



**Centro de Investigación en  
Alimentación y Desarrollo, A.C.**

**CUANTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE  
COMPUESTOS FENÓLICOS EN LA PLANTA DE MAÍZ  
(*Zea mays* L.)**

**Por:**

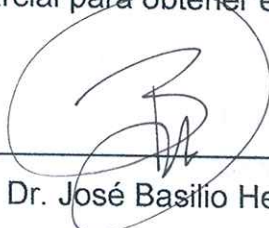
Gabriela Vazquez Olivo

TESIS APROBADA POR LA  
COORDINACIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS  
AGRÍCOLAS DE ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

Como requisito parcial para obtener el grado de  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Gabriela Vazquez Olivo, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.

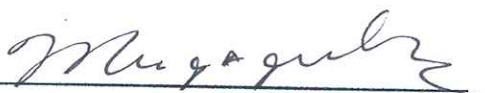


---

Dr. José Basilio Heredia  
Director de Tesis

---

Dr. Alfí Asaff Torres  
Asesor



---

Dr. Miguel Ángel Angulo Escalante  
Asesor



---

Dr. Tomás Osuna Enciso  
Asesor



---

M. C. Laura A. Contreras Angulo  
Asesor

## **DECLARACIÓN INSTITUCIONAL**

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.

---

Dr. Pablo Wong González

Director General

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por hacer posible la culminación de mis estudios gracias al apoyo económico proporcionado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., por abrirme las puertas y ser parte de mi formación académica.

Al Dr. J. Basilio Heredia, por su confianza al haberme aceptado como su estudiante, por su valiosa dirección, e interés por que este proyecto saliera adelante.

A mis asesores de tesis, Dr. Miguel Ángel Angulo, Dr. Tomás Osuna Enciso, Dr. Alí Asaff Torres, M.C. Laura Contreras Angulo, por su tiempo y apoyo en el curso del proyecto.

A la M.C. Laura Aracely Contreras Angulo, gracias por su asesoría, paciencia y conocimientos que contribuyeron en este trabajo de tesis.

A la M.C. Edith Salazar Villa y al Laboratorio de Biorecursos, por el apoyo técnico brindado.

Al cuerpo académico docente de CIAD, por sus críticas constructivas y enseñanzas.

A todo el equipo del Laboratorio de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos, especialmente a Erick, Nayely y Dulce, por su ejemplo de dedicación y

constancia, sus palabras de motivación, por transmitirme su pasión por la ciencia, y por siempre estar disponibles para escucharme y brindarme su apoyo, son el mejor equipo.

Al M.C. Alexis Emus Medina por el apoyo técnico, por tu tiempo y asesorías.

A la Dra. Leticia Xochitl López Martínez, por su apoyo y disponibilidad en todo momento para escucharme y orientarme.

A mis compañeros de generación y amigos, Jaime, Grecia, Wendy, Nancy, Flor, Suhail y María, por los momentos de alegría y de estrés que vivimos, fue un honor compartir este camino con ustedes.

A Antonio, por desvelarte conmigo, por tus consejos y paciencia, y por tener siempre las palabras perfectas para mí, gracias.

A mi familia, la mejor familia que hubiera podido tener, por estar siempre presente, y creer en mí, son parte importante en mi vida, los amo.

## **DEDICATORIA**

A mi madre, por tu constante preocupación por hacer de mí una mejor persona y por estar siempre a mi lado, te amo.

## CONTENIDO

	Página
LISTA DE FIGURAS .....	x
LISTA DE CUADROS .....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT .....	xvi
INTRODUCCIÓN.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	2
OBJETIVOS .....	3
Objetivo General.....	3
Objetivos Específicos .....	3
JUSTIFICACIÓN .....	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
<b>Maíz (<i>Zea mays</i> L.)</b> .....	<b>5</b>
Características de la Planta de Maíz .....	5
Producción de Maíz .....	6
Composición Química de la Planta de Maíz .....	8
<b>Compuestos Fenólicos: Estructura y Clasificación</b> .....	<b>11</b>
Ácidos Fenólicos .....	12
Capacidad Antioxidante .....	13

## CONTENIDO (continuación)

	Página
Compuestos Fenólicos en la Planta de Maíz.....	15
Variación en el Perfil Fenólico.....	17
Beneficios Obtenidos por el Consumo de Maíz.....	17
<b>Lignina.....</b>	<b>18</b>
Formación y Estructura.....	19
Tipos de lignina.....	23
<b>PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>25</b>
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>26</b>
<b>PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>27</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
<b>Material Vegetal.....</b>	<b>28</b>
<b>Caracterización de Antioxidantes en los Extractos.....</b>	<b>28</b>
Extracción de Fenólicos Libres.....	28
Extracción de Fenólicos Ligados.....	29
Cuantificación de Compuestos Fenólicos Totales.....	29
Capacidad del Secuestro del Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).....	30
Capacidad de Absorción de Radicales Oxígeno (ORAC).....	30
<b>Identificación y Cuantificación de Ácidos Fenólicos por UPLC-PDA.....</b>	<b>31</b>
<b>Análisis de Lignina.....</b>	<b>32</b>
Preparación de la Muestra.....	32
Determinación de Lignina.....	32
Determinación de Lignina Ácido-Soluble.....	33



