de cianidina-3-glucósido y a que la exposición a temperaturas altas afectó la estabilidad de estas antocianinas en el maíz morado al disminuir el % RV de antocianinas totales, caso contrario para el maíz azul donde si hubo mayor retención de cianidina-3-glucósido, antocianina que provee de mayor capacidad antioxidante (Raghvendra *et al.*, 2011; Prior *et al.*, 2006).

La elaboración de “atole agrio”, independientemente del genotipo de maíz empleado, disminuyó los contenidos de fenoles, antocianinas y capacidad antioxidante. Ello puede atribuirse al hecho de que, al igual que en otros procesos de transformación como la nixtamalización (Escalante *et al.*, 2013; Reyes *et al.*, 2012; De la Parra *et al.*, 2007; Salinas *et al.*, 2003), el aumento de temperatura que ocurre durante el procesamiento desestabiliza los enlaces glucosídicos de los fenoles y las antocianinas, lo cual resulta en pérdidas de estos compuestos nutraceuticos (Rojano *et al.*, 2012).

La adición de “olote” durante la preparación de “atole agrio” elaborado con maíz morado aumentó el % RV de fenoles y antocianinas. La explicación a este descubrimiento es que el “olote” aportó cantidades adicionales de cianidina-3-glucosido y capacidad antioxidante al “atole agrio” a través de los altos contenidos de fenoles y antocianinas presentes en esta estructura de la planta (Mendoza, 2012; Yang y Zhai, 2010; Wang y Zeng, 2009); y por medio de la solubilidad que presentaron estos compuestos bioquímicos en el agua, lo que permitió su absorción en el “atole agrio”, debido a que las antocianinas se acumulan en forma glicosilada; esto es, unidas a algún azúcar, el cual le confiere una gran solubilidad y estabilidad (Raghvendra *et al.*, 2011; Cotellet *et al.*, 1996).

El alto % RV de antocianinas totales y cianidina-3-glucosido del maíz azul aportó mayor capacidad antioxidante al “atole agrio”. Una posible explicación a este descubrimiento es que las antocianinas del maíz azul presentaron mayor proporción de antocianinas glicosiladas que aciladas como lo reportado por Salinas *et al.* (2005) en maíces azules de la raza arrocillo, lo que se tradujo en diferentes % RV de cianidina-3-glucosido esto debido a que la capacidad antioxidante de una antocianina depende de la antocianidina o aglicona de la cual derive y del azúcar que forme parte de su estructura (Žilić *et al.*, 2012; Abdel *et al.*, 2006). Se observó que aquellos “atoles” con mayor

% RV de antocianinas totales y cianidina-3-glucosido mostraron mayor capacidad antioxidante, ya que los derivados de cianidina son antioxidantes más potentes que los de delphinidina; en los derivados de cianidina, la antocianina tiene mayor poder antioxidante si el azúcar que forma parte de su estructura es una rutinosa en lugar de una glucosa (Petroni *et al.*, 2014; Salinas *et al.*, 2012).

2.5. Conclusiones

- El alto contenido de antocianinas totales en grano no fue directamente proporcional a la capacidad antioxidante del “atole agrio”
- La elaboración de “atole agrio”, independientemente del genotipo de maíz empleado, disminuyó los contenidos de fenoles, antocianinas y capacidad antioxidante.
- El alto contenido de fenoles y antocianinas en “olote” y su adición durante el procesamiento del “atole agrio” elaborado con maíz morado aumentó el % RV de fenoles y antocianinas.
- El alto % RV de antocianinas totales y cianidina-3-glucosido del maíz azul aportó mayor capacidad antioxidante al “atole agrio”.

2.6. Referencias

- Abdel-Aal, E.-S. M., Young, J. C., & Rabalski, I. (2006). Anthocyanin Composition in Black, Blue, Pink, Purple, and Red Cereal Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 4696-4704.
- Alvarado-Solís, N. (2007). *Mexicaneros*. Mexico, D.F.: Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas.
- Amico, V., Chillemi, R., Mangiafico, S., Spatafora, C., & Tringali, C. (2008). Polyphenol-enriched fractions from Sicilian grape pomace: HPLC–DAD analysis and antioxidant activity. *Bioresource Technology*, 99(13), 5960-5966.
- Aparicio-Martínez, C. (2013). *Evaluación de variedades pigmentadas de maíz para la producción de atole*. Recuperado a partir de <http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/handle/10521/2003>
- Atlin, G. N., Palacios, N., Babu, R., Das, B., Twumasi-Afriyie, S., Friesen, D. K., DeGroot, H., Vivek, B. & Pixley, K. V. (2010). Quality Protein Maize: Progress and Prospects. En J. Janick (Ed.), *Plant Breeding Reviews*. 83-130 p.
- Barragán-Guzmán, B. A., Orozco-Alatorre, L. G., & Mariscal-Zuno, S. (1998). Atole de maíz comparado con vida suero oral en el tratamiento de niños con diarrea aguda de gasto fecal alto. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 55(2), 65-69.
- Barros, C., & Buenrostro, M. (2007). Atoles y pulques. *Cuadernos de nutrición*, 30(2), 56.
- Barros, C. (2009). Maíz, alimentación y cultura. *Ciencias*, 92, 56-59.
- Benítez, F. (2014). *Los indios de México II*. México, D.F.: Ediciones Era.
- Coe, S. D. (2004). *Las primeras cocinas de América*. Mexico, D.F.: Fondo de Cultura Económica.
- CONACULTA, Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. (2004). *Pueblo de maíz: la cocina ancestral de México. Ritos, ceremonias y prácticas culturales de la cocina de los mexicanos* (CONACULTA). México, D.F.
- Cortés-Gómez, A., Martín-Martínez, E. S., Martínez-Bustos, F., & Vázquez-Carrillo, G. M. (2005). Tortillas of blue maize (*Zea mays* L.) prepared by a fractionated process of nixtamalization: analysis using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 66(3), 273-281.
- Cotelle, N., Bernier, J.-L., Catteau, J.-P., Pommery, J., Wallet, J.-C., & Gaydou, E. M. (1996). Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(1), 35-43.

- De la Parra, C., Serna Saldivar, S. O., & Liu, R. H. (2007). Effect of Processing on the Phytochemical Profiles and Antioxidant Activity of Corn for Production of Masa, Tortillas, and Tortilla Chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4177-4183.
- Echeverría, M. & Arroyo, L. (2000). Recetario del maíz. Cocina Indígena y Popular No. 10. *Consejo Nacional para las Culturas y las Artes*. Mexico, D.F. 397-407 p.
- Escalante-Aburto, A., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P. I., Barrón-Hoyos, J. M., Figueroa-Cárdenas, J. de D., & López-Cervantes, J. (2013). La nixtamalización y su efecto en el contenido de antocianinas de maíces pigmentados, una revisión. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(4), 429-437.
- Galicia, L., Miranda, A., Gutiérrez, M. G., Custodio, O., Rosales, A., Ruiz, N., Surles, R. & Palacios, N. (2012). *Laboratorio de calidad nutricional de y análisis de tejido vegetal: protocolos de laboratorio 2012*. CIMMYT. México, D.F. 50 p.
- Gorriti, A., Quispe, F., Arroyo, J. L., Córdova, A., Jurado, B., Santiago, I., & Taype, E. (2014). Extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays* L. Maíz morado. *Ciencia e Investigación*, 12(2), 64-74.
- Guevara-Hernández, J., & Romero-Melgarejo, O. (2011). La cultura étnica de los Nahuas y los Yuhmu (Otomíes) de la región del volcán La Malinche. *Revista Teccalli*, 1(2), 40-48.
- Gutiérrez-Urbe, J. A., Romo-López, I., & Serna-Saldívar, S. O. (2011). Phenolic composition and mammary cancer cell inhibition of extracts of whole cowpeas (*Vigna unguiculata*) and its anatomical parts. *Journal of Functional Foods*, 3(4), 290-297.
- Hernández, F. (1942). *Historia de las plantas de Nueva España*. México: Imprenta Universitaria.
- Hernández-Sampieri, R., Fernández-Collado, C., & Baptista-Lucio, P. (2006). *Metodología de la investigación* (4a. ed). México: McGraw-Hill. 850 p.
- Hosoda, K., Miyaji, M., Matsuyama, H., Haga, S., Ishizaki, H., & Nonaka, K. (2012). Effect of supplementation of purple pigment from anthocyanin-rich corn (*Zea mays* L.) on blood antioxidant activity and oxidation resistance in sheep. *Livestock Science*, 145(1-3), 266-270.
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Prior, R. L. (2002). High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(16), 4437-4444.

- INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2014). *Marco Geoestadístico Nacional*. Disponible en: http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/geoestadistica/m_geoestadistico_2014.aspx
- Mendoza-Mendoza, C. G. (2012). *Las antocianinas del maíz : su distribución en la planta y producción*. Recuperado a partir de <http://www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/1709>
- Murphy, E. W., Criner, P. E., & Gray, B. C. (1975). Comparisons of methods for calculating retentions of nutrients in cooked foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23(6), 1153-1157.
- Petroni, K., Pilu, R., & Tonelli, C. (2014). Anthocyanins in corn: a wealth of genes for human health. *Planta*, 240(5), 901-911.
- Prior, R. L., & Wu, X. (2006). Anthocyanins: Structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Research*, 40(10), 1014-1028.
- Raghvendra, V. S., Shakya, A., Arya, G. S., Mishra, A., Gupta, A. D., Pachpute, A. P., & Patel, D. (2011). Chemical and potential aspects of anthocyanins- a water- soluble vacuolar flavonoid pigments: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review & Research*, 6(1), 28-33.
- Reyes-Moreno, C., Aguayo-Rojas, J., & Milán-Carrillo, J. (2012). Nutraceutical Changes Induced in Blue and Red Pigmented Maize by Nixtamalization Process. En M. H. Tunick & E. González de Mejía (Eds.), *Hispanic Foods: Chemistry and Bioactive Compounds* (Vol. 1109, pp. 173-187). Washington, DC: American Chemical Society. Recuperado a partir de <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-2012-1109.ch011>
- Rojano, B., Cristina Zapata, I., & Cortes, F. B. (2012). Estabilidad de antocianinas y valores de capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC) de extractos acuosos de corozo (*Bactris guineensis*). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(3), 244-255.
- Salinas-Moreno, Y., Martínez-Bustos, F., Soto-Hernández, M., Ortega-Paczka, R., & Arellano-Vázquez, J. L. (2003). Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia*, 37(6), 617-628.
- Salinas-Moreno, Y., Salas-Sánchez, G., Rubio-Hernández, D., & Ramos-Lobato, N. (2005). Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *Journal of Chromatographic Science*, 43(9), 483-487.

- Salinas, M. Y., Soria R. J., & Espinosa T. E. (2010). Aprovechamiento y Distribución de Maíz Azul en el Estado de México. Folleto Técnico No. 42. *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*. Campo Experimental Valle de México, México. 50 p.
- Salinas-Moreno, Y., Pérez-Alonso, J. J., Vázquez-Carrillo, G., Aragón-Cuevas, F., & Velázquez-Cardelas, G. A. (2012). Antocianinas y actividad antioxidante en maíces (*Zea mays* L.) de las razas chalqueño, elotes cónicos y bolita. *Agrociencia*, 46(7), 693-706.
- Salinas-Moreno, Y., García-Salinas, C., Coutiño-Estrada, B., & Vidal-Martínez, V. A. (2013). Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(Suplemento 3-A), 285-294.
- SAS Institute (1999). SAS Procedures Guide. Ver. 8. SAS Institute Inc. Cary, NC, U.S.A. 1643 p.
- Serna-Saldivar, S. O., Gutierrez-Uribe, J. A., Mora-Rochin, S., & Garcia-Lara, S. (2013). Nutraceutical Potential of Native Maize and Changes During Traditional and Extrusion Processing. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36, 295-304.
- Soto-Vaca, A., Gutiérrez, A., Losso, J. N., Xu, Z., & Finley, J. W. (2012). Evolution of Phenolic Compounds from Color and Flavor Problems to Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(27), 6658-6677.
- Wang, Y., & Zeng, M. (2009). Studies on Zhuo-Zi No. 1, a purple hybrid in maize (*Zea mays* L.). *Maize Genetics Cooperation Newsletter*, 83, 2-3.
- Yang, Z., & Zhai, W. (2010). Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 169-176.
- Žilić, S., Serpen, A., Akıllıoğlu, G., Gökmen, V., & Vančetović, J. (2012). Phenolic Compounds, Carotenoids, Anthocyanins, and Antioxidant Capacity of Colored Maize (*Zea mays* L.) Kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(5), 1224-1231.

CAPÍTULO III. ESTRATEGIA PARA EL RESCATE Y REVALORIZACIÓN DEL RECURSO FITOGENÉTICO MAÍZ NATIVO PIGMENTADO EN LOCALIDADES DE PUEBLA Y TLAXCALA, MÉXICO

3.1. Introducción

La agricultura tradicional se define y se caracteriza como aquella donde el uso de los recursos naturales se basa en una prolongada experiencia empírica (la cual ha configurado los procesos de producción y las prácticas de manejo utilizadas), en el conocimiento físico y biótico del medio ambiente, en la transmisión de conocimientos y habilidades mediante educación no formal, y en un acervo cultural de la población dedicada a las actividades agrícolas (Hernández, 1985).

El conocimiento local es un producto social y cultural de las comunidades rurales donde es generado y puesto en práctica (Toledo, 2008). Harverkort *et al.* (2013) definen al conocimiento de la gente rural como aquél basado tanto en el conocimiento tradicional (conocimiento que fue transmitido de forma oral de generación en generación) como en el conocimiento indígena (conocimiento que ha sido generado por una población específica en un ambiente específico) y en el conocimiento externo (conocido como aquél llevado por la educación, extensión, iglesias, medios o comercio).

Las estrategias de vida en cada familia indígena, originaria campesina, han sido definidas por Chambers y Conway (1992) “como las capacidades, valores y actividades que desarrollan los hogares campesinos para proveerse su bienestar, entendiéndose por valores tanto los tangibles como los intangibles”. En términos de Ellis (2000), “la diversificación de estrategias de vida representa una vía para minimizar un riesgo, o maximizar el uso de la mano de obra mediante el desarrollo permanente de un portafolio de actividades económicas y valores para mejorar el bienestar familiar”. En este sentido una estrategia de desarrollo rural se define como aquellas acciones e iniciativas llevadas a cabo para mejorar la calidad de vida de las comunidades no urbanas, la cual debe tener en cuenta la cultura tradicional local, a través del desarrollo social y económico, ya que el medio rural es indisociable de su cultura propia así como de sus recursos fitogenéticos locales (Delgado, 2002).

Un nuevo enfoque mundial que está apostando por la implementación de este tipo de estrategias de desarrollo rural es el paradigma del “Vivir Bien”, presentes en Bolivia y Ecuador, y sustentado en una forma de vivir reflejada en una práctica cotidiana de respeto, armonía y equilibrio con todo lo que existe, comprendiendo que en la vida todo está interconectado, es interdependiente y está interrelacionado (Colling, 2012; Delgado, 2011),

Una estrategia de desarrollo rural en la agricultura y el conocimiento etnobotánico tradicionales no sólo asegura el uso continuo y la preservación de recursos genéticos invaluable, sino que también permiten diversificar las estrategias de subsistencia campesinas, incluidos los vínculos con los mercados externos (Alcorn, 1984). La estrategia para conservar *in situ* las reservas de germoplasma del grano consiste en mantener los agroecosistemas tradicionales, en este mismo sentido, la conservación de los agroecosistemas tradicionales de ninguna manera podrá lograrse si no se mantiene la organización sociocultural de las comunidades locales (Altieri y Nicholls, 2000).

En el mundo se pueden encontrar ejemplos de “conservación a través del uso” por productores que comercializan sus variedades locales; entre ellas las nativas de frijol en Ecuador (Abbott, 2005), de la papa en Perú (Devaux *et al.*, 2009), del arroz en Tailandia (Brush, 1995), de los mijos en la India (Gruère *et al.*, 2009) y en México, a pesar de varios decenios de mejoramiento formal y promoción de las variedades resultantes, gran parte de los productores mexicanos sigue sembrando sus variedades locales de maíz debido a la relación cultural que presentan con este cultivo (Barkin, 2002).

Los productores conservan la diversidad de un cultivo por razones sociales, económicas y culturales, o cuando las variedades locales muestran un comportamiento agronómico superior al de las variedades mejoradas (Latournerie *et al.*, 2006). En calidad nutricional y propiedades físicas las poblaciones nativas son, por lo general, superiores a las variedades mejoradas (Perales *et al.*, 2005). Las variedades nativas locales tienen un papel muy importante en la adaptación al cambio climático para ser sembradas bajo estas nuevas condiciones (Ureta *et al.*, 2012).

En este marco los maíces de color tradicionalmente han representado una fracción importante de la diversidad total de los maíces nativos (Boege, 2009; María *et al.*, 2003), por lo cual, toda

estrategia encaminada a incorporar el valor social, económico y nutracéutico de estos genotipos, puede contribuir a la conservación de este recurso fitogenético y a la mejora de las condiciones de vida de sus productores.

Para el diseño de estrategias es indispensable el uso de información, en este caso, de conocimiento sistematizado para diseñar una estrategia de rescate y revalorización del recurso fitogenético maíz nativo pigmentado a través de su valor social, económico y nutracéutico. Para disponer de más elementos en el diseño de la estrategia, se realizó una pasantía de investigación en la Agroecología Universidad Cochabamba (AGRUCO), en Cochabamba, Bolivia, para identificar experiencias en comunidades indígenas originarias campesinas con conocimiento en la ejecución de estrategias de vida sostenibles bajo el enfoque del “Vivir Bien” para vincular con las situaciones adversas al desarrollo humano en las microrregiones de estudio del proyecto de investigación.

3.2. Problemática

A nivel mundial existe el riesgo de que numerosas variedades nativas de maíz se extingan en un marco de libre comercio (Boyce, 2004), debido a la presencia de fallas estructurales e institucionales del mercado del maíz (Robles y García, 1994). En México, lo anterior ha quedado evidenciado en diversas políticas gubernamentales, como lo fue en su momento el retiro de los precios de garantía, el programa “kilo por kilo”, el permitir que se sobrepasaran los cupos de importación fijados en el Tratado de Libre Comercio de América del Norte y más recientemente MASAGRO (Modernización Sustentable de la Agricultura Tradicional) con el cual se busca fomentar una mayor adopción de variedades mejoradas (Jeri y Vicente, 2014; Salcido y Ibarra, 1997). Aunado a ello, los programas de mejoramiento genético y de comercialización solo se han enfocado hacia la obtención de maíz de grano blanco o amarillo, abandonado el cultivo de maíz de otros colores, como el azul y el morado, por considerarlos poco rentables económicamente al registra un bajo rendimiento y poca superficie sembrada (Muñoz, 2003). Bajo este contexto, uno de los argumentos en los cuales se sustentan estas políticas y programas gubernamentales es que la mayoría de los productores mexicanos de maíces de color dedican su producción principalmente al autoconsumo y los pocos excedentes que generan los venden sin darles el valor agregado que en realidad poseen, limitando así sus ingresos (Turrent y Cortés, 2005). Problemática presente en las microrregiones de estudio del proyecto y para las cuales se propone la presente estrategia.

3.3. Objetivo estratégico

Promover y fortalecer las capacidades de gestión sostenible del recurso fitogenético maíz nativo pigmentado en las dimensiones social, económica y ambiental a través de la interacción pedagógica intra e intercultural entre saberes locales y conocimientos académicos para preservar, mantener y mejorar los maíces nativos pigmentados en las microrregiones productoras de Puebla y Tlaxcala.

3.4. Componentes de la estrategia

3.4.1. Ubicación

Con base a los elementos que conforman la estrategia, reuniendo factores económicos, sociales y ambientales se ha definido como una Estrategia de Desarrollo Sostenible al lograr que los tres sectores se beneficien sin afectarse entre sí. En este sentido, la estrategia para el rescate y revalorización del recurso fitogenético maíz nativo pigmentado se ubica en las tres dimensiones interdependientes y sinérgicas del desarrollo sostenible de la siguiente forma (UNESCO, 1997):

- **Social:** Favorece la erradicación de la pobreza extrema y promueve la mejora en la educación, salud, saneamiento, vivienda y alimentación prioritariamente de los miembros de la comunidad. Se refiere a la generación de empleos y mejora de ingresos sobre todo para los sectores de menores recursos. Tiene en cuenta la igualdad de género y considera la capacitación, formación y toma de conciencia respecto al desarrollo sostenible por parte de los beneficiarios. Se asegura la consulta y participación, así como el pleno conocimiento de los derechos humanos, la concertación y resolución de conflictos, la paz y democracia.
- **Económica:** Existe y usa los recursos financieros con sistemas de auditoría en la que los beneficiarios participan del control y supervisión del mismo. Tiene un gran impacto en la economía local, regional y nacional. Genera cadenas productivas y economías de escala teniendo en cuenta aspectos sociales y ambientales.
- **Ambiental:** Contribuye a propiciar un ambiente no contaminado y amigable para la vida de las personas. Existe una gestión de los aspectos ambientales significativos de la iniciativa y se asegura una mejora en la gestión de la calidad ambiental y uso sostenible de los recursos naturales. Contribuye a modificar prácticas de consumo y producción insostenibles, así como, al desarrollo, transferencia y difusión de tecnologías ecológicamente racionales.

3.4.2. Lugar

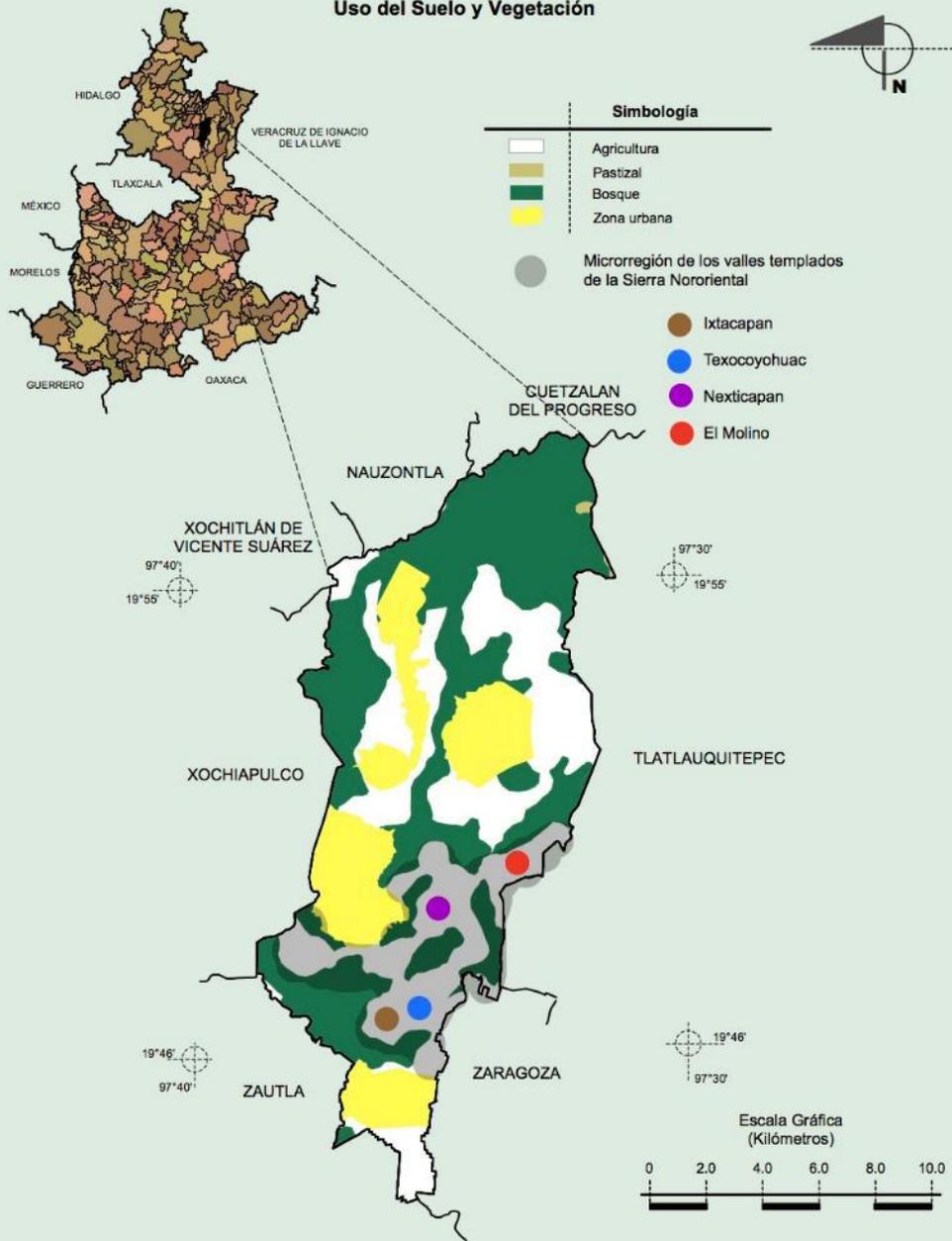
La estrategia se implementará en localidades productoras de maíces nativos pigmentados, particularmente en dos microrregiones representativas de los municipios de Zacapoaxtla, Puebla e Ixtenco, Tlaxcala.

Las localidades de Ixtacapan, Texocoyohuac, Nexticapan y El Molino se encuentran en la microrregión de los valles templados de la Sierra Nororiental del estado de Puebla y están ubicadas entre los 19° 46' y 19° 51' LN y los 97° 32' y 97° 36' LO (Figura 3.1), con rangos de temperatura de 12 a 20 °C y de precipitación anual de 800 a 2,100 mm. Por ser una zona de transición, la microrregión presenta un clima variado que va de templado subhúmedo con lluvias en verano a templado húmedo con abundantes lluvias en verano (INEGI, 2014). Las áreas agrícolas se encuentran entre los 2,000 y 2,400 msnm en suelo andosol, con 48 % de la superficie sembrada de maíz (SIAP, 2013).

La localidad de San Juan Ixtenco se encuentra en la microrregión de los llanos orientes del volcán Malintzin del estado de Tlaxcala, ubicada entre los 19° 14' y 19° 16' LN y los 97° 51' y 97° 55' LO (Figura 3.1), con rangos de temperatura de 8 a 16 °C y de precipitación anual de 600 a 1,100 mm. En las faldas del volcán se presenta un clima templado subhúmedo con lluvias en verano, de menor humedad y humedad media (INEGI, 2014). Las áreas agrícolas se encuentran entre los 2,400 y 2,900 msnm en suelos phaeozem y regosol, con 96 % de la superficie sembrada de maíz (SIAP, 2013).

**Compendio de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos
Zacapoaxtla, Puebla**

Uso del Suelo y Vegetación



Fuente: INEGI. *Marco Geoestadístico 2010, versión 4.3.*
INEGI. Conjunto de Datos Vectoriales de Uso del Suelo y Vegetación Serie III Escala 1:250 000.

Figura 3.1 Microrregión de los valles templados de la Sierra Nororiental (modificado de INEGI, 2010).

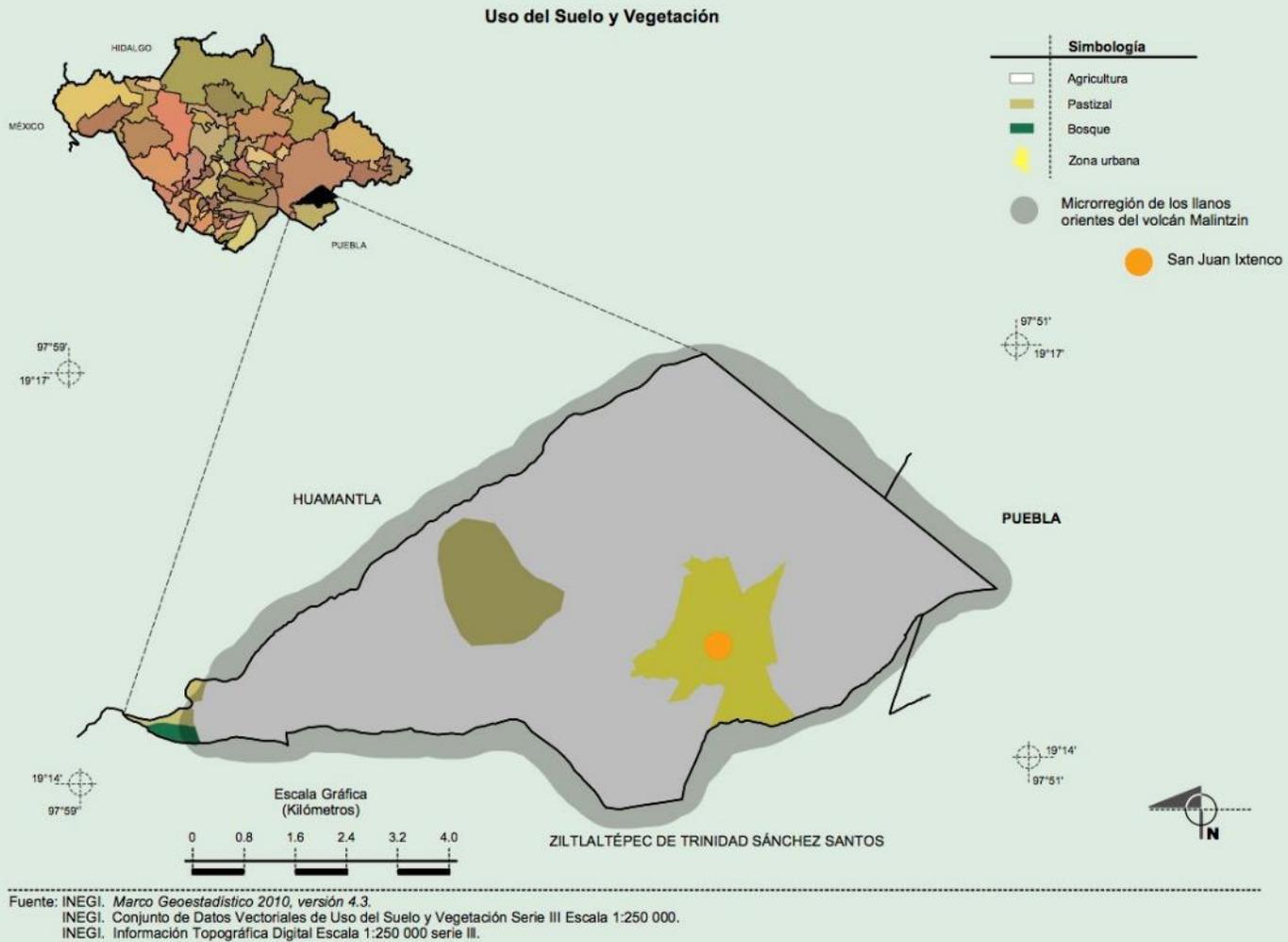


Figura 3.2 Microrregión de los llanos orientes del volcán Malintzin (modificado de INEGI, 2010).

3.5. Estrategia

En un principio y debido a que el maíz nativo pigmentado es el elemento primordial para el diseño de la estrategia de rescate y revalorización, este elemento surge como el inicio y el centro de la estrategia pues es aquí donde se originan y convergen los actores principales que se encuentran en torno a este recurso fitogenético, cada uno distribuido en las tres dimensiones (social, económica y ambiental) del desarrollo sostenible, mismas que integran prácticas de conservación, aprovechamiento y comercialización que se van desarrollando por medio de un “espiral de conocimiento infinito” en donde cada uno de los niveles va mejorando de manera sistemática y eficiente dentro de la estrategia (Figura 3.3).

Las prácticas de conservación, aprovechamiento y comercialización se desarrollaron a partir de las experiencias de las comunidades campesinas de Puebla y Tlaxcala, México y de las estrategias de vida de los pueblos indígenas originarios campesinos de Bolivia que practican el “Vivir Bien”, ambas a través de la agricultura diversificada y el control de pisos ecológicos, la organización social y la revalorización de los saberes locales y conocimientos ancestrales, la economía comunitaria, las ferias y fiestas campesinas, las relaciones de reciprocidad y la espiritualidad (Delgado y Delgado, 2014).

3.6.1. Conservación

Las prácticas de conservación de la estrategia se encuentran manejadas por los productores-artesanos y se basan en la agricultura diversificación, la organización social comunitaria y la vida espiritual de las comunidades:

- La *diversificación de la producción y de las actividades*, por ser la base de la economía familiar y comunitaria, al estar intrínsecamente ligadas con las zonas agroecológicas y el manejo de pisos altitudinales, ecológicos y económicos que consiste en diversificar la agricultura con especies que se desarrollan a distintas alturas y ambientes climáticos, a los que se accede y son considerados como partes del territorio (Delgado, 2002).
- La *organización social comunitaria*, por su importancia en todo el proceso productivo y la reproducción de la familia y de la comunidad. La *recreación de los conocimientos ancestrales y saberes locales* que se refiere a la práctica constante de aquel conocimiento heredado generación tras generación, por constituir la base de la producción agropecuaria sostenible y el consumo de alimentos de los pobladores de la región quienes conservan el conocimiento ancestral en su memoria histórica y el saber local que es permanentemente innovado, aplicado y puesto en práctica en su vida cotidiana (Rist, 2002).
- La *vida espiritual*, por ser el eje de la vida cotidiana en donde la religiosidad y las creencias se fusionan con la religión católica en forma de un sincretismo que no genera contradicciones y conflictos (Delgado y Delgado, 2014).

En este sentido, las prácticas de conservación de la estrategia promueven la diversidad no solo de colores de maíces nativos sino también de variedades particulares como el maíz “jaspeado” y “tunicado” de Ixtenco, genotipos adaptados a nichos ecológicos específicos que generan procesos sociales particulares de organización como el caso de la elaboración de artesanías a base de granos de maíz de color durante la “fiesta del maíz” en San Juan Ixtenco que de manera simbiótica a través de los siglos los productores han venido conservando generación tras generación por medio de la elaboración y el uso del “atole agrio” para las fiestas religiosas, aspectos culturales que al día

de hoy han permitido la generación de nuevos ingresos y que no se han visto rezagados en el tiempo o al límite de la extinción como en localidades de Zacapoaxtla donde el sincretismo religioso del “atole agrio” solo se practica durante semana santa.

3.6.2. Aprovechamiento

Las prácticas de aprovechamiento de la estrategia se encuentran guiadas por los técnicos-académicos-científicos y se basan en el dialogo de saberes a través de la investigación participativa revalorizadora y el desarrollo endógeno sustentable:

- La *perspectiva transdisciplinaria y participativa revalorizadora*, es la base del trabajo formativo e investigativo de la academia para la revalorización de los recursos locales a partir de productos agrícolas que sean cultivados en un territorio determinado y sean portadores de identidad cultural y representen de manera categórica a dicho lugar y a sus habitantes (Delgado y Tapia, 2002).
- La generación de proyectos surgidos a través de este proceso de investigación y *diálogo de saberes* realizados en forma participativa con los actores locales y externos para la revalorización del patrimonio alimenticio regional que genere circuitos turísticos comunitarios con alto grado de involucramiento, y sobre todo, trabajo y consumo de los elementos culturales y productivos de la zona (Tapia, 2006), sin dejar de lado que la ejecución de dichos proyectos reside en los propios productores de la comunidad por medio de un *desarrollo endógeno sustentable* que puede ser considerado en los planes de desarrollo municipal de la región (Delgado, 2011).

En este sentido, las prácticas de aprovechamiento de la estrategia fomentan la Investigación Participativa Revalorizadora (IPR), enfoque transdisciplinario en la innovación de saberes agropecuarios y el Desarrollo Endógeno Sustentable (DES), la decisión y control local sobre las opciones, procesos y beneficios de desarrollo en la misma comunidad, con los productores de las localidades de Puebla y Tlaxcala mediante el diálogo de saberes en los sistemas tradicionales de producción y transformación de maíces pigmentados para el potenciamiento de tecnologías

endógenas e incidencia política, con el objetivo de influenciar directamente sobre políticas públicas y decisiones dentro de sistemas políticos, económicos, sociales e institucionales, para promover una denominación de origen de productos nutracéuticos tradicionales de maíces pigmentados ya comprobados, tales como el “atole agrio” del maíz azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco.

3.6.3. Comercialización

Las prácticas de comercialización se encuentran administradas por los funcionarios públicos y se basan en la gestión pública por medio de la organización, la economía comunitaria, la reciprocidad y el cooperativismo:

- La *organización económica comunitaria*, que comprende los sistemas de producción y reproducción de la vida social, fundados en los principios y visión propios de los productores tradicionales (Temple, 2003).
- La *economía comunitaria*, que se basa en las relaciones de *reciprocidad* donde la *cooperación mutua* y el parentesco sanguíneo y espiritual son fundamentales, al reconocer y revalorizar prácticas ancestrales que están vigentes en las comunidades, que se complementan y conviven con la economía de mercado, basadas en transacciones tradicionales de compra-venta (Yampara *et al*; 2007) en las “ferias” de las comunidades, organizadas como espacios socioeconómicos y simbólicos donde no sólo se intercambian productos sino también conocimientos ancestrales y saberes locales (Delgado, 2002).

En este sentido, las prácticas de comercialización de la estrategia promueven por medio de la gestión pública de los líderes comunitarios y comisariados ejidales de las localidades de Ixtacapan, Texocoyohuac, Nexticapan, El Molino y San Juan Ixtenco así como de los presidentes municipales de Zacapoaxtla e Ixtenco, una iniciativa de economía solidaria a través de nichos de mercado ecológicos que promocionen el “etno-ecoturismo” y fomenten prácticas de cooperativismo en los “tianguis” y “mercados solidarios” ya existentes en las comunidades, mediante redes de confianza entre los mismos productores de maíces pigmentados de cada localidad.