## CONTENIDO (continuación)

	Página
<b>Análisis Estadístico.....</b>	<b>33</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>35</b>
<b>Contenido Fenólico Total.....</b>	<b>35</b>
<b>Capacidad Antioxidante.....</b>	<b>37</b>
<b>Caracterización del Contenido Fenólico por UPLC- PDA .....</b>	<b>41</b>
Estándares .....	41
Identificación y Cuantificación de Ácidos Fenólicos por UPLC- PDA.....	42
<b>Determinación del Contenido de Lignina .....</b>	<b>44</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>49</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>50</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>51</b>
<b>ANEXO 1 .....</b>	<b>59</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Principales estados productores de maíz en México en 2014 (millones de toneladas). .....	7
Figura 2. Estructura del grano de maíz y composición química de sus partes estructurales. ....	10
Figura 3. Estructura química de los ácidos hidroxicinámicos.....	13
Figura 4. Estructura química de los ácidos hidroxibenzoicos. ....	13
Figura 5. Estructura química de los monolignoles de la lignina, alcohol <i>p</i> -cumarílico (I) alcohol coniferílico (II) y alcohol sinapílico (III). ....	20
Figura 6. Ejemplo de la polimerización del alcohol coniferílico en la lignina. ....	21
Figura 7. Estructura general de la lignina. ....	22
Figura 8. Cromatograma de la mezcla de estándares de ácidos fenólicos. Absorbancia medida a una longitud de onda de 271 nm. ....	41
Figura 9. Cromatograma de UPLC-PDA (detección a 320 nm) de ácidos fenólicos detectados en extracto ligado de raíz de la planta de maíz. ....	59
Figura 10. Cromatograma de UPLC-PDA (detección a 320 nm) de ácidos fenólicos detectados en extracto ligado de hoja de mazorca de la planta de maíz. ....	59
Figura 11. Cromatograma de UPLC-PDA (detección a 320 nm) de ácidos fenólicos detectados en extracto ligado de hoja verdadera de maíz.....	60
Figura 12. Cromatograma de UPLC-PDA (detección a 320 nm) de ácidos fenólicos detectados en extracto ligado de olote de la planta de maíz. ....	60
Figura 13. Cromatograma de UPLC-PDA (detección a 320 nm) de ácidos fenólicos detectados en extracto ligado de tallo de la planta de maíz. ....	61

Figura 14. Cromatograma de UPLC-PDA (detección a 320 nm) de ácidos fenólicos detectados en extracto ligado de grano de la planta de maíz.....	61
Figura 15. Espectro de absorción del estándar de ácido <i>p</i> -cumárico obtenido mediante UPLC-PDA.....	62
Figura 16. Espectro de absorción del estándar de ácido ferúlico obtenido mediante UPLC-PDA.....	62
Figura 17. Espectro de absorción de ácido <i>p</i> -cumárico de raíz obtenido mediante UPLC-PDA.....	63
Figura 18. Espectro de absorción de ácido ferúlico de raíz obtenido mediante UPLC-PDA.....	63
Figura 19. Espectro de absorción de ácido <i>p</i> -cumárico de hoja de mazorca obtenido mediante UPLC-PDA. ....	64
Figura 20. Espectro de absorción de ácido ferúlico de hoja de mazorca obtenido mediante UPLC-PDA.....	64
Figura 21. Espectro de absorción de ácido <i>p</i> -cumárico de hoja verdadera obtenido mediante UPLC-PDA. ....	65
Figura 22. Espectro de absorción de ácido ferúlico de hoja verdadera obtenido mediante UPLC-PDA.....	65
Figura 23. Espectro de absorción de ácido <i>p</i> -cumárico de olote obtenido mediante UPLC-PDA.....	66
Figura 24. Espectro de absorción de ácido ferúlico de olote obtenido mediante UPLC-PDA.....	66
Figura 25. Espectro de absorción de ácido <i>p</i> -cumárico de tallo obtenido mediante UPLC-PDA.....	67
Figura 26. Espectro de absorción de ácido ferúlico de tallo obtenido mediante UPLC-PDA.....	67
Figura 27. Espectro de absorción de ácido <i>p</i> -cumárico de grano obtenido mediante UPLC-PDA.....	68

Figura 28. Espectro de absorción de ácido ferúlico de grano obtenido mediante UPLC-PDA..... 68

## LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
Cuadro 1. Clasificación taxonómica del maíz. ....	5
Cuadro 2. Producción municipal de maíz en Sinaloa en 2014.....	7
Cuadro 3. Composición química de la planta de maíz (% peso seco). ....	8
Cuadro 4. Proporción de los monolignoles de la lignina en plantas herbáceas.	20
Cuadro 5. Características de los principales tipos de lignina clasificadas por método de aislamiento. ....	23
Cuadro 6. Contenido de fenoles totales (libres y ligados) en diferentes partes de la planta de maíz.....	36
Cuadro 7. Capacidad antioxidante ORAC ( $\mu\text{mol ET}\cdot\text{g}^{-1}$ ) y DPPH ( $\text{mmol ET}\cdot\text{g}^{-1}$ ) en órganos de la planta de maíz.....	38
Cuadro 8. Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en diferentes residuos de cosecha de cereales. ....	39
Cuadro 9. Concentración de ácidos fenólicos ligados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ p.s.) en órganos de la planta de maíz.....	42
Cuadro 10. Contenido de lignina Klason (%), lignina ácido-soluble (%) y lignina total (%) en órganos de la planta de maíz. ....	45
Cuadro 11. Fenoles totales ( $\text{mg EAG}\cdot\text{100 g}^{-1}$ ) y capacidad antioxidante ORAC ( $\text{mg EAG}\cdot\text{100 g}^{-1}$ ) y DPPH ( $\text{mmol ET}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de lignina de órganos de la planta de maíz. ....	47
Cuadro 12. Fenoles totales ( $\text{mg EAG}\cdot\text{100 g}^{-1}$ PS) de extractos con fenoles libres y ligados y lignina total (%) de órganos de la planta de maíz. ....	48

## RESUMEN

El maíz es un cultivo de importancia económica a nivel mundial, ya sea como alimento humano, alimento para el ganado o como fuente de productos industriales. Así mismo, la parte que más se utiliza de la planta de maíz es el grano y se ha caracterizado por poseer propiedades antioxidantes. La capacidad antioxidante está relacionada con el contenido de compuestos fenólicos, el cual es ubicuo en toda la planta. En México se generan alrededor de 25,500,000 toneladas al año de residuos derivados de las actividades agropecuarias y agroindustriales del maíz. Estos residuos se han utilizado principalmente para la alimentación de rumiantes, sin embargo, una gran parte de esta biomasa se quema, generando un impacto en el medio ambiente, por lo que existe la necesidad de aprovechar y brindar valor agregado a los residuos generados a partir de la biomasa de maíz en la región.

En este trabajo se evaluaron extractos que contenían fenólicos libres y ligados obtenidos a partir de órganos de la planta de maíz (raíz, tallo, hoja verdadera, hoja de mazorca, olote y grano). Se cuantificó el contenido de compuestos fenólicos total (219.67 – 1420.94 mg EAG·100g<sup>-1</sup>), la capacidad antioxidante mediante la inhibición del radical DPPH (1.11 – 11.75 mmol ET·g<sup>-1</sup>) y la Capacidad de Absorción de Radicales Oxígeno (ORAC) (15.43 – 591.41 μmol ET·g<sup>-1</sup>). Además, se identificaron los ácidos fenólicos presentes (ácido *p*-cumárico y ácido ferúlico) en el material de estudio. El contenido de lignina total (4.88 – 32.12%) y su contenido fenólico (3.4 – 16.90 mg EAG·100 g<sup>-1</sup>), así como la capacidad antioxidante mediante la inhibición del radical DPPH (1.80 – 2.55 mmol ET·g<sup>-1</sup>) y ORAC (0.80 – 3.90 μmol ET·g<sup>-1</sup>) de los órganos de la planta de maíz, también fue evaluada.

Se estableció que los residuos de la planta de maíz contienen compuestos fenólicos en diferentes proporciones, los cuales son desaprovechados, por lo que esta biomasa puede ser una fuente potencial para la extracción de compuestos fenólicos.

Palabras clave: *ácidos fenólicos, capacidad antioxidante, residuos de maíz, fenoles ligados.*

## ABSTRACT

Corn is a crop of economic importance worldwide, either as human food, livestock feed or as a source of industrial products. Likewise, the most used part of the corn plant is the grain and it has been characterized by having antioxidant properties. The antioxidant capacity is related to the phenolic content which is ubiquitous throughout the plant. In Mexico around 25,500,000 tons per year of waste from corn agricultural and agro-industrial activities are generated. These residues are mainly used for feeding ruminants, however, much of this biomass is burned, generating an impact on the environment, so there is the need to build and provide added value to the waste generated from corn biomass in the region.