3.6.4. Población beneficiada

Se beneficiarán cinco comunidades de municipios de Puebla y Tlaxcala con familias productoras de maíces nativos pigmentados de las localidades de Ixtacapan, Texocoyohuac, Nexticapan y El Molino en Zacapoaxtla, Puebla y de San Juan Ixtenco en Ixtenco, Tlaxcala (Cuadro 3.1). El número total de familias beneficiarias será de 2,505 de las cuales el 33% corresponden a cuatro localidades de Zacapoaxtla y el 67% restante corresponde a una localidad de Ixtenco, ambos municipios con índices de marginación alto y muy alto (De la Vega *et al.*, 2012). La población beneficiada serán cinco localidades marginadas representativas de microrregiones productoras de maíces nativos pigmentados.

Cuadro 3.1 Población beneficiada con la estrategia.

Estado	Distrito	Municipio	Localidad	Número de familias marginadas*
Puebla	Huamantla	Zacapoaxtla	Ixtacapan	94
			Texocoyohuac	220
			Nexticapan	222
			El Molino	292
Tlaxcala	Teziutlán	Ixtenco	San Juan Ixtenco	1,677
Total			5	2,505

* CONAPO, 2010.

3.6.5. Actores

Los actores sociales que contempla la estrategia para el rescate y revalorización del recurso fitogenético maíz nativo pigmentado son:

- A. Productores-artesanos:** de las localidades de Puebla y Tlaxcala que producen, transforman y comercializan maíces nativos pigmentados con el objetivo de aprovechar los recursos fitogenéticos locales de sus regiones para beneficiarse del sector primario, secundario y terciario de la sociedad, a través de sus estrategias de vida como la agricultura

diversificada, el control de pisos ecológicos, la organización social comunitaria, el conocimiento ancestral, los saberes locales, la vida espiritual, y la economía solidaria por medio de los nichos de mercado ecológicos, promocionando el “etno-ecoturismo” y fomentando el cooperativismo de los “tianguis” y “mercados solidarios” a través de sus redes de confianza.

B. Técnicos, académicos y científicos: Ingenieros Agrónomos, Comunicólogos y Antropólogos que difundan, vinculen y faciliten el conocimiento con el objetivo de revalorizar saberes locales y conocimiento campesino para el beneficio de la humanidad y del medio ambiente a través de la Investigación Participativa Revalorizadora (IPR) y el Desarrollo Endógeno Sustentable (DES) en interrelación con los productores de las comunidades de Zacapoaxtla e Ixtenco mediante el diálogo de saberes en los sistemas tradicionales de producción y transformación para el potenciamiento de tecnologías endógenas.

C. Funcionarios Públicos: líderes comunitarios, comisariados ejidales y presidentes municipales de Zacapoaxtla e Ixtenco que gestionen públicamente con el objetivo de incrementar la seguridad y soberanía alimentaria para el beneficio de las regiones marginadas a través de la incidencia política para una denominación de origen de productos nutracéuticos tradicionales como el “atole agrio” del maíz azul de Zacapoaxtla y morado de Ixtenco.

3.6.6. Tiempo

Debido a que el vehículo de la estrategia para el rescate y revalorización del recurso fitogenético maíz nativo pigmentado es el mejoramiento continuo de los procesos de la Gestión del Conocimiento (GC) “proceso por el cual cada uno de los actores involucrados, se facilitan la transmisión de información y habilidades de una manera sistemática y eficiente” (Nuñez y Molano, 2012). El tiempo de ejecución de esta estrategia resulta atemporal, por ser la GC un conjunto de procesos que permiten el acceso y uso del conocimiento que está en las personas, generando valor a través de la solución de problemas, y contribuyendo al incremento de la productividad, de la

calidad, innovación en los productos y mejoramiento continuo de los servicios (Moreno y Caballero, 2009). Por lo tanto, el mejoramiento continuo de los procesos de la estrategia debe repercutir en el quehacer diario de cada uno de los actores de la estrategia.

Bajo este contexto el proceso en la implementación y funcionamiento de la estrategia se dará por medio de un “espiral del conocimiento” (Nonaka y Takeuchi, 1999), el cual ocurrirá de cuatro formas:

- 1. Socialización:** de conocimiento tácito a conocimiento tácito, es decir, el ser humano puede adquirir conocimiento tácito directamente de otras personas, sin usar el lenguaje, el cual comienza en el conocimiento tácito de los productores-artesanos, pues constituye la base de la estrategia, al ser ellos los que aprendieron de sus ancestros por la observación, imitación y práctica.
- 2. Externalización:** de conocimiento tácito a conocimiento explícito. La expresión del conocimiento tácito en forma de metáforas, conceptos, hipótesis, analogías o modelos. Este modo de conversión es considerado la clave para la creación de conocimiento porque genera el conocimiento conceptual, el cual principalmente se encuentra a cargo de los técnicos, encargados de movilizar y ampliar el conocimiento tácito acumulado por cada individuo, creando así el conocimiento colectivo.
- 3. Combinación:** de conocimiento explícito a conocimiento explícito. La combinación de conjuntos diferentes de conocimientos explícitos, a través de reuniones, documentos, conversaciones o redes de conocimiento a cargo de los académicos y científicos. Mediante la combinación se crea el conocimiento sistémico.
- 4. Internalización:** de conocimiento explícito a conocimiento tácito. El conocimiento explícito es incorporado en la base de conocimiento tácito de las personas, en forma de programas, planes o proyectos, lo que ocurre a través de la experiencia, generando como contenido el conocimiento operacional a cargo de los funcionarios públicos.

3.6.7. Organización

El cuadro 3.1 presenta el plan operativo de la estrategia, el cual está basado en la gestión de recursos naturales y recursos humanos (locales y externos) por medio de las siguientes Líneas de Acción Estratégicas (LAE) mismas que serán los objetivos específicos para su desarrollo:

- **LAE-1: Capacitación y fortalecimiento organizacional**
 - a) Reuniones mensuales en localidades.
 - b) Talleres de socialización con funcionarios públicos municipales.
 - c) Intercambio de experiencias de localidades con estrategias regionales exitosas (Skupieñ, 2011). Tales como:
 - Agroecología y Ecoturismo, Las Cañadas S.C. de R.L. de C.V.
 - Proyecto de Desarrollo Rural Integral Vicente Guerrero A.C.
 - Centro Demostrativo en Permacultura San Andrés HUAYAPAM.
 - Desde MAELA Soberanía Alimentaria en la Asociación Soya de Nicaragua: SOYNICA (con representación en México).
 - Sociedad Cooperativa Agropecuaria Regional TOSEPAN TITATANISKE (Unidos Venceremos).
 - Los campesinos cafetaleros-milperos.
 - Tianguis Agroecológico de Xalapa (TAX).
 - Experiencia agrícola en familias campesinas de la localidad de Chayomté en Aldama, Chiapas.
 - d) Talleres de aprendizaje social.
 - e) Fortalecimiento de capacidades.

- **LAE-2: Investigación participativa revalorizadora**
 - a) Elaboración de la línea base de investigación.
 - b) Investigaciones prioritarias.
 - c) Enfoque histórico lógico de la investigación.
 - d) Diseño y ejecución de medidas articuladoras.
 - e) Cooperación y fortalecimiento interinstitucional.

- **LAE-3: Sistematización y difusión**
 - a) Publicación de documentos.
 - b) Actualización de programas, planes y proyectos.

Cuadro 3.1 Plan operativo de la estrategia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS	ACTIVIDADES	PRODUCTOS	INDICADORES	MEDIOS DE VERIFICACIÓN	RESPONSABLES
LAE-1 Capacitación y fortalecimiento organizacional (interno y externo).	Asesoramiento y acompañamiento organizacional al proceso de constitución de las Organizaciones Sindicales Campesinas (OSC).	Documento borrador de constitución de las OSC. (60% de avance del 100% de la constitución).	Organizaciones Sindicales Campesinas constituidas.	Informe técnico y listas de participantes.	Productores- artesanos y técnicos.
	Capacitación y fortalecimiento de las OSC de cada microrregión.	El 95% de las autoridades locales en proceso de fortalecimiento. (50% de avance del 100% de la actividad).	El 95 % de los representantes sindicales capacitados en temas actuales.	Informe técnico, listas de participación y evidencias fotográficas.	
LAE-2 Investigación participativa revalorizadora.	Elaboración de la línea base de investigación en cada microrregión.	Documento diagnóstico para cada microrregión. (100% ejecutado de la actividad de planificación).	El 90 % de las localidades conocen su situación actual	Informe técnico y listas de técnicos participantes.	Técnicos, académicos y científicos.
	Realización de investigación - acción- participativa sobre los componentes de cada una de las dimensiones que intervienen en el recurso fitogenético maíz nativo pigmentado.	Documento de validación. (90% de avance del 100% de la actividad).	Alto grado (90%) de participación de los actores en las investigaciones.	Contrato por producto e informes mensuales.	
	Revalorización de conocimientos, saberes y tecnologías endógenas en torno al recurso fitogenético local.	Folletos, trípticos, almanaques y cuadernos didácticos de revalorización.	El 80 % de saberes locales y tecnologías endógenas revalorizadas.	Informes mensuales y guías de entrevistas.	
LAE-3 Sistematización y difusión.	Publicación de documentos de sistematización.	Sistematización y publicación de programas, planes y proyectos a nivel local y regional.	El 90% de los beneficiarios tienen acceso al material didáctico dentro del proceso de fortalecimiento a las capacidades.	Informe técnico.	Funcionarios Públicos.
	Actualización de programas, planes y proyectos.	Documento: en proceso Sistematización	Talleres interdisciplinarios y	Convenios municipales con Instituciones.	

		(50% de avance del 100% de la actividad).	reunión con Instituciones.		
--	--	---	----------------------------	--	--

3.6.7.1. Financiamiento

Para la ejecución de la estrategia es importante contar con financiamiento durante las prácticas de conservación, aprovechamiento y comercialización, por tal motivo es necesaria la participación de las instituciones gubernamentales como la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), la Secretaría de Economía (SE), la Secretaría de la Reforma Agraria (SRA), la Secretaría de Desarrollo Rural (SDR-Puebla), la Secretaría de Fomento Agropecuario (SEFOA-Tlaxcala) y las Agencias de Desarrollo Rural (ADR) apoyando a los productores en sus diferentes programas como el Fondo para el Apoyo a Proyectos Productivos en Núcleos Agrarios (FAPPA), el Fideicomiso de Riesgo Compartido (FIRCO), el Fondo Nacional de Apoyo a Empresas de Solidaridad (FONAES), los Proyectos Integrales de Innovación y Extensión (PIIEX) y el Programa de Apoyos Directos al Campo (PROAGRO) entre otros.

3.6.7.2. Participación de las instituciones

La participación activa del gobierno municipal (ADR), estatal (SDR-Puebla y SEFOA-Tlaxcala) y federal (SAGARPA) es fundamental para el logro de la estrategia, por medio de sus diferentes programas de apoyo, así como la participación de las universidades a través de investigaciones y cursos de capacitación para la gestión del conocimiento, mediante un equipo interdisciplinario formado por especialistas en diversas ramas del conocimiento, los cuales con apoyo de la participación activa de los productores organizados atiendan la problemática existente en cada microrregión.

3.6.8. Legislación y desarrollo institucional

La diversidad de maíz en México es un patrimonio biológico, económico y cultural que los mexicanos debemos de revalorar con el objetivo de preservarla para el beneficio de nuestras comunidades, de nuestro país, del mundo y sobre todo para las futuras generaciones.

En este sentido las políticas a desarrollar deben ser sobre todo en base al conocimiento campesino ya que los campesinos que mantienen una diversidad del maíz en sus comunidades y parcelas poseen un conjunto de valores respecto al maíz y su diversidad que deberían ser reconocidos por

el conjunto de la población, especialmente por los diseñadores de políticas y los tomadores de decisiones.

Cuyos proyectos deben ser articulados con la revalorización de saberes campesinos sobre prácticas agrícolas que mejoren las condiciones de producción agrícola y aprovechamiento de su recursos fitogenéticos, a continuación se hace un listado de los proyectos a desarrollarse por el Gobierno Municipal de Zacapoaxtla e Ixtenco:

- Diseñar e implementar un programa de recuperación, registro y sistematización de conocimientos tradicionales asociados con la agrobiodiversidad de las dos microrregiones de estudio, a fin de propiciar su aplicación más amplia en la restauración, el mantenimiento y la conservación de las localidades agrícolas de la microrregión de los valles templados de la sierra nororiental del estado de Puebla y de los valles orientes del volcán Malintzin del estado de Tlaxcala, así como el de promover el desarrollo de sistemas locales de conservación *in situ* de la agrobiodiversidad.
- Diseñar e implementar un centro de cronología de datos que permita recuperar, registrar, sistematizar y replicar los sistemas tradicionales de conocimiento, a fin de reducir los riesgos de la variabilidad climática y fortalecer las decisiones locales sobre la gestión de los ecosistemas clave y primordial en la producción agrícola en un contexto actual.
- Diseñar e implementar fondos Municipales y locales para el desarrollo de iniciativas bioculturales (cultura tradicional asociada a la recuperación y el mantenimiento de la agrobiodiversidad, incluyendo los sistemas tradicionales), a fin de promover y consolidar, *in situ*, las acciones sustentables necesarias para la adaptación al cambio climático global, además de preservar las especies nativas que según los agricultores mejor se adapten a las nuevas condiciones impuestas por el cambio climático global.

3.7. Referencias

- Abbott, J. A. (2005). Counting Beans: Agrobiodiversity, Indigeneity, and Agrarian Reform. *The Professional Geographer*, 57(2), 198-212.
- Alcorn, J. B. (1984). *Huastec Mayan Ethnobotany*. University of Texas Press. 994 p.
- Altieri, M. A. & Nicholls, C. (2000) *Una perspectiva para una agricultura ambientalmente sana y socialmente más justa en la América Latina del siglo XXI*. En: Enrique Leff, Exequiel Ezcurra, Irene Pisanty y Patricia Romero Lankao. La transición hacia el desarrollo sustentable: perspectivas de América Latina y el Caribe. Instituto Nacional de Ecología, México. 281-304 p.
- Barkin, D. (2003). El maíz y la economía. En G. Esteva & C. Marielle (Eds.), *Sin maíz no hay país* (1. ed, pp. 155-176). México, D.F: Consejo Nacional para la Cultura y las Artes.
- Boege Schmidt, E. (2009). Centros de origen, pueblos indígenas y diversificación del maíz. *Ciencias*, 92, 18-28.
- Boyce, J. K. (2004). Green and Brown? Globalization and the Environment. *Oxford Review of Economic Policy*, 20(1), 105-128.
- Brush, S. B. (1995). In Situ Conservation of Landraces in Centers of Crop Diversity. *Crop Science*, 35(2), 346-354.
- Chambers, R., & Conway, G. (1992). Sustainable rural livelihoods: practical concepts for the 21st century. Institute of Development Studies (UK). 29 p.
- Collin Harguindeguy, L. (2012). El buen vivir como lógica y cambio de paradigma. *Alter*, 6(2), 11-31.
- CONAPO, Consejo Nacional de Población. (2010). Índice de marginación por entidad federativa y municipio 2010. Recuperado el 25 de julio de 2015, a partir de http://www.conapo.gob.mx/en/CONAPO/Indices_de_Marginacion_2010_por_entidad_federativa_y_municipio
- De la Vega-Estrada, S., Téllez-Vázquez, Y., & López-Ramírez, J. (2012). *Índice de marginación por localidad 2010* (1. ed). México, D.F: Consejo Nacional de Población.
- Delgado-Burgoa, F., & Tapia-Ponce, N. (2002). *Políticas y estrategias de la investigación en agroecología y revalorización del saber local*. La Paz, Bolivia: UMSS. 30p.

- Delgado-Burgoa, F. (2002). *Estrategias de autodesarrollo y gestión sostenible en ecosistemas de montaña: complementariedad ecosimbiótica en el ayllu Majasaya Mujlli, departamento de Cochabamba, Bolivia*. La Paz, Bolivia: Plural editores. 324 p.
- Delgado-Burgoa, F. (2011). *Agroecología y desarrollo endógeno sustentable para Vivir Bien: 25 años de las experiencias de AGRUCO*. Cochabamba, Bolivia ; La Paz, Bolivia: AGRUCO. <http://www.agruco.org/agruco/publicaciones/libros>
- Delgado-Burgoa, F. & Delgado-Ávila, M. (2014). *Vivir y comer bien en los andes bolivianos. Primera Edición*, PLURAL, La Paz, Bolivia. <http://www.agruco.org/agruco/pdf/libros/vivir-y-comer-bien.pdf>
- Devaux, A., Horton, D., Velasco, C., Thiele, G., López, G., Bernet, T., Reinoso, I., & Ordinola, M. (2009). Collective action for market chain innovation in the Andes. *Food Policy*, 34(1), 31-38.
- Ellis, F. (2000). The Determinants of Rural Livelihood Diversification in Developing Countries. *Journal of Agricultural Economics*, 51(2), 289-302.
- Gruère, G., Nagarajan, L., & King, E. D. I. O. (2009). The role of collective action in the marketing of underutilized plant species: Lessons from a case study on minor millets in South India. *Food Policy*, 34(1), 39-45.
- Haverkort, B., Delgado-Burgoa, F., Shankar, D., & Millar, D. (2013). Hacia el diálogo intercultural: construyendo desde la pluralidad de visiones de mundo, valores y métodos en diferentes comunidades de conocimiento. La Paz, Bolivia: AGRUCO/Plural editores. 233 p.
- Hernández-Xolocotzi, E. (1985). Maize and man in the Greater Southwest. *Economic Botany*, 39(4), 416-430.
- INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2010). Compendio de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Recuperado el 25 de julio de 2015, a partir de <http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/topografia/compendio.aspx>
- INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2014). *Marco Geoestadístico Nacional*. Disponible en: http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/geoestadistica/m_geoestadistico_2014.aspx
- Jeria, M. E., & Vicente, L. (2014). Leyes de semillas y otros pesares. Los pueblos de América Latina las cuestionan e impugnan. *Biodiversidad, Sustento y Culturas*, 1(especial), 58-62.

- Latournerie Moreno, L., Tuxill, J., Yupit Moo, E., Arias Reyes, L., Alejo, J. C., & Jarvis, D. I. (2006). Traditional Maize Storage Methods of Mayan Farmers in Yucatan, Mexico: Implications for Seed Selection and Crop Diversity. *Biodiversity & Conservation*, 15(5), 1771-1795.
- María-Ramírez, A., Salinas-Moreno, Y., & Taboada-Gaytán, O. R. (2003). Maíz azul de los Valles Altos de México. I. Rendimiento de grano y caracteres agronómicos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 26(2), 101-107.
- Moreno-Freites, Z. E., & Caballero-Ruiz, A. E. (2009). Estado de la gestión del conocimiento en una empresa de litografía de Barquisimeto, Venezuela. *Cultura, Tecnología y Patrimonio*, 4(7), 119-150.
- Muñoz-Orozco, A. (2003). *Centli-maíz: prehistoria e historia, diversidad, potencial, origen genético y geográfico, glosario centli-maíz*. Colegio de Postgraduados.
- Nonaka, I., & Takeuchi, H. (1999). *La organización creadora del conocimiento: cómo las compañías japonesas crean la dinámica de la innovación*. Oxford University Press. 318 p.
- Núñez-Izquierdo, C. P., & Molano-Velandia, J. H. (2012). Identificación y propuesta de mejoramiento de la gestión del conocimiento en el Centro de Desarrollo Agropecuario y Agroindustrial (CEDEAGRO) Sena-Regional Boyacá. *Escuela Administración de Negocios*, (73), 26-43.
- Perales, H., Brush, S. B., & Qualset, C. O. (2003). Dynamic management of maize landraces in Central Mexico. *Economic Botany*, 57(1), 21-34.
- Rist, S. (2002). *Si estamos de buen corazón, siempre hay producción: caminos en la renovación de formas de producción y vida tradicional y su importancia para el desarrollo sostenible*. La Paz, Bolivia: Plural editores. 514 p.
- Robles-Vásquez, H. V., & García-Barrios, R. (1994). Fallas estructurales del mercado de maíz y la lógica de la producción campesina (microeconomía del autoabasto y la autosuficiencia). *Economía Mexicana. Nueva Época*, 3(2), 225-285.
- Salcido, G. T., & Ibarra, M. M. (1997). Maíz-tortilla, políticas y alternativas. UNAM. Mexico, D.F. 250 p.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2013). *Cierre de la producción agrícola por cultivo*. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>

- Skupieñ L., (2011). “Sistematización OSALA: La experiencia del proyecto pedagógico. Agroecología: una propuesta formativa para la construcción de comunidades sustentables”, Ed. OSALA, accedido en la página www.osala-agroecologia.org, Córdoba, España.
- Tapia-Ponce, N. (2006). *Agroecología y agricultura campesina sostenible en los Andes bolivianos: el caso del ayllu Majasaya Mujlli, Departamento de Cochabamba* (2. ed). La Paz: AGRUCO : Plural Editores. 371 p.
- Tapia-Ponce, N. (Ed.). (2008). *Aprendiendo el desarrollo endógeno: construyendo la diversidad bio-cultural* (1. ed). La Paz, Bolivia: AGRUCO. 320 p.
- Temple, D. (2003). *Teoría de la reciprocidad. Tomo I: la reciprocidad y el nacimiento de los valores humanos. Tomo II: el frente de la civilización. Tomo III: la economía de reciprocidad.* La Paz, Bolivia: PADEP.
- Toledo, V. M. (2008). Metabolismos rurales: hacia una teoría económico-ecológica de la apropiación de la naturaleza. En *Revibec: revista de la Red Iberoamericana de Economía Ecológica* (Vol. 7, pp. 01-26).
- Turrent-Fernández, A., & Cortés-Flores, J. I. (2005). Ciencia y tecnología en la agricultura mexicana: I. Producción y sostenibilidad. *Terra*, 23, 265–272.
- Yampara-Huarachi, S., Mamani-Morales, S., & Calancha-Layme, M. (2007). *La cosmovisión y lógica en la dinámica socioeconómica del qhathu/feria 16 de Julio*. FUNDACION PIEB. 156 p.
- UNESCO, Organización de las Naciones Unidas para la Educación la Ciencia y la Cultura. (1997). *Educación para un futuro sostenible: una visión transdisciplinaria para una acción concertada.* Presentado en International Conference on Environment and Society: Education and Public Awareness for Sustainability.
- Ureta, C., Martínez-Meyer, E., Perales, H. R., & Álvarez-Buylla, E. R. (2012). Projecting the effects of climate change on the distribution of maize races and their wild relatives in Mexico. *Global Change Biology*, 18(3), 1073-1082.

CONCLUSIONES GENERALES

- El valor social de los maíces nativos pigmentados reside en el uso alimenticio para “tortilla” y “atole”, y en el sincretismo religioso por medio de la elaboración de “atole agrio” mismos que sustentan su “conservación a través del uso” y que están determinados por los mismos grupos sociales que los custodian, sus creencias y los conocimientos asociados a estos tipos de maíces.
- El valor económico de los maíces nativos pigmentados radica en la fabricación de artesanías y en la organización de la comunidad en procesos sociales como la “feria del maíz”, ambas estrategias de vida que fomentan la comercialización de estos tipos de maíces de color y que les permiten alcanzar mayores precios de venta que el grano blanco.
- El valor nutracéutico de los maíces nativos pigmentados está dado por el contenido de antocianinas en grano y por la capacidad antioxidante presente en el “atole agrio”, la cual se incrementa por la adición de “olotes” con alto contenido de fenoles y antocianinas durante su procesamiento, así como por el % RV de antocianinas totales y cianidina-3-glucósido.
- El valor social, económico y nutracéutico de los maíces nativos pigmentados a través de un enfoque agroecológico y del “Vivir Bien” contribuyeron en el diseño de una estrategia para el rescate y revalorización de este recurso fitogenético local, basada en la importancia que cada uno de estos valores tiene en el desarrollo y progreso de las comunidades que aún conservan estos maíces de color.

ANEXOS

ANEXO A. Cuestionario de la encuesta.



IMPORTANCIA SOCIOECONÓMICA DE LOS MAÍCES NATIVOS PIGMENTADOS EN MICRORREGIONES

Buenos días/tardes: Vengo de parte del Colegio de Postgraduados, *Campus Puebla* (mostrar identificación) que es un centro de enseñanza-investigación con sede en la ciudad de Puebla. Nosotros estamos realizando un estudio sobre la conservación, diversidad, manejo, usos y comercialización de los maíces nativos pigmentados que existen en las microrregiones de los estados de Puebla y Tlaxcala. Y quisiera que me concediera algunos minutos de su tiempo para hacer unas preguntas. La información que usted me proporcione se usará para hacer una investigación, y no se reportarán los nombres de las personas participantes.

No. Encuesta / /
 Día / Mes / Año

1. SITUACIÓN AGRÍCOLA DEL PRODUCTOR.

Barrio o Sección Localidad Municipio Estado

() habla años () M () F
 Lengua indígena () entiende Edad Escolaridad Sexo

1.1 Cultivo ^a	1.2 Superficie ^b	1.3 Tenencia ^c	1.4 Clase de tierra ^d

Total Total

^a **Cultivo:** 1. maíz, 2. frijol, 3. haba, 4. alverjón, 5. otro
^b **Superficie:** Equivalencia en hectáreas. Considerar una hectárea (130 surcos), una yunta (30 surcos).
^c **Tenencia:** 1. ejidal, 2. privada, 3. arrendamiento, 4. a medias, 5. otro
^d **Clase:** 1. temporal, 2. riego, 3. otro



3. USOS GENERALES POR COLOR Y TIPO DE MAÍZ.

Color y tipo de maíz	¿Qué tipos de usos le da a su maíz? ^a												
	Tortilla	Atole	Pinole	Tamales	Elote	Pozole	Antojitos*	Hojas para tamales	Ceremonial	Artesanal	Rastrojo para alimento de animales	Grano para alimento de animales	Otro
3.1 Blanco													
3.2 Crema													
3.3 Amarillo													
3.4 Azul													
3.5 Rojo													
3.6 Morado													
3.7 Jaspeado													
3.8 Cacahuacintle													
3.9 Híbrido													
3.10 Otro													

^a Usos: 1. si, 2. no, 3. a veces.

* Tlacoyos, quesadillas, memelas, gorditas etc.

Notas:



4. PERCEPCIONES DEL PRODUCTOR RESPECTO AL ESTADO ACTUAL Y COMERCIALIZACIÓN DE SUS MAÍCES NATIVOS PIGMENTADOS.

4.1 ¿Por qué motivos utiliza semilla criolla de color?

1. por tradición
2. por desempeño de la variedad criolla
3. por falta de recursos para obtener una variedad mejorada
4. otro _____

Si utiliza semilla criolla de maíces de color azul, rojo y/o morado, preguntar:

4.2 ¿Qué características de la planta de los maíces azules, rojos y/o morados le agradan con respecto a los criollos de grano blanco?

1. menor porte
2. menor acame
3. mayor precocidad
4. otro _____

4.3 ¿Cómo compararía la calidad del grano de los maíces azules, rojos y/o morados con los de grano blanco?

1. Son iguales
2. Es mejor el de color (especificar cuál _____)
3. Es mejor el blanco

4.3.1 ¿Por qué?

4.4 Como agricultor, ¿Qué características le gustaría mejorar en los maíces de color azul, rojo y/o morado que cultiva?

1. rendimiento
2. resistencia a sequia
3. acame
5. otro _____



4.5 Para fines de preparación de alimentos, ¿Qué características le gustan de sus maíces criollos de color azul, rojo y/o morado?

1. sabor
2. consistencia
3. rendimiento en alimento
4. coloración
5. otro _____

4.6 En su experiencia o la de sus familiares, ¿Tiene algún beneficio el consumo de maíces criollos de color azul, rojo y/o morado?

1. si
2. no

4.6.1 ¿Cuál?

4.7 Haciendo una comparación con lo que había diez años atrás, ¿Cree usted que el número de agricultores que emplean maíces criollos de color azul, rojo y/o morado ha aumentado, disminuido o se mantiene igual?

1. Aumentó
2. Disminuyó
3. Sigue igual

4.7.1 ¿A qué cree que se deba?

4.8 Cuando ha tenido que vender su maíz criollo de color azul, rojo y/o morado, ¿lo ha podido vender con facilidad?

1. si
2. no

4.8.1 ¿Por qué?

4.9 ¿Qué propondría para mejorar la venta de su maíz criollo de color azul, rojo y/o morado?

ANEXO B. Protocolos de análisis de laboratorio.

ÍNDICE DE PROTOCOLOS

	Página
Cuantificación de ácido ferúlico y ácido p-cumárico por HPLC en maíz.	96
Cuantificación de antocianinas por HPLC en maíces pigmentados	105
Determinación de la capacidad antioxidante de ácidos fenólicos por el método ORAC ...	115
Determinación de la capacidad antioxidante de antocianinas glicosiladas por el método DPPH	127

Cuantificación de ácido ferúlico y ácido p-cumárico por HPLC en maíz.

CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO FERÚLICO Y ÁCIDO P-COUMÁRICO POR HPLC EN MAÍZ		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: 1.0	Sustituye a: Versión 0.3

Objetivo

Desarrollar una metodología adecuada y eficiente a través del uso de cromatografía de líquidos para la cuantificación e identificación de los ácidos fenólicos libres conjugados y ligados en el maíz, especialmente el ácido ferúlico (Ácido 3-metoxi,4-hidroxi cinámico).

Alcance

La presente metodología nos sirve para cuantificar e identificar ácido p-cumárico y ácido ferúlico en su forma ligada, presentes en los maíces. Especialmente en maíces blancos pero también algunos pigmentados (amarillos y azules)

La importancia de cuantificar los ácidos fenólicos es su contribución a la mejora de la salud. En los últimos años se ha acumulado evidencia de que el consumo de algunos compuestos fenólicos tiene implicaciones en la reducción de incidencia de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer.

Responsabilidades

Es responsabilidad de todo el personal que labora en el laboratorio de calidad nutricional de maíz y tejido vegetal seguir la siguiente metodología, utilizando el equipo de protección personal (bata, guantes, googles) durante el proceso de análisis, así como avisar al supervisor de las anomalías presentadas en los equipos y sistemas cromatográficos.

CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO FERÚLICO Y ÁCIDO P-COUMÁRICO POR HPLC EN MAÍZ		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: 1.0	Sustituye a: Versión 0.3

Preparación de Soluciones

Soluciones	Reactivo	Preparación	Recomendaciones
Fase Móvil A (solución de ácido trifluoroacético al 0.9% pH 2.0 ±0.05)	Ácido Trifluoroacético grado HPLC Agua milli Q	En un litro de agua milliq, previamente filtrada con membrana de 0.45 µm, adicionar 900 µL de ácido trifluoroacético, agitar y medir el pH. Este debe encontrarse en 2.0 ±0.5. Posteriormente sonicar por 5 min.	Realizar la solución en la campana de extracción. El ácido Trifluoroacético es corrosivo Almacenamiento: Refrigeración Estable por una semana
Fase Móvil B	Acetonitrilo grado HPLC	Filtrar un 1L de acetonitrilo HPLC con membrana de 0.45 µm y sonicar por 5 min.	El acetonitrilo es carcinógeno y flamable Estable por 3 meses.
Etanol 80%	Etanol grado reactivo	En un frasco de 1L, adicionar 800 ml de Etanol y posteriormente mezclar 200 ml de Agua Milliq.	Dejar que alcance la temperatura ambiente, ya que esta mezcla es exotérmica. Nota: al preparar esta solución, medir por separado ya que en la mezcla los volúmenes no son aditivos. Estable por 3 meses
Metanol 50%	Metanol grado reactivo	Mezclar 500 mL de metanol HPLC y 500 mL de agua milliq.	Dejar que alcance la temperatura ambiente, ya que esta mezcla es exotérmica. Nota: al preparar esta solución, medir por separado ya que en la mezcla los volúmenes no son aditivos. Estable por 3 meses

CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO FERÚLICO Y ÁCIDO P-COUMÁRICO POR HPLC EN MAÍZ

Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: 1.0	Sustituye a: Versión 0.3

Hidróxido de Sodio 2 M	Hidróxido de sodio	Pesar 80 g de hidróxido de sodio y trasvasarlos a un matraz volumétrico de 1L, previamente colocado en un baño de hielo. Adicionarle poco a poco agua desionizada hasta disolución completa del hidróxido, dejar que llegue a temperatura ambiente y aforar.	Estable por 3 meses Almacenamiento: Temperatura ambiente
Ácido clorhídrico 2 M	Ácido clorhídrico al 37% grado reactivo	En un matraz volumétrico de 1L, agregar 600 mL de agua desionizada. Medir 172 ml de ácido clorhídrico al 37% y agregarlo al matraz. Dejar que llegue a la temperatura ambiente y aforar.	Estable: por 3 meses Almacenamiento: Temperatura ambiente
Solución stock de ácidos fenólicos 100 µg/mL	Ácido p-cumárico, pureza 99.6% grado reactivo Ácido trans-ferúlico, pureza 99.8% Grado reactivo Metanol grado HPLC	Pesar 10 mg ± 0.5 mg de Ácido p-cumárico y Ácido trans-ferúlico. Trasvasar a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver los estándares con metanol HPLC y aforar.	Estable por 1 semana Almacenamiento: Refrigeración en un frasco ámbar.
Ácido Gálico 100 µg/mL (estándar de recuperación)	Ácido Gálico, pureza 100% grado analítico	Pesar 10 mg ± 0.5 mg de ácido gálico. Transferir a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver con metanol HPLC y aforar.	Preparar nuevo cada set de muestra Almacenamiento: 4 °C

CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO FERÚLICO Y ÁCIDO P-COUMÁRICO POR HPLC EN MAÍZ		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: 1.0	Sustituye a: Versión 0.3

Condiciones Cromatográficas

- Fase Móvil A: Solución acuosa de ácido Trifluoroacético al 0.9% pH 2.00 ±0.5
- Fase Móvil B: Acetonitrilo
- Tiempo de corrida=25 min
- Flujo= 0.5 ml/min
- Temperatura de la columna= 35 °C
- Temperatura de automuestreador: 10 °C
- Volumen de inyección= 10 µL
- Volumen de inyección de estándar de recuperación: 1.2 o 1.5 µL.
- Longitud de onda: 280 nm
- Columna: Zorbax-SB-Aq 150 mm x 4.6 mm de 3.5 µm
- Sistema: Gradiente

Tiempo	%A	%B	Curva
0	85	15	6
10	42	58	6
14	20	80	6
16	85	15	6
20	85	15	6

- Límite de Detección: 0.01 µg/mL(LOD)
- Límite de Cuantificación: 0.02 µg/mL(LOQ)

Preparación de la curva de calibración

Volumen final 10 mL para cada punto. Considerando el volumen de inyección de 10 µL.

µg de ácidos fenólicos	mL de solución stock 100 µg/mL	mL de Metanol al 50%
0.1	1	9
0.2	2	8
0.3	3	7
0.4	4	6
0.5	5	5
0.6	6	4
0.7	7	3
0.8	8	2
1.0	10	0

CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO FERÚLICO Y ÁCIDO P-COUMÁRICO POR HPLC EN MAÍZ		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: 1.0	Sustituye a: Versión 0.3

Preparación de la muestra

Extracción de la muestra

1. Pesar 20 mg \pm 1 mg de harina seca o húmeda en un tubo cónico de 2 mL, adicionar 500 μ L de etanol al 80% y vortexear para homogeneizar.
2. Colocar el(los) tubo(s) en el termomixer, agitar a 700 rpm durante 10 min a 25 °C.
3. Centrifugar a 3000 rpm durante 10 min. Quitar el sobrenadante y guardar el pellet de harina para la siguiente extracción.
4. Agregar 500 μ L de hidróxido de sodio 2 M. Agitar en vortex.
5. Colocar los tubos en el termomixer a 50 °C y agitar a 500 rpm durante 45 min.
6. Adicionar 500 μ L de ácido clorhídrico 2 M. Tomar al azar un numero de muestras y medir el pH con las tiras reactivas, el pH se encuentra entre 2 y 3.
7. Agregar 200 μ L de ácido gálico 100 μ g/mL fresco, mezclar con ayuda del vortex y seguir con el proceso de extracción.
8. Adicionar 500 μ L de hexano y centrifugar a 3000 rpm durante 3 min. Quitar la fase superior (hexano).
9. Posteriormente se realizan 6 extracciones con Acetato de etilo: se adicionan 500 μ L de acetato de etilo y se centrifuga a 3000 rpm durante 3 min. Se retira el sobrenadante con mucho cuidado y se coloca en un tubo de 15 mL y se repite el procedimiento 5 veces vez más. El segundo sobrenadante se mezcla con el primero y así sucesivamente.
10. El extracto se evapora a sequedad con ayuda del SpeedVac a 35 °C a 2.5 psi de vacío durante 60 min o con el evaporador de nitrógeno, este último con aproximadamente 60 min
11. Se reconstituye con 1 ml de metanol al 50%. Vortexear.
12. Colocarlo en un vial para cromatografía e inyectar.

CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO FERÚLICO Y ÁCIDO P-COUMÁRICO POR HPLC EN MAÍZ

Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: 1.0	Sustituye a: Versión 0.3

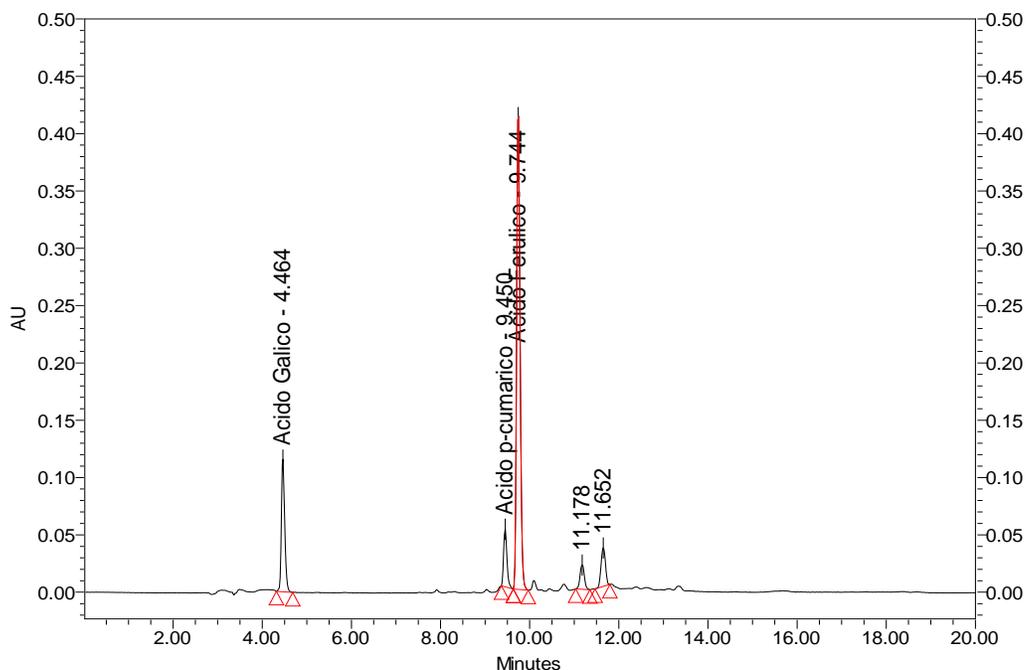


Figura 1. Cromatograma tipo de ácido ferúlico y p-cumárico.

Eficiencia de extracción

Para determinar la eficiencia de extracción para ambos fenoles se agrega 1 mL de una solución de ácido gálico al 100 µg/mL después de la neutralización a cada muestra, se realiza el proceso de extracción y se compara su área con el estándar de ácido gálico inyectando 1.0 µL. Se obtiene un valor denominado eficiencia de extracción **EE**.

El rango de la eficiencia de extracción es de **80-105%**.

Secuencia de inyección al sistema cromatografico

1. Blanco (solución de metanol al 50%) 1 inyección.
2. Curva de calibración 2 inyecciones por cada punto
3. Estándar de recuperación 6 inyecciones
4. Muestras 1 inyección
5. Cada 10 muestras realizar por duplicado.

CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO FERÚLICO Y ÁCIDO P-COUMÁRICO POR HPLC EN MAÍZ		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: 1.0	Sustituye a: Versión 0.3

Cálculos

A través de la curva de calibración se obtiene la ecuación de la recta característica para el ácido ferúlico y el ácido p-cumárico. Por lo tanto la concentración para cada ácido está dada por la formula.

$$C \left(\frac{mg}{g} \right) = \frac{m * Area \pm b * F}{W}$$

Donde:

C= concentración del ácido correspondiente en mg/g de muestra en base seca.

m= pendiente de la recta característica del ácido

Área= área de la muestra obtenida de la extracción de fenoles libres o fenoles ligados.

b= ordenada al origen de la recta característica

F= Factor (valor que cambia en función del tipo de extracción)

$$F = Vr / Vinyec$$

Donde:

Vr = volumen de reconstitución

Vinyec = Volumen de inyección (10 µL)

Factor:

$$F = 5000 \mu L / 10 \mu L = 500$$

Posteriormente se realiza la corrección de la concentración, dividiendo la concentración obtenida (C) entre la eficiencia de extracción (EE)

Historial del documento.

- Se retira el cromatograma tipo de fenoles libres.
- Se procede a realizar un solo procedimiento para la extracción, solo se cuantifica el ácido ferúlico y ácidos p-cumárico ligados.
- Se inyecta estándar de extracción a la concentración de 100 µL en menor cantidad(1.0 µL)
- Preparación de ácido gálico fresco cada set nuevo de muestras.
- El número de extracciones cambia a 6 veces, en lugar de 3 veces.

CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO FERÚLICO Y ÁCIDO P-COUMÁRICO POR HPLC EN MAÍZ		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: 1.0	Sustituye a: Versión 0.3

Referencias

- Cabrera-Soto, M. L., Salinas-Moreno, Y., Velázquez-Cárdelas, G. A., & Espinosa-Trujillo, E. (2009). Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. *Agrociencia*, 43(8), 827–839.
- Gutiérrez-Urbe, J. A., Rojas-García, C., García-Lara, S., & Serna-Saldívar, S. O. (2010). Phytochemical analysis of wastewater (nejayote) obtained after lime-cooking of different types of maize kernels processed into masa for tortillas. *Journal of Cereal Science*, 52(3), 410–416.
- Gutiérrez-Urbe, J. A., Romo-Lopez, I., & Serna-Saldívar, S. O. (2011). Phenolic composition and mammary cancer cell inhibition of extracts of whole cowpeas (*Vigna unguiculata*) and its anatomical parts. *Journal of Functional Foods*, 3(4), 290–297.
- Mattila, P., & Kumpulainen, J. (2002). Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3660–3667.
- Rojas-García, C., García-Lara, S., Serna-Saldívar, S. O., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2012). Chemopreventive effects of free and bound phenolics associated to steep waters (nejayote) obtained after nixtamalization of different maize types. *Plant foods for human nutrition*, 67(1), 94–99.

Cuantificación de antocianinas por HPLC en maíces pigmentados

CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS POR HPLC EN MAÍCES PIGMENTADOS		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Objetivo

Desarrollar una metodología adecuada y eficiente a través del uso de cromatografía de líquidos para la cuantificación e identificación de Antocianinas en maíces pigmentados. Las antocianinas a identificar son las de antocianinas glicosiladas.

Alcance

Esta metodología permite analizar antocianinas en harina, pericarpio y capa de aleurona de maíces pigmentados, así como en productos derivados.

Las antocianinas identificadas son: cianidina 3-glucosido, pelargonidina 3-glucosido, malvidina 3-glucosido, peonidina 3-glucosido, cloruro de delfinidina, cloruro de cianidina, cloruro de pelargonidina y cloruro de malvidina.

La importancia de cuantificar las antocianinas es su contribución a la mejora de la salud y al mundo de los pigmentos. En los últimos años se ha acumulado evidencia de que las antocianinas tiene una actividad antioxidante inhibiendo radicales libres por lo tanto previenen enfermedades como el cáncer, arterioesclerosis e inflamaciones, también posee un poder como colorantes.

Responsabilidades

Es responsabilidad de todo el personal del laboratorio de calidad nutricional de maíz y tejido vegetal seguir la siguiente metodología, utilizando el equipo de protección personal (bata, guantes, googles) durante el proceso de análisis, así como avisar al supervisor de las anomalías presentadas en los equipos y sistemas cromatográficos.

CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS POR HPLC EN MAÍCES PIGMENTADOS		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Preparación de Soluciones

Soluciones	Reactivo	Preparación	Recomendaciones
Solución de lavado de inyector: Metanol: Agua (50:50) (v/v)	Metanol grado HPLC(Omnisolv EMD MX0488-1) Agua grado HPLC (Obtenida del Direct-Q)	Para preparar 1000 mL de solución: Medir 500 mL de Agua con una probeta y transferirlos a un frasco de 1 litro, medir 500 mL de Metanol con una probeta y transferirlos al frasco que contiene el agua, Agitar el frasco, para que se mezclen.	Dejar que alcance la temperatura ambiente, ya que esta mezcla es exotérmica. Nota: al preparar esta solución, medir por separado ya que en la mezcla los volúmenes no son aditivos. La conductividad del agua debe ser igual o menor de 0.05 μ S/cm a 25°C. Estable por 3 meses a temperatura ambiente.
Fase Móvil A (solución de ácido trifluoroacético al 0.09% pH 2.0 \pm 0.05)	Ácido Trifluoroacético grado HPLC (Pierce no. 280901) Agua grado HPLC	En un litro de agua obtenida del Direc-Q, previamente filtrada con membrana de 0.45 μ m, adicionar 900 μ L de ácido trifluoroacético, agitar y medir el pH. Este debe encontrarse en 2.0 \pm 0.5. Posteriormente sonicar por 5 min.	Realizar la solución en la campana de extracción. El ácido Trifluoroacético es corrosivo Estable por una semana a temperatura ambiente.
Fase Móvil B Metanol: Acetonitrilo (50:50) (v/v) con 0.09% TFA	Acetonitrilo grado HPLC(Omnisolv EMD AX0142-1) Metanol grado HPLC(Omnisolv EMD MX0488-1) Agua grado HPLC (Obtenida del Direct-Q) Ácido Trifluoroacético grado HPLC (Pierce no. 280901)	Medir 500 mL de acetonitrilo en una probeta. Trasvasar a un frasco de 1 L. Medir en otra probeta 500 mL de metanol y transferirlo al frasco anterior. Dejar que la mezcla alcance la temperatura ambiente. Filtrar con membrana de nylon de 0.45 μ m. Adicionar a la mezcla 900 μ L de ácido trifluoroacético.	El acetonitrilo es carcinógeno y flamable Estable por 3 meses a temperatura ambiente.

CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS POR HPLC EN MAÍCES PIGMENTADOS		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Ácido Gálico 100 µg/mL (estándar de recuperación)	Ácido Gálico, Sigma-Aldrich pureza 100% grado reactivo (No. producto: G7384) Metanol grado HPLC(Omnisolv EMD MX0488-1)	Pesar 10 mg ± 0.5 mg de ácido gálico. Transferir a un matraz volumétrico de 100 mL., disolver con metanol HPLC y aforar.	Preparar nuevo cada set de muestra.
Metanol con ácido clorhídrico al 1%	Metanol grado HPLC(Omnisolv EMD MX0488-1) Ácido clorhídrico al 37% (J.T.Baker, código de producto: 9535-05)	Medir 500 mL de metanol en una probeta. Trasferir a un frasco debidamente identificado. Medir 5 mL de ácido clorhídrico al 37 % y adicionarlo a los 500 mL de metanol. Mezclar.	Estable por 3 meses a temperatura ambiente. Realizar la solución en una campana de extracción.
Estándares de antocianinas (Sigma-Aldrich)	Cianidina 3-glucosido (P.number. 52976, pureza ≥95%) Pelargonidina 3-glucosido (P.number 79576 pureza ≥97%) Malvidina 3-glucosido (P.number 72813, pureza ≥90%) Peonidina 3-glucosido (P. number 40796, pureza≥95) Cloruro de delphinidina (P.number 43725, pureza≥95%) Cloruro de cianidina (P.number 79457, pureza ≥95%) Cloruro de pelargonidina(P.number P1659) Cloruro de malvidina (p.number 68120, pureza ≥95%)	Ver preparación de la curva de calibración.	Mantener los estándares en las condiciones que indica la especificación de cada uno.

CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS POR HPLC EN MAÍCES PIGMENTADOS		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Condiciones Cromatográficas

- Fase Móvil A: Agua con 0.9% TFA a pH 2.0 ±0.5
- Fase Móvil B: Acetonitrilo: Metanol (50:50) con 0.9% TFA
- Tiempo de corrida: 35 min
- Flujo: 0.4 ml/min
- Solución de lavado: Agua: Metanol (50:50)
- Temperatura de la columna: 35 °C
- Temperatura de automuestreador: 10 °C
- Volumen de inyección: 20 µL
- Longitud de onda: 525 (210 – 580) nm barrido.
- Columna: Zorbax SB Aq 3.5µm 4.6x150mm (No. Parte:863953-914)
- Sistema: Gradiente

Tiempo	%A	%B	Curva
0	90	10	6
6	83	17	6
25	63	37	6
25.1	50	50	6
30	50	50	6
30.1	90	10	6
35	90	10	6

- Límite de Detección: 1 µg/mL. (0.020 µg/g)
- Límite de Cuantificación: 5 µg/mL. (0.099 µg/g)

CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS POR HPLC EN MAÍCES PIGMENTADOS		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Preparación de la curva de calibración

La curva de calibración se debe realizar cada que se lleva a cabo la corrida cromatográfica, sin embargo por el número de muestras que se analizan en el laboratorio, esta actividad se realizara por lo menos cada seis meses.

Preparación de los estándares.

1. Retirar del refrigerador o congelador cada uno de los estándares.
2. Dejar que alcancen la temperatura ambiente.
3. Reconstituir cada estándar con 5 mL de metanol con ácido clorhídrico al 1% (primero agregar 200 μ L de metanol acidificado, mezclar y trasvasar a un vial debidamente identificado. Este proceso se realiza con extremo cuidado ya que cada estándar es de 1 mg. Posteriormente adicionar los mililitros restantes hasta obtener los 5 mL)
4. Tomar 1 mL de la solución de 200 μ g/mL de cada estándar y adicionar 1 mL de metanol acidificado, para obtener la solución stock de 100 μ g/mL de cada estándar.
5. Realizar las diluciones como se muestra en la tabla 1. El volumen final de cada punto es de 1000 μ L.
6. Colocarlas en viales debidamente etiquetados e inyectar al cromatógrafo.

Concentración de cada estándar(μg/mL)	μL de solución stock 100 μg/mL	μL de Metanol 1% HCl
1	10	990
5	50	950
20	200	800
40	400	600
80	800	200
100	0	0

CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS POR HPLC EN MAÍCES PIGMENTADOS		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Preparación de la muestra

Muestreo y molienda

1. Tomar al azar de 20 a 30 semillas como muestra representativa del material.
2. Asegurarse de que todas las semillas de la muestra tengan un contenido de humedad similar.
3. Triturar primero los granos completos en un molino Wiley con puntos de contacto de acero inoxidable (malla de 2 mm de diámetro)
4. Posteriormente utilizar un molino Tecator Cyclotec con malla de acero inoxidable (0.5 mm de diámetro)

Extracción de Antocianinas

Las siguientes actividades deben realizarse en un medio con luz amarilla, evitar exponer la muestra ya molida a la luz directa.

1. En tubos de 2 mL, pesar 20 mg \pm 0.1 de la muestra.
2. Agregar 600 μ L de hexano. Agitar 5 veces en el vortex.
3. Agregar 100 μ L de ácido gálico con una concentración de 100 μ g/mL.
4. Agitar en el Vortex 5 veces.
5. Adicionar 300 μ L de la solución de metanol con ácido clorhídrico al 1%. Agitar en el vortex.
6. Centrifugar a 10,000 rpm durante 5 minutos.
7. Retirar el hexano.
8. Colocar en el termomixer los tubos para una incubación a 40°C por 5 min a 500 rpm.
9. Agitar en el Vortex vigorosamente.
10. Centrifugar a 10,000 rpm durante 5 minutos.
11. Transferir el sobrenadante a un tubo limpio y debidamente identificado.
12. Al pellet adicionarle nuevamente 600 μ L de hexano.
13. Agitar en el Vortex.
14. Repetir los pasos del 5 al 12 tres veces más.
15. Colocar los tubos en el equipo SpeedVac para llevar a sequedad.
Para el SpeedVac las condiciones son: temperatura 35°C y presión de 2.5 torr de vacío.
El tiempo de evaporación es de 2 horas.

Para grano completo:

CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS POR HPLC EN MAÍCES PIGMENTADOS		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

16. Re suspender en 100 µl de solución de Metanol acidificado con HCl al 1%
17. Transferir el líquido a un vial previamente identificado y con inserto para un volumen de 0-300 µL.
18. Inyectarlas en el sistema cromatografico (HPLC).
19. Si no pueden ser inyectadas inmediatamente, conservar las muestras a -20 °C por no más de 24 horas.

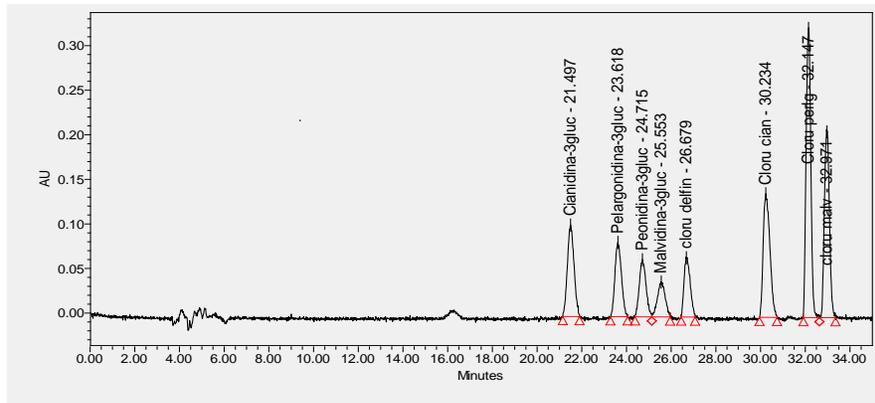


Figura 1. Cromatograma tipo de antocianinas.

Eficiencia de extracción

Para determinar la eficiencia de extracción para las antocianinas se agrega 100 µL de una solución de ácido gálico al 100 µg/mL después de adicionar 300 µL de metanol acidificado al 1% con HCl a cada muestra, se realiza el proceso de extracción y se comprara el área obtenida en la muestras con el área del estándar de ácido gálico. Se obtiene un valor denominado eficiencia de extracción **EE**. El rango de la eficiencia de extracción es de **80-110%**.

Secuencia de inyección al sistema cromatografico

CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS POR HPLC EN MAÍCES PIGMENTADOS		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

1. Blanco (solución de metanol acidificado al 1 % con HCl): 1 inyección.
2. Curva de calibración 2 inyecciones por cada punto
3. Estándar de recuperación(ácido gálico): 4 inyecciones
4. Testigo: 1 inyección.
5. Muestras: 1 inyección
6. Cada 10 muestras realizar por duplicado.

Nota: para el punto 3, la lectura del área del ácido gálico se lleva a cabo en una longitud de onda de 280 nm.

Cálculos

$$C (\mu\text{g/g}) = ((0.0000001191 \cdot \text{Area} + 0.0576663622) \cdot F) / w$$

Donde:

C= concentración de la antocianina correspondiente en $\mu\text{g/g}$ de muestra en base seca.

m= pendiente de la recta característica de la antocianina. (0.0000001191)

Área= área de la muestra obtenida de la extracción de antocianinas

b= ordenada al origen de la recta característica (0.0576663622)

w= peso de la muestra en gramos.