In this research, extracts containing free phenolic and related organs obtained from corn plant (root, stem, true leaf, cob, cob and grain) were assessed. Total content of phenolic compounds was quantified (219.67 - 1420.94 mg EAG 100g<sup>-1</sup>), the antioxidant capacity by the DPPH radical scavenging activity (1.11 - 11.75 mmol ET g<sup>-1</sup>) and Absorbance Capacity Radical Oxygen (ORAC) (15.43 - 591.41 μmol ET g<sup>-1</sup>). Furthermore, phenolic acids (*p*-coumaric and ferulic acid) were identified in the study material. The content of total lignin (4.88 - 32.12%) and its phenolic content (3.4 - 16.90 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>), as well as the antioxidant capacity by the DPPH radical scavenging activity (1.80 - 2.55 mmol ET g<sup>-1</sup>) and ORAC (0.80 - 3.90 μmol ET g<sup>-1</sup>) of the organs of the maize plant, was evaluated. It was established that the residues of the maize plant possessed phenolic compounds in different proportions, which are underused, for this reason; maize plant may be a potential source of phenolic compounds.



Key words: *phenolic acids, antioxidant capacity, maize residues, bound phenolic.*

## INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos han atraído un creciente interés de numerosas investigaciones debido a su potencial antioxidante (Masisi et al., 2016). En las últimas décadas, las investigaciones se han enfocado en la caracterización estructural de los componentes fenólicos individuales en diferentes órganos vegetales, escogiendo aquellas especies que son económicamente importantes, como los cereales, los cuales contienen una diversidad de compuestos fenólicos, presentes en forma soluble, soluble conjugados e insoluble ligados. Los insolubles ligados se asocian a la pared celular y esta localización externa se relaciona con su principal función que es la de proteger a la planta contra el estrés ambiental y el ataque de patógenos (Lattanzio et al., 2006). Los fenólicos predominantes en cereales son fenoles simples, ácidos fenólicos, flavonoides, lignanos, antocianinas condensadas, estilbenos, y ligninas. Los ácidos fenólicos llegan a formar parte del entrecruzamiento de la pared celular cuando llega la madurez de la planta y forma parte de los monolignoles de la lignina, un polímero aromático. La lignina se deposita en la pared celular secundaria cuando el crecimiento de la planta ha cesado. Se ha relacionado que un alto contenido de lignina incrementa la liberación de compuestos fenólicos (Schroyen et al., 2015). Por otro lado, se ha reportado la identificación y cuantificación de compuestos fenólicos en cereales siendo los ácidos fenólicos los predominantes en maíz. Sin embargo, para evaluar el potencial uso de la biomasa de maíz como fuente de fenólicos, es necesario realizar una cuantificación total de los mismos en cada órgano de la planta.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La planta de maíz tiene importancia económica a nivel mundial, ya sea como alimento humano, alimento para el ganado o como fuente de productos industriales, así mismo, la parte que más se utiliza de la planta es el grano y se ha caracterizado por poseer propiedades antioxidantes. La capacidad antioxidante está relacionada con el contenido de compuestos fenólicos, el cual es ubicuo en toda la planta. En México se generan alrededor de 25, 500,000 toneladas al año de residuos derivados de las actividades agropecuarias y agroindustriales del maíz y se han utilizado principalmente para la alimentación de rumiantes y la obtención de biocombustibles, sin embargo, también, los residuos se han considerado como desecho y se ha optado por la práctica de la quema de los mismos, generando un impacto medioambiental. Los residuos de maíz presentan un uso potencial para la extracción de compuestos fenólicos los cuales son de interés en la industria alimentaria y farmacéutica, lo que le proporcionaría un valor agregado a estos. Existe la necesidad de aprovechar y brindar valor agregado a los residuos agropecuarios generados en la región, por lo que el estudio del contenido fenólico y la capacidad antioxidante de compuestos fenólicos que sean obtenidos de los residuos derivados del cultivo de maíz resulta de importancia.

## **OBJETIVOS**

### Objetivo General

Identificar los compuestos fenólicos y medir la capacidad antioxidante en raíz, tallo, hoja de mazorca, hoja verdadera, grano y olote de la planta de maíz.

### Objetivos Específicos

- Cuantificar el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante presente en extractos que contienen fenólicos libres y ligados de órganos de la planta de maíz.
- Identificar y cuantificar los ácidos fenólicos presente en extractos que contienen fenólicos libres y ligados de órganos de la planta de maíz.
- Extraer y cuantificar el contenido de lignina y capacidad antioxidante de órganos de la planta de maíz.
- Evaluar la relación del contenido de lignina con el contenido fenólico ligado.

## **JUSTIFICACIÓN**

Los compuestos fenólicos son un grupo de metabolitos secundarios vegetales, los cuales varían en estructuras y funciones. Dentro de estos se encuentran los ácidos fenólicos, que han sido encontrados en cereales y se han estudiado por poseer actividad antioxidante, por lo que su extracción y estudio se ha vuelto un tema de interés científico y comercial. Actualmente, se ha investigado la extracción de compuestos fenólicos a partir de fuentes de bajo costo como los residuos agroindustriales, cuyo aprovechamiento tiene un impacto ambiental, con la reducción de la generación de estos residuos. A nivel nacional, se generan 25.1 millones de toneladas de residuos derivados del cultivo de maíz cada año, y estos residuos pueden ser revalorizados al extraer compuestos fenólicos de interés en la industria farmacéutica y de alimentos. Por tal motivo, se evaluó la planta del maíz como fuente de extracción de compuestos fenólicos y se determinó la distribución y estructuras específicas de ácidos fenólicos en seis órganos de la planta y la capacidad antioxidante.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Maíz (*Zea mays* L.)

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta herbácea anual de la familia de las poaceas o gramíneas. Es de gran importancia económica a nivel mundial, ya sea como alimento humano, alimento para el ganado o como fuente de productos industriales (Paliwal et al., 2001).

#### Características de la Planta de Maíz

La planta de maíz es una especie monoica, su taxonomía se muestra en el Cuadro 1, es de tallo largo, macizo y de raíz fibrosa; se compone de flores masculinas y femeninas, donde la inflorescencia femenina o mazorca crece a partir de las yemas axilares de algunas hojas y contiene el olote y el grano. La inflorescencia masculina o panícula se desarrolla en el punto de crecimiento apical de la planta. La panícula tiene una espiga central prominente y varias ramificaciones laterales con flores masculinas, todas producen abundantes granos de polen (Kumar et al., 2013).

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

Taxonomía	
Reino	Plantae
División	Traqueófitas

Clase	Magnoliopsida
Superorden	Lilianae
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Género	Zea
Especie	<i>Zea mays</i>

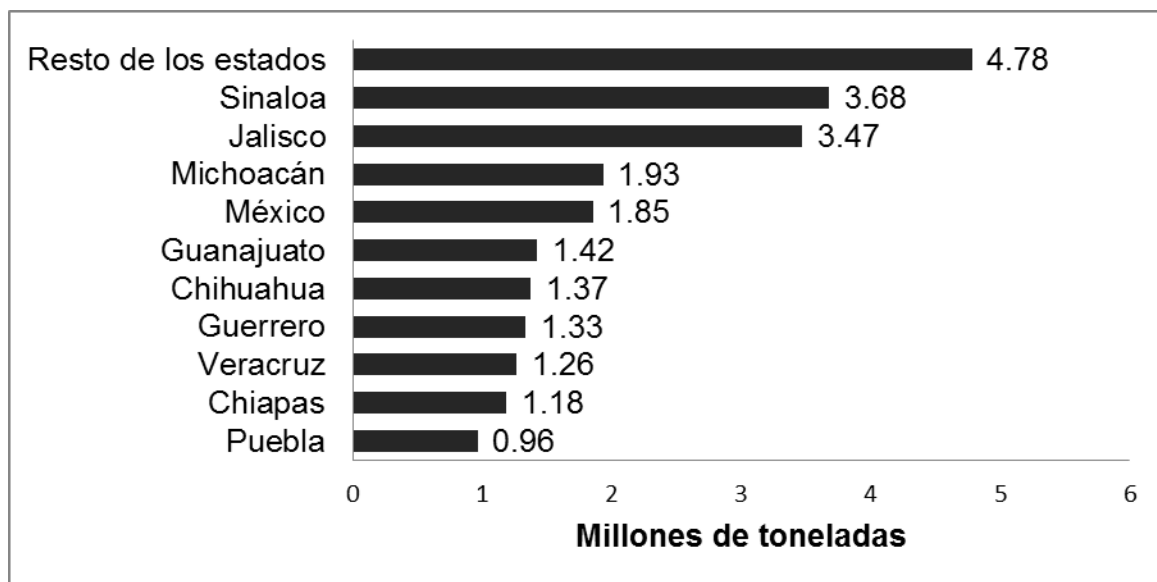
Fuente: Integrated Taxonomic Information System (2016)

### **Producción de Maíz**

El maíz es un cereal económicamente importante a nivel mundial. Los principales usos incluyen la alimentación humana ya sea doméstica o industrial; alimento para animales y fermentado para varios productos industriales (Paliwal et al., 2001). Para su desarrollo requiere de temperaturas cálidas entre 25-30 °C; sin embargo, es un cultivo que se puede adaptar hasta 8 °C, asimismo, se puede cultivar en casi todos los tipos de suelo, en especial los ligeramente ácidos, profundos y ricos en materia orgánica con buen drenaje, requiere un suministro alto de agua (aproximadamente 5 mm de lluvia o riego diarios) y muchas horas de sol (SIAP-SAGARPA, 2014).