F= Factor (valor que cambia en función del tipo de extracción)

$$F = V_r / V_{inyec}$$

Donde:

V_r = volumen de reconstitución

V_{inyec} = Volumen de inyección (20 μL)

Factor:

Factor para antocianinas escalado

$$F = 100 \mu\text{L} / 20 \mu\text{L} = 5$$

CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS POR HPLC EN MAÍCES PIGMENTADOS		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Referencias

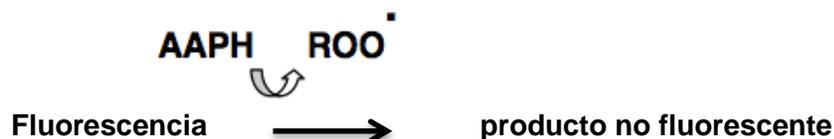
- Cuevas-Montilla, E., Antezana, A., & Winterhalter, P. (2008). Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) boliviano. Presentado en Encuentro Final Alfa Lagrotech, Cartagena, Colombia.
- De Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2002). LC–MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(9), 1003–1006.
- Gorriti, A., Quispe, F., Arroyo, J. L., Córdova, A., Jurado, B., Santiago, I., & Taype, E. (2014). Extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays* L. Maíz morado. *Ciencia e Investigación*, 12(2), 64–74.
- Peguro, F. (2007). *Perfil de antocianinas de tres variedades de frijol rojo (Phaseolus vulgaris L.) cultivadas en Honduras*. Recuperado a partir de <http://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/681>
- Salinas-Moreno, Y., Martínez-Bustos, F., Soto-Hernández, M., Ortega-Paczka, R., & Arellano-Vázquez, J. L. (2003). Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia*, 37(6), 617–628.
- Salinas-Moreno, Y., Rojas-Herrera, L., Sosa-Montes, E., & Pérez-Herrera, P. (2005). Composición de antocianinas en variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en México. *Agrociencia*, 39(4), 385–394.
- Salinas-Moreno, Y., Salas-Sánchez, G., Rubio-Hernández, D., & Ramos-Lobato, N. (2005). Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *Journal of chromatographic science*, 43(9), 483–487.
- Žilić, S. jana, Serpen, A., Akıllıoğlu, G., Gökmen, V., & Vančetović, J. (2012). Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 60(5), 1224–1231.

Determinación de la capacidad antioxidante de ácidos fenólicos por el método ORAC

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ÁCIDOS FENÓLICOS POR EL MÉTODO ORAC		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Principio del análisis

Un generador de radicales libres tal como un compuesto azo-iniciador se añade a una molécula fluorescente tal como beta-fucoeritrina o fluoresceína y se calienta, el azo-iniciador produce radicales libres de peróxido, que dañan la molécula fluorescente, lo que resulta en la pérdida de fluorescencia. Las curvas de la intensidad de fluorescencia frente al tiempo se registran, y el área bajo las curvas con y sin adición de un antioxidante se calcula y se compara con una curva estándar generada usando el antioxidante (±)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxílico, un análogo de vitamina E soluble en agua como Trolox. Cuya extracción se hace a partir de la fracción hidrofílica y lipofílica de la muestra a analizar.



(Los antioxidantes inhiben la oxidación de la fluoresceína por transferencia de átomos de hidrógeno)

Reactivos

Reactivo /mezcla	Reactivos específicos	Preparación	Recomendaciones especiales
Buffer de Fosfato (75 mM, pH 7.4)	Solución Buffer de Fosfato 1.0 M (pH 7.4) SIGMA Cat. P3619	En una botella de vidrio de 1 litro. Adicionar 75 ml de la solución Buffer de Fosfato 1.0 M (pH 7.4) a 800 ml de agua destilada. Aforar a 1 litro y almacenar en un frasco bien cerrado.	Estable por 1 mes a 4°C.
Fluoresceína (400 µM)	Sal Sódica de Fluoresceína SIGMA-ALDRICH Cat. F6377	En un matraz de 100 ml. Pesar 15.05 mg de Sal Sódica de Fluoresceína y aforar a 100 ml con Buffer de Fosfatos (75 mM, pH 7.4). Almacenar en un frasco bien cerrado.	Estable por 3 meses a 5°C. Para su preparación utilizar respirador de polvos. Cubrir con papel aluminio para proteger del contacto con la luz.
Dilución de Fluoresceína (0.1 µM)*	Fluoresceína (400 µM)	En tubos de vidrio de 15 ml. Llevar a 4 µM la solución madre 400 µM. Para esto tomar una alícuota de 0.100 ml de la solución 400 µM y aforar a 10 ml con Buffer de Fosfatos (75 mM, pH 7.4). A continuación tomar una alícuota de 0.250 ml de la solución 4 µM y aforar a 10 ml con Buffer de Fosfatos (75 mM, pH 7.4).	Esta solución se prepara todos los días y se almacena a 5°C antes de su uso. Cubrir con papel aluminio para proteger del contacto con la luz.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ÁCIDOS FENÓLICOS POR EL MÉTODO ORAC		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

AAPH (153 mM)*	AAPH (2,2'-azobis-2-metil-propanimidamida, diclorhidrato). ALDRICH Cat. 440914	En un tubo de vidrio de 15 ml. Disolver 207 mg de AAPH (2,2'-azobis-2-metil-propanimidamida, diclorhidrato) en 5 ml del Buffer de Fosfatos (75 mM, pH 7.4).	Se prepara diariamente y se desecha al haber transcurrido 8 horas. En el momento del ensayo se mantiene en baño de hielo.
Trolox (20 mM)	Trolox [(±)6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico]. ALDRICH Cat. 238813-5G	En un tubo de vidrio de 15 ml. Disolver 25 mg de Trolox [(±)6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico] en 5 ml del Buffer de Fosfato (75 mM, pH 7.4) y colocar en el baño de ultrasonidos durante 10 minutos. <i>Para los puntos de la curva hacer diluciones (0, 6.25, 12.5, 25, 50, y 100 µM)</i>	Estable por 1 mes a 5°C. Para su preparación utilizar respirador de polvos. Cubrir con papel aluminio para proteger del contacto con la luz.
Metanol al 50% v/v	Metanol SIGMA-ALDRICH Cat. M-1775-1GA CAS CAS 67-56-1	En un matraz de 250 ml. Adicionar 125 ml de metanol a 125 ml de agua destilada y almacenar en un frasco bien cerrado.	Estable por 1 mes a 4°C.

*Volumen estimado para 1 placa.

Equipo

- 1) Triturador de discos (PERTEN FALLING NUMBER Modelo 3303, Huddinge, Sweden).
- 2) Molino ciclónico con tamiz de 0.5 mm (FOSS TECATOR CYCLOTEC Sample mill Modelo 1093).
- 3) Fluorímetro de placa (equipado con filtro de excitación a 480nm y de emisión a 530nm con incubadora a 37 °C).
- 4) Thermomixer confort EPPENDORF con bloque térmico para microtubos de 2.0 mL.
- 5) ThermoStat plus EPPENDORF
- 6) Multipipeta xstream EPPENDORF
- 7) Microplacas negras con fondo cóncavo de 96 pocillos NUNC.
- 8) Micropipeta multicanal (ajustable de 20 µL a 300 µL).
- 9) Centrifuga EPPENDORF, Modelo 5417R para microtubos de 1.5 y 2 mL.
- 10) Centrifuga BECKMAN COULTER, Modelo Allegra X-12, para tubos de 15 mL.
- 11) SpeedVac Concentrator THERMO SCIENTIFIC, Modelo SAVANTA-SPD121P.
- 12) Universal Vacuum System THERMO SCIENTIFIC, Modelo UVS400.
- 13) Campana de flujo laminar.
- 14) Baño de agua.
- 15) Vortex.
- 16) Agitador magnético.
- 17) Barras magnéticas.
- 18) Potenciómetro.
- 19) Temporizador digital.
- 20) Balanza analítica con corrección a 0.1 mg.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ÁCIDOS FENÓLICOS POR EL MÉTODO ORAC		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

- 21) Micropipeta de 10 µL, 200 µL, 300 µL 1,000 y 5,000 µL con puntas desechables.
- 22) Tubos de vidrio con tapón de rosca 16 x 125 mm (PYREX Cat. No. RB15-45).
- 23) Matraces volumétricos de 50, 100 y 250 mL.
- 24) Gradilla para tubos de 16 x 125 mm.

Procedimiento

El siguiente procedimiento se indica para 24 muestras de fracción hidrofílica o lipofílica.

Muestreo y Molienda

1. A la recepción, el grano debe conservarse a -20°C.
2. Tome una muestra aleatoria de 20 a 30 semillas como un representante de su material.
3. Asegúrese de que todas las muestras de semillas tengan un contenido de humedad similar.
4. Si las semillas han sido tratadas, lavar bien con agua del grifo y luego enjuague con agua destilada. Dejar, permitir que las semillas se sequen.
5. Moler cada muestra hasta polvo muy fino. Si es posible a un ajuste de 0.5 mm de un molino ciclónico (la harina a emplear en el análisis debe ser recién molida).

Extracción

- **Fracción hidrofílica**

Este método de extracción se utiliza actualmente en el Laboratorio de Análisis de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal del CIMMYT para cuantificar ácidos fenólicos (p-cumárico y ácido ferúlico):

1. Pesar 20 mg ± 1 mg de la muestra en un microtubo de 2 mL.
2. Adicionar 500 µL de Etanol al 80% y vortexear. Colocar los tubos en el termomixer, agitar a 700 rpm durante 10 minutos a 25 °C. Centrifugar a 3,000 rpm durante 10 minutos. Decantar el sobrenadante y guardar el pellet de harina para la siguiente extracción.
3. Agregar 500 µL de Hidróxido de Sodio 2 M y vortexear. Colocar los tubos en el termomixer a 50 °C y agitar a 500 rpm durante 45 minutos.
4. Adicionar 500 µL de Ácido Clorhídrico 2 M. Tomar al azar un número de muestras y medir el pH con las tiras reactivas, el pH se encuentra entre 2 y 3 (en este paso se puede suspender la extracción por no más de 24 horas a Temperatura Ambiente).
5. Adicionar 500 µL de Hexano, vortexear y centrifugar a 4,000 rpm durante 6 minutos. Quitar la fase superior (Hexano) con ayuda de una pipeta.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ÁCIDOS FENÓLICOS POR EL MÉTODO ORAC		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

6. Posteriormente se realizan 3 extracciones con Acetato de Etilo: se adicionan 500 µL de Acetato de Etilo, se vortexea y se centrifuga a 4,000 rpm durante 6 minutos. Se recolecta el sobrenadante en un microtubo de 1.5 mL con una pipeta y se repite el procedimiento 2 veces más. El segundo sobrenadante se mezcla con el primero y así sucesivamente.
7. El extracto se evapora a sequedad con ayuda del SpeedVac a 35 °C a 2.5 psi de vacío durante 1 hora.

- **Fracción lipofílica**

Este método de extracción se utiliza actualmente en el Laboratorio de Análisis de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal del CIMMYT para cuantificar carotenoides y vitamina E:

Las siguientes actividades deben realizarse en un medio con luz amarilla, nunca con luz directa. El extracto de las muestras debe ser analizado inmediatamente después de la extracción o conservada “sin reconstituir” a -80°C por no más de 24 horas.

1. En tubos de vidrio de 15 mL, sin desgrasar, pesar 600 mg ± 1 mg de la muestra.
2. Agregar 6 mL de butilhidroxitolueno (BHT) al 0.1%. Agitar vigorosamente en el vortex.
3. Incubar a 85°C durante 5 minutos en baño maría.
4. Añadir 500 µL de KOH al 80%.
5. Agitar vigorosamente en el vortex.
6. Incubar durante 10 minutos a 85°C (agitar transcurridos los primeros 5 minutos)
Nota: el tiempo se comienza a contar después de haber introducido todas las muestras en baño maría.
7. Colocar los tubos en hielo.
8. Agregar a cada tubo 3 mL de agua desionizada fría y agitar vigorosamente en el vortex.
9. Agregar 3 mL de hexano, en la campana de extracción, y agitar vigorosamente en el vortex.
10. Centrifugar las muestras a 3000 rpm durante 3 minutos.
11. Transferir la fase superior a tubos nuevos. Mantener los tubos en hielo. Taparlos inmediatamente.
12. Extraer 2 veces más con hexano (repetir los pasos 9 a 12).
13. Evaporar a sequedad el hexano colocando los tubos bajo nitrógeno gaseoso o con un sistema SpeedVac durante 50 minutos a 2.5 psi de presión, sin temperatura.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ÁCIDOS FENÓLICOS POR EL MÉTODO ORAC		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Dilución de la muestra

1. A partir de la extracción reconstituir la muestra con 500 μ L de metanol:agua (50:50) para la fracción hidrofílica o 500 μ L de metanol:isopropanol (50:50) para la fracción lipofílica, y vortexear 3 veces o hasta que la muestra se incorpore a la solución.
2. Dependiendo del tipo de muestra se realizan las siguientes diluciones con Buffer de Fosfato (75 mM, pH 7.4).

a. Grano entero 1:80.

En tubos de vidrio de 15 mL agregar una alícuota de 0.125 mL y aforar a 10 mL de Buffer de Fosfato (75 mM, pH 7.4) y vortexear.

b. Pericarpio 1:3,000.

En tubos de vidrio de 40 mL agregar una alícuota de 0.01 mL y aforar a 30 mL de Buffer de Fosfato (75 mM, pH 7.4) y vortexear.

NOTA: Estos factores de dilución se indican para muestras con un rango de Antocianinas Totales entre 2 y 5,000 mg de pelargonidina /100g. También este factor de dilución se toma en cuenta para los cálculos finales. Por ejemplo, basados en la curva estándar de Trolox, el equivalente a la concentración de Trolox es 20 μ M, de este modo: el valor ORAC (de la muestra) = 20 μ M x 10 (factor de dilución) = 200 μ M TE = 200 μ M TE/g.

Reacción Fluorométrica

Las siguientes actividades deben realizarse en un medio con temperatura controlada y luz amarilla, nunca con luz directa

1. Los pocillos exteriores de la placa no se utilizan (por efecto de borde). Estos pocillos se llenan con 200 μ L de agua destilada (para proporcionar una masa térmica) mientras que los pocillos interiores se utilizan para las determinaciones experimentales.
2. Los puntos de la curva se llenan con 25 μ L por duplicado de las diluciones de Trolox respectivas.
3. Después de la curva se añaden 25 μ L de las muestras por duplicado.
4. Incubar la placa a 37 °C durante 10 minutos.
5. Enseguida, se agregan 150 μ L por pocillo de la Dilución de Fluoresceína (0.1 μ M) a todos los pocillos de las determinaciones experimentales.
6. A continuación, se incuba la placa nuevamente durante 30 minutos a 37 °C.
7. Posteriormente se inicia la reacción mediante la adición de 25 μ L de la solución AAPH 153 mM (el cual previamente se encuentra en baño de hielo y su “adicionador” en refrigeración) a todos los pocillos de las determinaciones experimentales para un volumen final por pocillo de 200 μ L.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ÁCIDOS FENÓLICOS POR EL MÉTODO ORAC		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

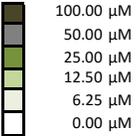
8. Finalmente se mide la fluorescencia cada 2 minutos durante 90 minutos. Para esto se utiliza un Fluorímetro de placa.

NOTA: Los parámetros de lectura para el equipo PHERAstar Plus

- Modo: Intensidad de Fluorescencia (FI).
- Filtro: excitación 485 nm y emisión a 520 nm.
- Temperatura: 37 °C
- Ganancia: Ajustable para cada placa (se ajusta en cada análisis en el pocillo del blanco).
- Por ejemplo, 142 al 21% (para una fluorescencia inicial entre 50,000 y 60,000)
- Microplaca: NUNC 96
- Posición de retraso: 0.3 segundos.
- Numero de ciclos: 65
- Numero de flashes: 10
- Tiempo de ciclo: 90 segundos.
- Tiempo de inicio de la medición: 0.0 segundos.
- Dirección de lectura: vertical.
- Modo de agitación: agitación orbital, 8 segundos (ancho de agitación 4mm) antes de cada ciclo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL
B	agua destilada 200µL	25µL(BF) 150µL(F) 25µL(AAPH)	X1-A	X7-A	X13-A	X19-A	X1-B	X7-B	X13-B	X19-B	25µL(T) 150µL(F) 25µL(AAPH)	agua destilada 200µL
C	agua destilada 200µL	25µL(BF) 150µL(F) 25µL(AAPH)	X2-A	X8-A	X14-A	X20-A	X2-B	X8-B	X14-B	X20-B	25µL(T) 150µL(F) 25µL(AAPH)	agua destilada 200µL
D	agua destilada 200µL	25µL(T) 150µL(F) 25µL(AAPH)	X3-A	X9-A	X15-A	X21-A	X3-B	X9-B	X15-B	X21-B	25µL(T) 150µL(F) 25µL(AAPH)	agua destilada 200µL
E	agua destilada 200µL	25µL(T) 150µL(F) 25µL(AAPH)	X4-A	X10-A	X16-A	X22-A	X4-B	X10-B	X16-B	X22-B	25µL(T) 150µL(F) 25µL(AAPH)	agua destilada 200µL
F	agua destilada 200µL	25µL(T) 150µL(F) 25µL(AAPH)	X5-A	X11-A	X17-A	X23-A	X5-B	X11-B	X17-B	X23-B	25µL(T) 150µL(F) 25µL(AAPH)	agua destilada 200µL
G	agua destilada 200µL	25µL(T) 150µL(F) 25µL(AAPH)	X6-A	X12-A	X18-A	X24-A	X6-B	X12-B	X18-B	X24-B	25µL(BF) 150µL(F) 25µL(AAPH)	agua destilada 200µL
H	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL	agua destilada 200µL

CURVA/TROLOX



LEYENDA

BF = Buffer de Fosfato (75mM, pH 7.4)

F = Fluoresceína (0.1µM)

T = Trolox (100µM y 20µM)

AAPH = AAPH (153mM)

X-ABC = Muestras

Esquema del llenado de microplaca NUNC 96.

Curva estándar de Trolox

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ÁCIDOS FENÓLICOS POR EL MÉTODO ORAC

Departamento
Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal



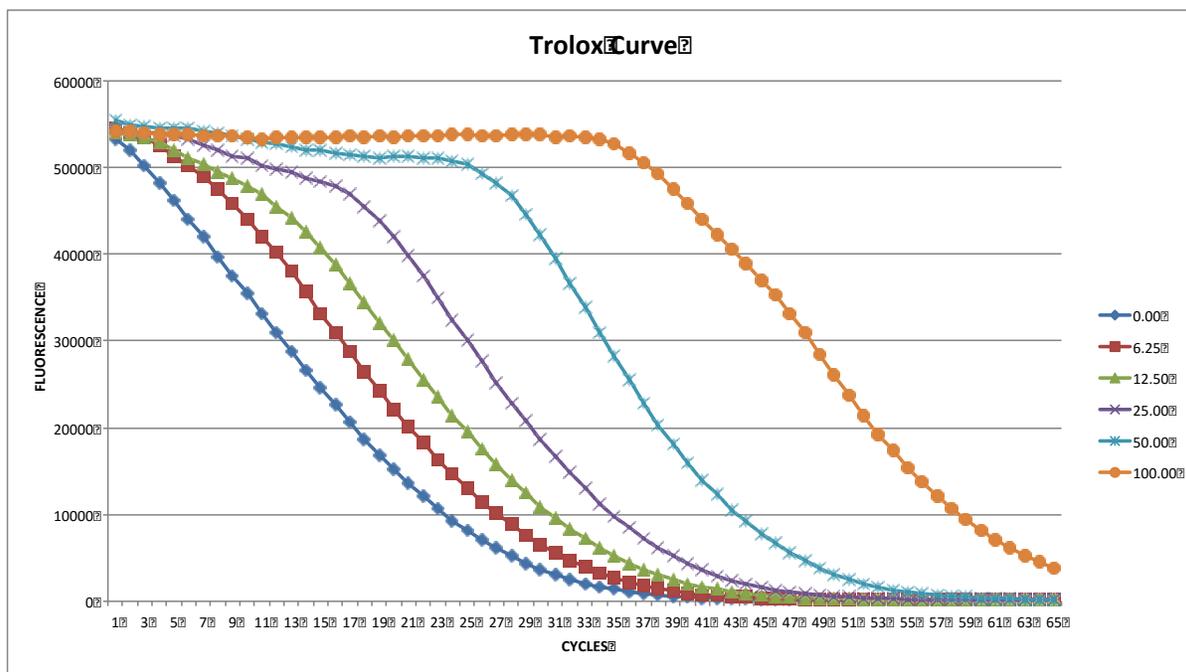
Vigencia:

Versión: NUEVO

Sustituye a: Versión 0

1. En un matraz de 50 mL. Preparar una solución concentrada de 100 μM de Trolox. Para esto, se toma una alícuota de 250 μL de Trolox 20 mM y se afora a 50 mL con Buffer de Fosfato (75 mM, pH 7.4). Preparar semanalmente, cubrir con papel aluminio para proteger del contacto con la luz y almacenar a 4 $^{\circ}\text{C}$.
2. En tubos de vidrio de 15 mL, preparar diariamente diluciones de 0, 6.25, 12.5, 25, 50, y 100 μM de Trolox y aforar a 5 mL con Buffer de Fosfato (75 mM, pH 7.4). Agitar en el vortex antes de su uso y cubrir con papel aluminio para proteger del contacto con la luz.