A nivel mundial, el maíz es el principal grano de cereal cultivado, seguido del arroz, el trigo y la cebada. En 2014, México se posicionó en el séptimo lugar del mundo después de Estados Unidos, China, Brasil, Argentina , Ucrania e India (FAO, 2014).

El cultivo de maíz en México participa con el 18% del valor de producción del sector agrícola, habiendo generado 78 mil mdp en 2013. El maíz se cultiva prácticamente en toda la República Mexicana; en la Figura 1 se muestran los volúmenes de producción por Estados durante el año agrícola de 2014.



**Figura 1.** Principales estados productores de maíz en México en 2014 (millones de toneladas).

Fuente: (FIRA, 2015)

En ese mismo año, Sinaloa destacó como el principal productor de maíz, aportando el 15.8% a la producción nacional equivalente a un volumen de 3.7 millones de toneladas, seguido por Jalisco con 14.9% y un volumen de producción de 3.5 millones de toneladas y en tercer lugar, Michoacán con el 8.3% con un volumen de producción de 1.9 millones de toneladas (FIRA, 2015). El maíz se cultiva en 2,342 municipios de todos los estados de la República Mexicana, dentro de los cuales, Sinaloa destaca con los cuatro principales; Guasave, Ahome, Culiacán y Navolato (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Producción municipal de maíz en Sinaloa en 2014.

Municipio	Superficie cosechada (Hectáreas)	Producción (Toneladas)	Rendimiento (Ton/Ha)	Participación estatal (%)
Guasave	78,681.80	849,300.90	10.80	3.60
Ahome	67,677.00	767,332.50	11.30	3.30
Culiacán	73,305.00	673,225.80	9.20	2.90



Navolato	58,821.00	605,583.70	10.30	2.60
Sinaloa	22,676.00	205,227.10	9.10	0.90
Eloa	20,338.00	168,033.80	8.30	0.70
Angostura	13,004.00	132,333.00	10.20	0.60

Fuente: FIRA (2015)

### Composición Química de la Planta de Maíz

El cultivo de maíz produce una cantidad importante de biomasa, de la cual sólo se aprovecha el 30% en forma de grano. En la planta de maíz, el tallo se encuentra en una proporción en peso seco de hasta un 48%, las hojas de la planta con 7%, el olote con 8% y la hoja de mazorca con 6%, lo que representa un recurso renovable que se puede aprovechar para diferentes usos (Chundawat et al., 2007).

Cada uno de los órganos de la planta de maíz tiene un valor nutritivo diferente. La composición química de los principales órganos de la planta de maíz ha sido determinada por diferentes autores (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Composición química de la planta de maíz (% peso seco).

<b>Matriz</b>	<b>Hemicelulosa (%PS)</b>	<b>Celulosa (% PS)</b>	<b>Lignina (% PS)</b>	<b>Cenizas (%)</b>	<b>Proteína</b>	<b>Autores</b>
Tallo	28.41	46.54	20.42	4.62	NR	Wang y Chen (2016)
Hojas	22	32	16	NR	4	Lee (2007)
Hoja de mazorca	37.5	35.3	7.9	5	NR	Mendes et al. (2015)
Olote	34.7	31.7	20.3	NR	NR	Rivas et

Fibra de maíz	67.5	22.5	1.0	NR	NR	al. (2002) Saulnier et al. (1995)
Raíz	37.6	38.5	17.6	<1	NR	Machinet et al. (2011)