No. Tubo	Trolox 100 μM	Buffer de Fosfato 75 mM, pH 7.4	Concentrada de Trolox	Volumen Final
	(mL)	(mL)	($\mu\text{M}/\text{mL}$)	(mL)
1	0.000	5.000	0.00	5
2	0.313	4.687	6.25	5
3	0.625	4.375	12.50	5
4	1.250	3.750	25.00	5
5	2.500	2.500	50.00	5
6	5.000	0.000	100.00	5



Curva estándar de Trolox a diferentes concentraciones

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ÁCIDOS FENÓLICOS POR EL MÉTODO ORAC

Departamento
Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal

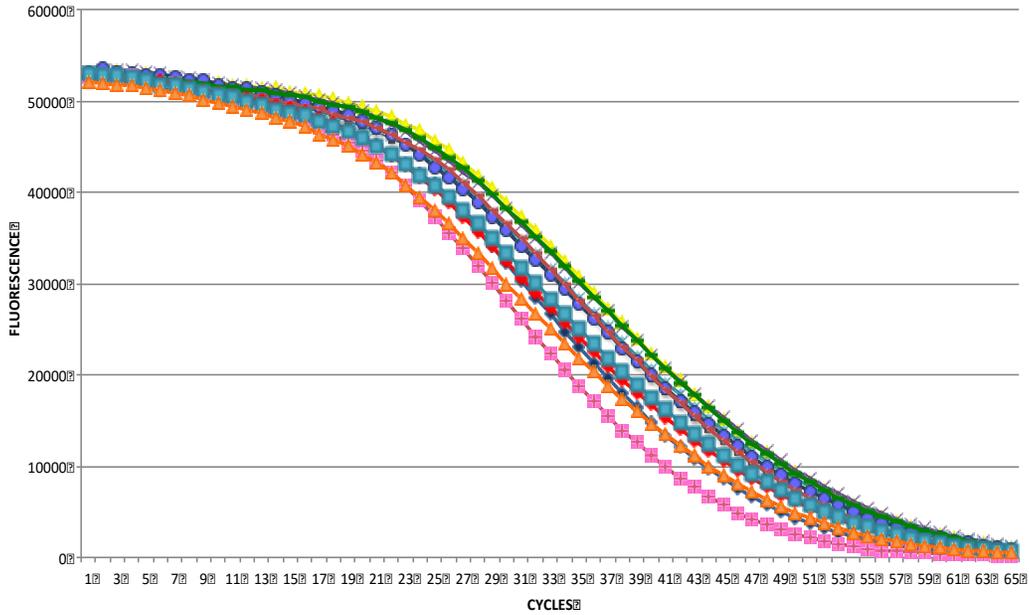


Vigencia:

Versión: NUEVO

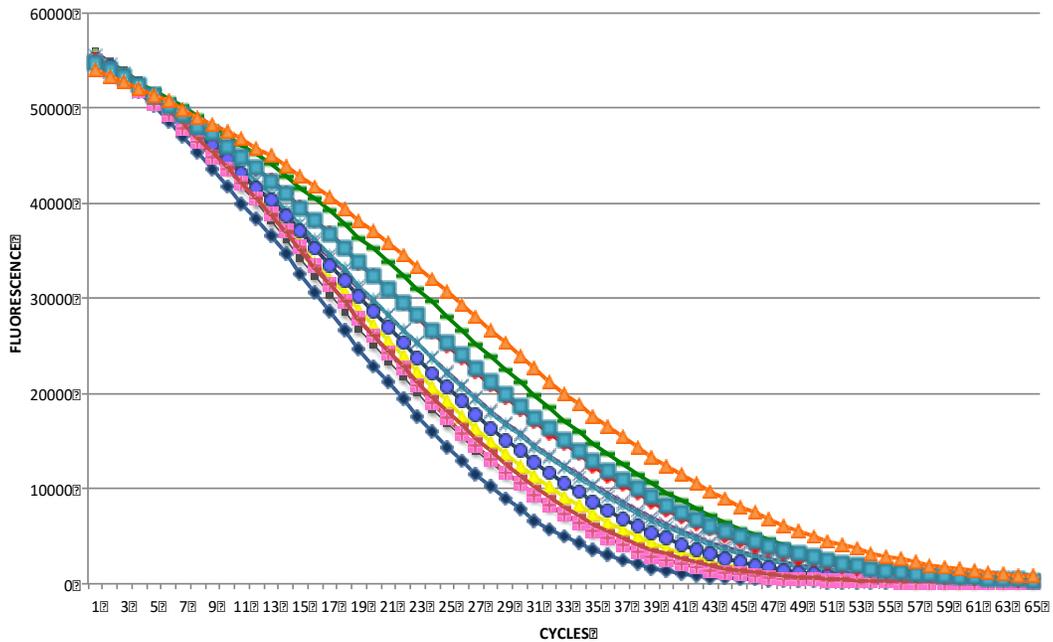
Sustituye a: Versión 0

Samples



Muestras fracción Hidrofílica

Samples



Muestras fracción Lipofílica

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ÁCIDOS FENÓLICOS POR EL MÉTODO ORAC		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Cálculos

Los valores ORAC se calculan como describen Cao y Prior (1999). La AUC y la AUC Neta de los estándares de las muestras se determinan utilizando las ecuaciones I y II respectivamente. La ecuación III se utiliza para calcular el valor ORAC en equivalentes de Trolox.

- **Ecuación I**

$$AUC = 0.5 + (R2/R1) + (R3/R1) + (R4/R1) + \dots + 0.5 (Rn/R1)$$

Donde R1 es la lectura de fluorescencia en el inicio de la reacción y Rn es la última medición.

- **Ecuación II**

La curva estándar se obtiene mediante el trazado de la AUC Neta de diferentes concentraciones de Trolox contra su concentración.

$$AUC \text{ Neta} = AUC_{\text{muestra}} - AUC_{\text{blanco}}$$

- **Ecuación III**

El valor ORAC (la actividad antioxidante) se calcula mediante el uso de una curva de calibración de Trolox con una ecuación de regresión lineal entre AUC Neta y la concentración de antioxidantes para todas las muestras. Los resultados finales se expresan en $\mu\text{Mol TE/mL}$ o g de muestra.

$$x = \frac{y - b}{m} \times \frac{DF}{W}$$

Donde:

y = AUC Neta de la pérdida de fluorescencia

b = Intercepción

m = Pendiente

DF = Factor de dilución

W = peso de la muestra en gramos

x = $\mu\text{Mol TE/g}$

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ÁCIDOS FENÓLICOS POR EL MÉTODO ORAC		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Referencias

- Cao, G., Alessio, H. M., & Cutler, R. G. (1993). Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 14(3), 303–311. [http://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90027-R](http://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90027-R)
- Cao, G., & Prior, R. L. (1998). Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical Chemistry*, 44(6), 1309–1315.
- Cao, G., & Prior, R. L. (1999). Measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. En L. Packer (Ed.), *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 50–62). Academic Press. Recuperado a partir de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687999990080>
- Dávalos, A., Bartolomé, B., Suberviola, J., & Gómez-Cordovés, C., others. (2003). Orac-fluorescein as a model for evaluating antioxidant activity of wines. *Pol. J. Food Nutr. Sci*, 12, 133–136.
- Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C. H., Serna Saldivar, S. O., & Talcott, S. T. (2006). Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. *Food Research International*, 39(6), 696–703. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.01.014>
- Galicia, L., Miranda, A., Gutierrez, M. G., Custodio, O., Rosales, A., Ruiz, N., ... Palacios, N. (2012). *Laboratorio de calidad nutricional de maiz y analisis de tejido vegetal: protocolos de laboratorio 2012*. México, DF: CIMMYT. Recuperado a partir de <http://repository.cimmyt.org:8080/xmlui/handle/10883/1349>
- Gupta, R., Sharma, M., Lakshmy, R., Prabhakaran, D., & Reddy, K. S. (2009). Improved method of total antioxidant assay. *Indian journal of biochemistry & biophysics*, 46(1), 126.
- Haytowitz, D. B., & Bhagwat, S. (2010). USDA database for the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of selected foods, Release 2. *US Department of Agriculture*. Recuperado a partir de <http://www.drmarcofranzreb.com/wp-content/uploads/2013/04/ORAC-de-alimentos-2.pdf>
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Prior, R. L. (2002). High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(16), 4437–4444. <http://doi.org/10.1021/jf0201529>

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ÁCIDOS FENÓLICOS POR EL MÉTODO ORAC		
Departamento Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841–1856.
- Kambayashi, Y., Binh, N. T., W. Asakura, H., Hibino, Y., Hitomi, Y., Nakamura, H., & Ogino, K. (2009). Efficient Assay for Total Antioxidant Capacity in Human Plasma Using a 96-Well Microplate. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 44(1), 46–51. <http://doi.org/10.3164/jcfn.08-162>
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (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(10), 4619–4626.
- Teow, C. C., Truong, V.-D., McFeeters, R. F., Thompson, R. L., Pecota, K. V., & Yencho, G. C. (2007). Antioxidant activities, phenolic and β -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food chemistry*, 103(3), 829–838.
- Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(12), 4026–4037.

**Determinación de la capacidad antioxidante de antocianinas glicosiladas por el método
DPPH**

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ANTOCIANINAS GLICOSILADAS POR EL MÉTODO DPPH		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Principio del análisis

En el ensayo se determina la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante una vez que se ha añadido el posible antioxidante, de forma que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH debida a la cesión de electrones de la especie antioxidante.

Reactivos

Reactivo /mezcla	Reactivos específicos	Preparación	Recomendaciones especiales
DPPH (1 mM)	DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl) ALDRICH Cat. D9132-5G	En un tubo cónico de 50 ml. Disolver 9.9 mg de DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl) en 25 ml de Metanol (por ser una solución oscura, aforar abajo del menisco). Para disolver la solución sonicar durante 3 min.	Estable por 1 mes a -20°C. Para su preparación utilizar respirador de polvos. Cubrir con papel aluminio para proteger del contacto con la luz.
Dilución de DPPH (200 µM)	DPPH (1 mM)	Para llevar a 200 µM la solución madre 1 mM. En un tubo cónico de 50 ml. Tomar una alícuota de 10 ml de la solución 1 mM y aforar a 50 ml con Metanol.	Se prepara diariamente y se desecha al haber concluido el análisis.
Ácido Ascórbico (1 mM)	Ácido Ascórbico SIGMA-ALDRICH Cat. A92902-25G	En un matraz volumétrico de 100 ml. Disolver 17.6 mg de Ácido Ascórbico y aforar a 100 ml con Metanol. Almacenar en un frasco bien cerrado. Para disolver la solución sonicar durante 3 min. Posteriormente se preparan los puntos de la curva del control.	Estable por 1 mes a -20°C. Cubrir con papel aluminio para proteger del contacto con la luz.
Metanol	Metanol J. T. BAKER grado HPLC CAS No: 67-56-1	Tomar 250 ml y almacenar en un frasco bien cerrado.	Estable por 1 mes a temperatura ambiente.

*Volumen estimado para 1 placa.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ANTOCIANINAS GLICOSILADAS POR EL MÉTODO DPPH		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Equipo

- 1) Triturador de discos (PERTEN FALLING NUMBER Modelo 3303, Huddinge, Sweden).
- 2) Molino ciclónico con tamiz de 0.5 mm (FOSS TECATOR CYCLOTEC Sample mill Modelo 1093).
- 3) Espectrómetro.
- 4) Thermomixer confort EPPENDORF con bloque térmico para microtubos de 2.0 mL.
- 5) Multipipeta xstream EPPENDORF
- 6) Microplacas transparentes de 96 pocillos NUNC.
- 7) Micropipeta multicanal (ajustable de 20 µL a 300 µL).
- 8) Centrifuga EPPENDORF, Modelo 5417R para microtubos de 1.5 y 2 mL.
- 9) SpeedVac Concentrator THERMO SCIENTIFIC, Modelo SAVANTA-SPD121P.
- 10) Universal Vacuum System THERMO SCIENTIFIC, Modelo UVS400.
- 11) Campana de flujo laminar.
- 12) Vortex.
- 13) Agitador magnético.
- 14) Barras magnéticas.
- 15) Potenciómetro.
- 16) Temporizador digital.
- 17) Balanza analítica con corrección a 0.1 mg.
- 18) Micropipeta de 10 µL, 200 µL, 300 µL 1,000 y 5,000 µL con puntas desechables.
- 19) Microtubos EPPENDORF de 2mL.
- 20) Matraces volumétricos de 25, 50 y 100mL.

Procedimiento

El siguiente procedimiento se indica para 17 muestras (por placa).

Muestreo y Molienda

1. A la recepción, el grano debe conservarse a -20°C.
2. Tome una muestra aleatoria de 20 a 30 semillas como un representante de su material.
3. Asegúrese de que todas las muestras de semillas tengan un contenido de humedad similar.
4. Si las semillas han sido tratadas, lavar bien con agua del grifo y luego enjuague con agua destilada. Dejar, permitir que las semillas se sequen.
5. Moler cada muestra hasta polvo muy fino. Si es posible a un ajuste de 0.5 mm de un molino ciclónico (la harina a emplear en el análisis debe ser recién molida).

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ANTOCIANINAS GLICOSILADAS POR EL MÉTODO DPPH		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Extracción

Este método de extracción se utiliza actualmente en el Laboratorio de Análisis de Calidad Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal del CIMMYT para cuantificar Antocianinas por HPLC.

Las siguientes actividades deben realizarse en un medio con luz amarilla, evitar el exponer la muestra ya molida a la luz directa.

1. En tubos de 2mL, pesar 20 mg \pm 0.1 de la muestra.
2. Agregar 600 μ L de hexano. Agitar 5 veces en el vortex.
3. Adicionar 300 μ L de la solución de metanol con ácido clorhídrico al 1%. Agitar en el vortex.
4. Centrifugar a 14,000 rpm durante 5 minutos.
5. Retirar el hexano con ayuda de una pipeta.
6. Colocar en el termomixer los tubos para una incubación a 40°C por 5 min a 500 rpm.
7. Agitar en el Vortex vigorosamente.
8. Centrifugar a 14,000 rpm durante 5 minutos.
9. Transferir (decantando) el sobrenadante a un tubo nuevo de 2 mL debidamente identificado.
10. Al pellet adicionarle nuevamente 600 μ L de hexano.
11. Agitar en el Vortex.
12. Repetir los pasos del 3 al 12 tres veces más.
13. Colocar los tubos en el equipo SpeedVac para llevar a sequedad. Para el SpeedVac las condiciones son: temperatura 35°C y presión de 2.5 torr de vacío. El tiempo de evaporación es de 1.5 horas.

Para grano completo

1. Reconstituir la muestra con 160 μ L de Metanol y vortexear 3 veces o hasta que la muestra se incorpore a la solución.
2. Si la solución reconstituida presenta sedimentos. Centrifugar a 14,000 rpm durante 3 minutos.
3. Posteriormente llevar las muestras a la *“misma concentración, sin importar el volumen”*. Por ejemplo, para una muestra con una concentración de antocianinas por cromatografía de 658.35 μ g/g, tomar una alícuota de 17 μ L de la solución reconstituida y llevarla a 350 μ L con Metanol.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ANTOCIANINAS GLICOSILADAS POR EL MÉTODO DPPH		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Para olote

1. Reconstituir la muestra con 1.5 mL de Metanol y vortexear 3 veces o hasta que la muestra se incorpore a la solución.
2. Si la solución reconstituida presenta sedimentos. Centrifugar a 14,000 rpm durante 3 minutos.
3. Posteriormente llevar las muestras a la “misma concentración, sin importar el volumen”. Por ejemplo, para una muestra con una concentración de antocianinas por cromatografía de 5,618.54 µg/g, tomar una alícuota de 11 µL de la solución reconstituida y llevarla a 1.5 mL con Metanol.

NOTA:

- Si no pueden ser leídas inmediatamente, conservar las muestras a -20°C por no más de 24 horas.
- El límite de cuantificación de Capacidad Antioxidante de este ensayo está dado por el conocimiento previo de la concentración de antocianinas para cada muestra.

Curva estándar de DPPH

1. En un tubo cónico de 50 mL. Preparar una solución concentrada de 0.1 mM de DPPH. Para esto, se toma una alícuota de 10 mL de DPPH 200 µM y se agregan 10 mL de Metanol para un volumen final de 20 mL. Esta solución se prepara diariamente.
2. En tubos de vidrio de 5 mL, preparar diariamente diluciones de 0.010, 0.020, 0.040, 0.060, 0.080, y 0.100 mM de DPPH y aforar a 2 mL con Metanol. Agitar en el vortex antes de su uso y cubrir con papel aluminio para proteger del contacto con la luz.

No. Tubo	DPPH 0.1 mM	Metanol	Concentración de DPPH	Volumen Final
	(mL)	(mL)	(mM)	(mL)
1	0.200	1.800	0.010	2.000
2	0.400	1.600	0.020	2.000
3	0.800	1.200	0.040	2.000
4	1.200	0.800	0.060	2.000
5	1.600	0.400	0.080	2.000
6	2.000	0.000	0.100	2.000

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ANTOCIANINAS GLICOSILADAS POR EL MÉTODO DPPH		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Curva control de Ácido Ascórbico

1. En un tubo cónico de 50 mL. Preparar una solución concentrada de 0.1 mM de Ácido Ascórbico. Para esto, se toma una alícuota de 2.5 mL de Ácido Ascórbico 1 mM y se afora a 25 mL con Metanol. Esta solución se preparar diariamente.
2. En tubos de vidrio de 5 mL, preparar diariamente diluciones de 0.010, 0.020, 0.040, 0.060, 0.080, y 0.100 mM de DPPH y aforar a 2 mL con Metanol. Agitar en el vortex antes de su uso y cubrir con papel aluminio para proteger del contacto con la luz.