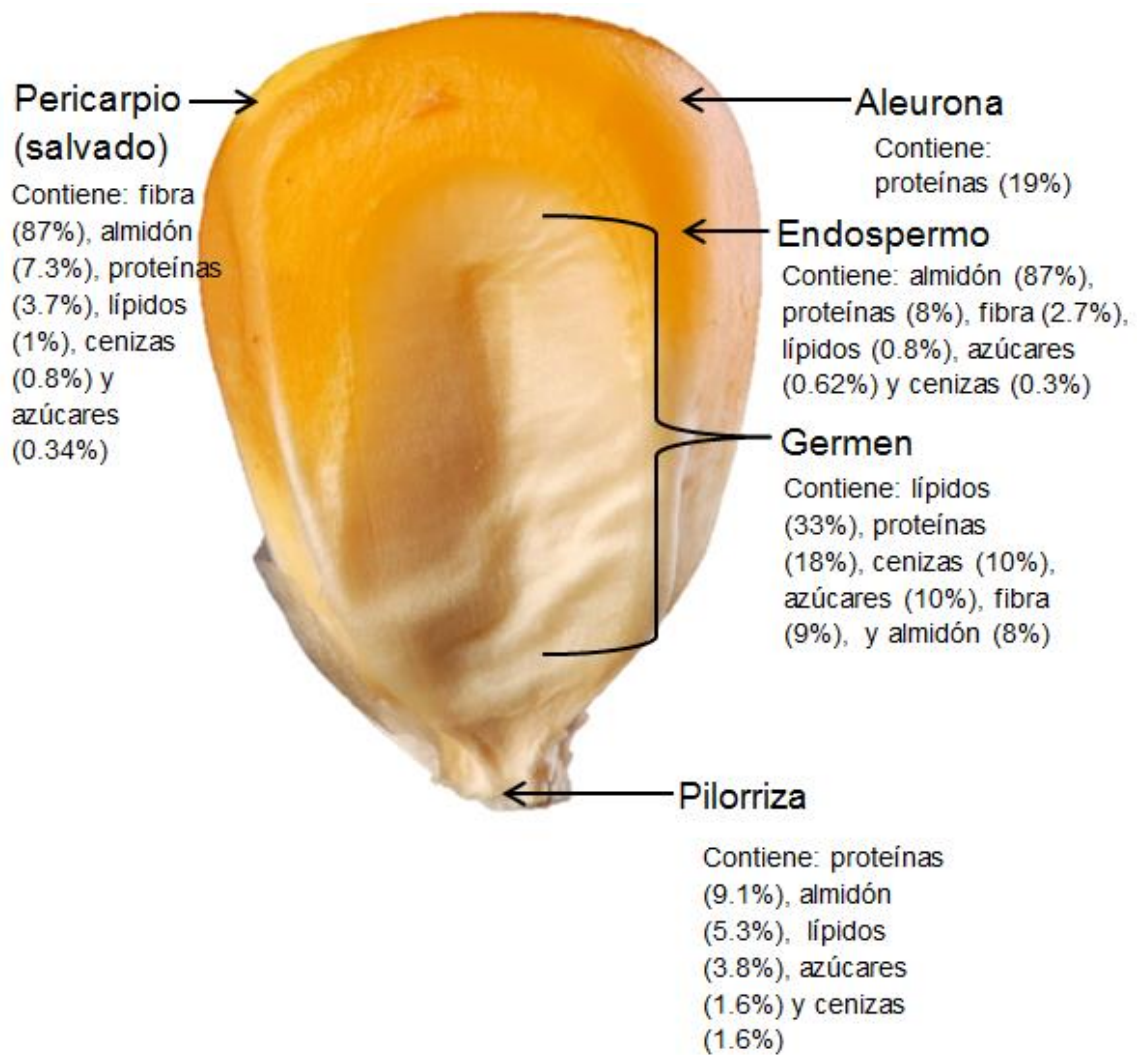
---

NR= No reportado. PS = Peso seco

El grano de maíz es un cereal importante en la dieta humana, el grano se desarrolla en la mazorca, en un número de hileras que van desde 12 a 16, produciendo de 300 a 1000 granos, mientras que en otros cereales como el trigo solo producen de 50 a 100 granos (FAO, 1993), la semilla de maíz se compone fundamentalmente de endospermo (82-83%), germen (10-11%), pericarpio (5-6%) y piloriza (0.8-1.0 %) (Britannica, 2015).

Entre las principales partes del grano de maíz existe una diferencia considerable en cuanto a su composición química (Figura 2). El pericarpio (cáscara o salvado) es la capa externa que encierra la semilla, se compone estructuralmente de epicarpio, mesocarpio y endocarpio, y se caracteriza por su alto contenido en fibra, principalmente compuesto por hemicelulosa, celulosa y lignina (Singh et al., 2014). La principal función del pericarpio en el cereal ya maduro, es la de proteger al grano contra el ataque de microorganismos e insectos, impedir la pérdida de humedad y conducir y distribuir el agua y otros nutrientes durante la germinación. El endospermo se compone principalmente por almidón y proteínas, con un bajo contenido de lípidos. Este es de dos tipos: vítreo y harinoso. El endospermo harinoso rodea al germen y es opaco, contiene bolsas de aire que rodean los gránulos de almidón y la matriz proteica es delgada mientras que en el vítreo la matriz proteica es más gruesa. El endospermo se encuentra cubierto por una capa de células llamadas aleuronas; las células aleuronales contienen proteínas y minerales. El endospermo tiene como función almacenar las reservas alimenticias de las semillas durante su

desarrollo (Mondragón, 2004). Por otro lado, el germen se caracteriza por su gran contenido de grasas y proteínas, estructuralmente, se compone del axis embrionario y el escutelum y su función es la de almacenar nutrientes y hormonas que son movilizadas por enzimas durante la germinación (FAO, 1992). También posee otras estructuras en proporción menor como el pilorriza que se encuentra en un 0.8% en proporción del peso total del grano, mediante esta estructura celular el grano se une al olote (Watson y Ramstad, 1987).



**Figura 2.** Estructura del grano de maíz y composición química de sus partes estructurales.

Fuente: Elaboración propia con información de Britannica (2015); Watson y Ramstad (1987).