No. Tubo	Ácido Ascórbico 0.1 mM	Metanol	Concentración de Ácido Ascórbico	Volumen Final
	(mL)	(mL)	(mM)	(mL)
1	0.200	1.800	0.010	2.000
2	0.400	1.600	0.020	2.000
3	0.800	1.200	0.040	2.000
4	1.200	0.800	0.060	2.000
5	1.600	0.400	0.080	2.000
6	2.000	0.000	0.100	2.000

Reacción Colorimétrica

Las siguientes actividades deben realizarse en un medio con temperatura controlada y luz amarilla, nunca con luz directa.

1. En la placa los pocillos para los puntos de la curva se llenan con 200 μ L por duplicado de las diferentes concentraciones de la curva estándar de DPPH.
2. Para el control se agregan 150 μ L de Ácido Ascórbico por duplicado de las diferentes concentraciones de la curva del control.
3. En el blanco se agregan 200 μ L de Metanol por duplicado.
4. Después para las muestras se añaden 150 μ L por duplicado.
5. Posteriormente se inicia la reacción mediante la adición de 50 μ L de la solución DPPH 200 μ M a todos los pocillos de las determinaciones experimentales para un volumen final por pocillo de 200 μ L. Y se agita la microplaca en un agitador orbital a 800 rpm durante 10 segundos.
6. Finalmente se mide la absorbancia a $\lambda = 515$ nm. Para esto se utiliza un Espectrómetro de placa (los parámetros de lectura para el equipo son: cinética de 31 ciclos, es decir, lecturas cada minuto durante 30 minutos para grano y durante 60 minutos para olote).

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ANTOCIANINAS GLICOSILADAS POR EL MÉTODO DPPH		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

NOTA: Al final del proceso, las muestras con mayor actividad antioxidante en menor tiempo cambian de color morado a amarillo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	I	I	II	II	III	III	IV	IV	V	V	VI	VI
B	I	I	II	II	III	III	IV	IV	V	V	VI	VI
C	B	B	X1-A	X1-B	X2-A	X2-B	X3-A	X3-B	X4-A	X4-B	X5-A	X5-B
D	X6-A	X6-B	X7-A	X7-B	X8-A	X8-B	X9-A	X9-B	X10-A	X10-B	X11-A	X11-B
E	X12-A	X12-B	X13-A	X13-B	X14-A	X14-B	X15-A	X15-B	X16-A	X16-B	X17-A	X17-B
F	X18-A	X18-B	X19-A	X19-B	X20-A	X20-B	X21-A	X21-B	X22-A	X22-B	X23-A	X23-B
G	X24-A	X24-B	X25-A	X25-B	X26-A	X26-B	X27-A	X27-B	X28-A	X28-B	X29-A	X29-B
H	X30-A	X30-B	X31-A	X31-B	X32-A	X32-B	X33-A	X33-B	X34-A	X34-B	X35-A	X35-B

CURVA/DPPH



0.100 mM
0.080 mM
0.060 mM
0.040 mM
0.020 mM
0.010 mM

CURVA/ác. Asc.



0.100 mM
0.080 mM
0.060 mM
0.040 mM
0.020 mM
0.010 mM

LEYENDA

B Blanco (MeOH)
X = Muestras



Esquema del llenado de microplaca NUNC 96.

Cálculos

La actividad antioxidante se expresa como porcentaje de inhibición lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ DPPH} = (A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}) * 100 / A_{\text{control}}$$

Donde:

A_{control} = Absorbancia del DPPH 0.1 mM (tiempo cero)

A_{muestra} = Absorbancia de cada muestra obtenida después de 30 minutos (para grano) o 60 minutos (para olote) con DPPH 0.2 mM

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE ANTOCIANINAS GLICOSILADAS POR EL MÉTODO DPPH		
Departamento Laboratorio de Calidad de Nutricional de Maíz y Tejido Vegetal		 International Maize and Wheat Improvement Center
Vigencia:	Versión: NUEVO	Sustituye a: Versión 0

Referencias

- Barrón-Yáñez, R. M., García-Mateos, M., Soto-Hernández, M. R., Colinas-León, T., & Kite, G. (2011). Flavonoides y actividad antioxidante de *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. *Revista fitotecnica mexicana*, 34(3), 151–157.
- Chaires-Martinez, L., Perez-Vargas, M. A., Cantor del Angel, A. I., Cruz-Bermudez, F., & Jimenez-Avalos, H. A. (2013). Total phenolic content and antioxidant capacity of germinated, popped, and cooked huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*) seeds. *Cereal Chemistry*, 90(3), 263–268.
- García-Mateos, R., Aguilar-Santelises, L., Soto-Hernández, M., Nieto-Angel, R., & Kite, G. (2012). Compuestos fenólicos totales, flavonoides y actividad antioxidante en las flores de *Crataegus* spp. de México. *Agrociencia*, 46(7), 651–662.
- González-Muñoz, A., Quesille-Villalobos, A. M., Fuentealba, C., Shetty, K., & Gálvez Ranilla, L. (2013). Potential of Chilean Native Corn (*Zea mays* L.) Accessions as Natural Sources of Phenolic Antioxidants and in Vitro Bioactivity for Hyperglycemia and Hypertension Management. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 10995–11007.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202–1205.
- Teow, C. C., Truong, V.-D., McFeeters, R. F., Thompson, R. L., Pecota, K. V., & Yencho, G. C. (2007). Antioxidant activities, phenolic and β -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chemistry*, 103(3), 829–838.
- Urueta-Cuéllar, H., Albores, M., Aguilar, R., & Sánchez de Jiménez, E. (2010). Efecto protector de los polifenoles ante el daño provocado por especies reactivas. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 13(1), 5–15.

ANEXO C. Compendio fotográfico

ÍNDICE DE FOTOGRAFIAS

	Página
PUEBLA	140
Características del maíz azul de Zacapoaxtla, Puebla	141
Fotografía 1. Milpa de maíz azul.....	142
Fotografía 2. Mazorcas de maíz azul.....	143
Fotografía 3. Granos de maíz azul.....	144
Fotografía 4. Perfil de granos de maíz azul.	145
Fotografía 5. Pericarpios de granos de maíz azul.....	146
Fotografía 6. Olotes de maíz azul.....	147
Diversidad de maíces en Zacapoaxtla, Puebla	148
Fotografía 7. Mazorcas de maíz arrocillo blanco de Ixtacapan.	149
Fotografía 8. Almacenamiento de maíz arrocillo amarillo en Ixtacapan.	150
Fotografía 9. Almacenamiento de maíz arrocillo azul en Texocoyohuac.	151
Fotografía 10. Arrocillo morado y rojo de Nexticapan.	152
Fotografía 11. Altar con maíz arrocillo blanco en Ixtacapan.	153
Usos ceremoniales de los maíces pigmentados en Zacapoaxtla, Puebla	154
Fotografía 12. Rosario de mazorcas de colores en Nexticapan.....	155
Fotografía 13. Cocina típica para la elaboración de “atole agrio” en Ixtacapan.	156
Fotografía 14. Elaboración de “atole agrio” en Ixtacapan.....	157
Fotografía 15. Colores del “atole agrio” elaborado con maíz azul.....	158
Comercialización del maíz azul en Zacapoaxtla, Puebla	159
Fotografía 16. Venta de maíz azul en el mercado municipal de Zacapoaxtla.	160
TLAXCALA	161
Características del maíz morado de Ixtenco, Tlaxcala	162
Fotografía 17. Milpa de maíz morado.	163
Fotografía 18. Mazorcas de maíz morado.	164

Fotografía 19. Granos de maíz morado.	165
Fotografía 20. Perfil de granos de maíz morado.	166
Fotografía 21. Pericarpios de granos de maíz morado.	167
Fotografía 22. Olotes de maíz morado.	168
Diversidad de maíces en Ixtenco, Tlaxcala	169
Fotografía 23. Diversidad de colores de maíz de un “productor-artesano” de San Juan Ixtenco.....	170
Fotografía 24. Mazorca de maíz jaspeado o “mishto” en <i>otomí</i> de San Juan Ixtenco.....	171
Fotografía 25. Mazorcas de maíz “tunicado” y granos de maíz morado y rosa en Feria del maíz de San Juan Ixtenco.....	172
Fotografía 26. Granos de la mazorca del maíz “tunicado” o “ajillo” de San Juan Ixtenco	173
Usos ceremoniales de los maíces pigmentados en Ixtenco, Tlaxcala	174
Fotografía 27. Escultura de San Juan Bautista adornada con arco de maíces de colores en la Parroquia de San Juan Ixtenco.....	175
Fotografía 28. Pila bautismal adornada con mural de maíces de colores en forma de arco en la Parroquia de San Juan Ixtenco.....	176
Fotografía 29. Mural de maíces de colores en forma de arco adornando la entrada de la Parroquia de San Juan Bautista.....	177
Fotografía 30. Tapete de maíces de colores adornando la plaza de la Parroquia de San Juan Bautista.	178
Fotografía 31. Carro alegórico de las “Mayordomas” adornado con mazorcas de maíz morado en el “Desfile de feria” de San Juan Ixtenco.	179
Fotografía 32. Casa del mayordomo o “tatumá” en <i>otomí</i> adornada con mural de maíces de colores en forma de arco.	180
Fotografía 33. Elaboración de “atole agrio” en San Juan Ixtenco.....	181
Fotografía 34. Repartición de “atole agrio” y tamales durante los novenarios de la Parroquia de San Juan Bautista.	182
Fotografía 35. Adición de frijoles “ayocotes” al “atole agrio”.....	183
Fotografía 36. Colores del “atole agrio” elaborado con maíz morado.	184

Comercialización de maíces pigmentados en Ixtenco, Tlaxcala	185
Fotografía 37. Venta de plantas aromáticas y mazorcas, grano y “totomoxtle” de maíz morado en el mercado de San Juan Ixtenco.....	186
Fotografía 38. Venta de harina de maíz “cacahuacintle” en el mercado de San Juan Ixtenco.....	187
Fotografía 39. Venta de grano y harina de maíz rosa en tienda “miscelánea” de San Juan Ixtenco.....	188
Fotografía 40. Venta de mazorcas, grano y harina de maíces de colores en la “Fiesta del maíz” de San Juan Ixtenco.....	189
Fotografía 41. Venta de “atole agrio” en la “Fiesta del maíz” de San Juan Ixtenco.	190
Fotografía 42. Templete cultural de la “Fiesta del maíz” adornado con mazorcas de colores.....	191
Fotografía 43. Carro alegórico de la “Reina del maíz” adornado con mazorcas de colores en el “Desfile de feria” de San Juan Ixtenco.	192
Usos artesanales de los maíces pigmentados en Ixtenco, Tlaxcala	193
Fotografía 44. Taller casero de artesanías de maíces de colores en San Juan Ixtenco.....	194
Fotografía 45. Extracción de tinta de “olotes” de maíz morado como pigmento para artesanías.....	195
Fotografía 46. Artesanías de “totomoxtle” y grano de maíces de colores de San Juan Ixtenco.....	196
Fotografía 47. Bisutería con granos de maíces de colores en “Fiesta del maíz” de San Juan Ixtenco.....	197
Fotografía 48. Collares de granos de maíces de colores.....	198
Fotografía 49. Cuadro de la “Virgen de Guadalupe” hecho con granos de maíces de colores.....	199
Fotografía 50. Mural de milpa y mazorcas hecho con granos de maíces de colores adornando las calles de San Juan Ixtenco durante la Feria anual de San Juan Bautista.	200
Fotografía 51. Mural de campesino hecho con granos de maíces de colores adornando la entrada de la Parroquia de San Juan Bautista.	201
Fotografía 52. Mural de “tortillera” hecho con granos de maíces de colores adornando la entrada de la Parroquia de San Juan Bautista.	202

Fotografía 53. Mural de “tortillera” hecho con granos de maíces de colores adornando las calles de San Juan Ixtenco durante la Feria anual de San Juan Bautista.	203
Fotografía 54. Mural de flores hecho con granos de maíces de colores adornando la pila bautismal en la Parroquia de San Juan Bautista.....	204
Fotografía 55. Mural de flores hecho con granos de maíces de colores adornando el templete de la Feria de San Juan Bautista.	205
Fotografía 56. Mural de grecas y flores hecho con granos de maíces de colores adornando la entrada de la Parroquia de San Juan Bautista.	206

PUEBLA

Características del maíz azul de Zacapoaxtla, Puebla



Fotografía 1. Milpa de maíz azul.



Fotografía 2. Mazorcas de maíz azul.



Fotografía 3. Granos de maíz azul.



Fotografía 4. Perfil de granos de maíz azul.



Fotografía 5. Pericarpios de granos de maíz azul.



Fotografía 6. Olotes de maíz azul.

Diversidad de maíces en Zacapoxtla, Puebla



Fotografía 7. Mazorcas de maíz arrocillo blanco de Ixtacapan.



© Daniel Díaz Mora

Fotografía 8. Almacenamiento de maíz arrocillo amarillo en Ixtacapan.



Fotografía 9. Almacenamiento de maíz arrocillo azul en Texocoyahuac.



Fotografía 10. Arrocillo morado y rojo de Nexticapan.



Fotografía 11. Altar con maíz arrocillo blanco en Ixtacapan.

Usos ceremoniales de los maíces pigmentados en Zacapoaxtla, Puebla



Fotografía 12. Rosario de mazorcas de colores en Nexticapan.



© Daniel Díaz Mora

Fotografía 13. Cocina típica para la elaboración de “atole agrio” en Ixtacapan.



Fotografía 14. Elaboración de “atole agrio” en Ixtacapan.



© Daniel Díaz Mora

Fotografía 15. Colores del “atole agrio” elaborado con maíz azul.

Comercialización del maíz azul en Zacapoaxtla, Puebla



Fotografía 16. Venta de maíz azul en el mercado municipal de Zacapoaxtla.

TLAXCALA

Características del maíz morado de Ixtenco, Tlaxcala



Fotografía 17. Milpa de maíz morado.



Fotografía 18. Mazorcas de maíz morado.



Fotografía 19. Granos de maíz morado.



Fotografía 20. Perfil de granos de maíz morado.



Fotografía 21. Pericarpios de granos de maíz morado.



Fotografía 22. Olotes de maíz morado.

Diversidad de maíces en Ixtenco, Tlaxcala



© *Daniel Díaz Mora*

Fotografía 23. Diversidad de colores de maíz de un “productor-artesano” de San Juan Ixtenco.



© *Daniel Díaz Mora*

Fotografía 24. Mazorca de maíz jaspeado o “mishto” en *otomí* de San Juan Ixtenco.



Fotografía 25. Mazorcas de maíz “tunicado” y granos de maíz morado y rosa en Feria del maíz de San Juan Ixtenco.



© Daniel Díaz Mora

Fotografía 26. Granos de la mazorca del maíz “tunicado” o “ajillo” de San Juan Ixtenco

Usos ceremoniales de los maíces pigmentados en Ixtenco, Tlaxcala



Fotografía 27. Escultura de San Juan Bautista adornada con arco de maíces de colores en la Parroquia de San Juan Ixtenco.



Fotografía 28. Pila bautismal adornada con mural de maíces de colores en forma de arco en la Parroquia de San Juan Ixtenco.



Fotografía 29. Mural de maíces de colores en forma de arco adornando la entrada de la Parroquia de San Juan Bautista.



Fotografía 30. Tapete de maíces de colores adornando la plaza de la Parroquia de San Juan Bautista.



Fotografía 31. Carro alegórico de las “Mayordomas” adornado con mazorcas de maíz morado en el “Desfile de feria” de San Juan Ixtenco.



Fotografía 32. Casa del mayordomo o “tatura” en otomí adornada con mural de maíces de colores en forma de arco.



Fotografía 33. Elaboración de “atole agrio” en San Juan Ixtenco.



Fotografía 34. Repartición de “atole agrio” y tamales durante los novenarios de la Parroquia de San Juan Bautista.



Fotografía 35. Adición de frijoles “ayocotes” al “atole agrio”.



Fotografía 36. Colores del “atole agrio” elaborado con maíz morado.

Comercialización de maíces pigmentados en Ixtenco, Tlaxcala



Fotografía 37. Venta de plantas aromáticas y mazorcas, grano y “totomoxtle” de maíz morado en el mercado de San Juan Ixtenco.



Fotografía 38. Venta de harina de maíz “cacahuacintle” en el mercado de San Juan Ixtenco.



Fotografía 39. Venta de grano y harina de maíz rosa en tienda “miscelánea” de San Juan Ixtenco.



Fotografía 40. Venta de mazorcas, grano y harina de maíces de colores en la “Fiesta del maíz” de San Juan Ixtenco.



Fotografía 41. Venta de “atole agrio” en la “Fiesta del maíz” de San Juan Ixtenco.



Fotografía 42. Templete cultural de la “Fiesta del maíz” adornado con mazorcas de colores.



© Daniel Díaz Mora

Fotografía 43. Carro alegórico de la “Reina del maíz” adornado con mazorcas de colores en el “Desfile de feria” de San Juan Ixtenco.

Usos artesanales de los maíces pigmentados en Ixtenco, Tlaxcala



Fotografía 44. Taller casero de artesanías de maíces de colores en San Juan Ixtenco.



Fotografía 45. Extracción de tinta de “olotes” de maíz morado como pigmento para artesanías.



Fotografía 46. Artesanías de “totomoxtle” y grano de maíces de colores de San Juan Ixtenco.



Fotografía 47. Bisutería con granos de maíces de colores en “Fiesta del maíz” de San Juan Ixtenco.



Fotografía 48. Collares de granos de maíces de colores.



© Daniel Díaz Mora

Fotografía 49. Cuadro de la “Virgen de Guadalupe” hecho con granos de maíces de colores.



Fotografía 50. Mural de milpa y mazorcas hecho con granos de maíces de colores adornando las calles de San Juan Ixtenco durante la Feria anual de San Juan Bautista.



© Daniel Díaz Mora

Fotografía 51. Mural de campesino hecho con granos de maíces de colores adornando la entrada de la Parroquia de San Juan Bautista.



Fotografía 52. Mural de “tortillera” hecho con granos de maíces de colores adornando la entrada de la Parroquia de San Juan Bautista.



Fotografía 53. Mural de “tortillera” hecho con granos de maíces de colores adornando las calles de San Juan Ixtenco durante la Feria anual de San Juan Bautista.



Fotografía 54. Mural de flores hecho con granos de maíces de colores adornando la pila bautismal en la Parroquia de San Juan Bautista.



Fotografía 55. Mural de flores hecho con granos de maíces de colores adornando el templo de la Feria de San Juan Bautista.



Fotografía 56. Mural de grecas y flores hecho con granos de maíces de colores adornando la entrada de la Parroquia de San Juan Bautista.