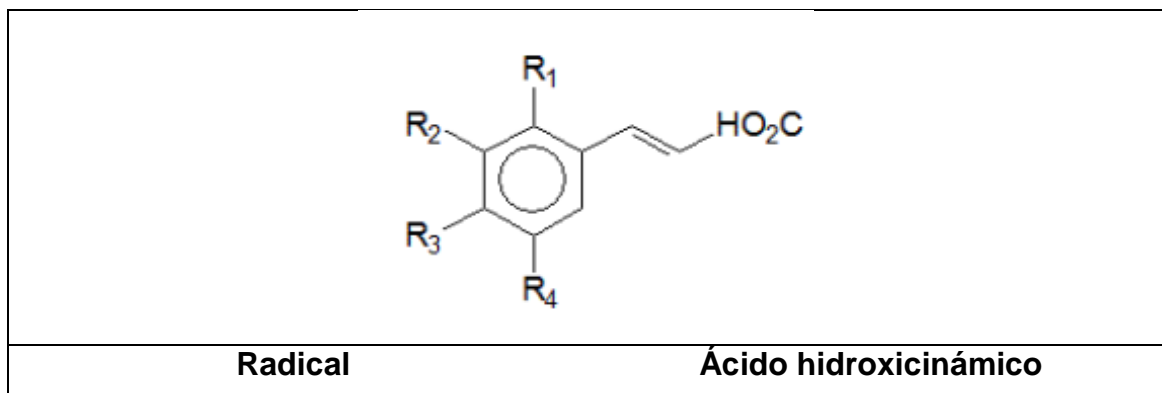
Además de los componentes químicos mencionados, la planta de maíz contiene compuestos bioactivos como carotenoides, antocianinas y compuestos fenólicos, entre otros, que se ha demostrado tienen efectos positivos en la salud (Singh et al., 2014).

### Compuestos Fenólicos: Estructura y Clasificación

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en las plantas. Su biosíntesis comienza a partir de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina y triptófano, los cuales son el producto final de la ruta del ácido shikímico (Hrazdina, 1992). Estructuralmente, los compuestos fenólicos se caracterizan por poseer al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo, así, pueden existir como moléculas simples con un anillo fenólico, por ejemplo, los ácidos fenólicos y los alcoholes fenólicos, y como compuestos complejos altamente polimerizados como taninos y ligninas (Stevanovic et al., 2009). Aunque no existe una clasificación general para estos compuestos, es necesario agruparlos para su estudio con base a su estructura química, estabilidad y funciones biológicas. Una de las clasificaciones propuestas por su estructura química, se basa en el número de anillos fenólicos que contienen y los elementos estructurales que unen a éstos anillos unos con otros, los principales grupos de compuestos fenólicos son: flavonoides, ácidos fenólicos, alcoholes fenólicos, estilbenos y lignanos (D'Archivio et al., 2007). De la diversidad de compuestos fenólicos que existen, los ácidos fenólicos son los más abundantes en cereales, principalmente ácidos hidroxicinámicos como el ácido ferúlico, y en menor proporción, ácido *p*-cumárico, ácido caféico y ácido sinápico, los cuales participan como intermediarios en la biosíntesis de la lignina. También durante su biosíntesis, pueden participar como precursores de otros compuestos (por ejemplo, el ácido caféico se convierte en ácido clorogénico) (Lempereur et al., 1997; Rosa et al., 2016).

## Ácidos Fenólicos

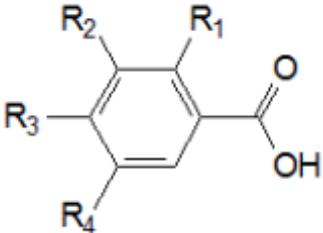
Los ácidos fenólicos son fenoles simples y se sintetizan a partir de la ruta del ácido shikímico, y a partir de estos se sintetizan los polifenoles. La diferencia con otros compuestos fenólicos es que poseen propiedades ácidas debido a la presencia del grupo carboxilo. Los ácidos fenólicos existen en forma libre, pero en cereales se encuentran en mayor proporción en forma ligada y solubles conjugados (Madhujith y Shahidi, 2009). Los ácidos fenólicos libres tienen la propiedad de ser solubles en agua, existen como agliconas y además se encuentran almacenados en la vacuola, mientras que los conjugados se encuentran enlazados a oligosacáridos solubles, azúcares simples y péptidos a través de enlaces hidrofóbicos, enlaces éster y éter. Por otro lado, los ácidos fenólicos esterificados o ligados pueden estar unidos a polisacáridos de la pared celular o formando enlaces éter con la lignina, y son insolubles en agua (Rispaill et al., 2005). Los ácidos fenólicos se pueden subdividir de acuerdo a su estructura en derivados del ácido cinámico y derivados del ácido benzoico (Figura 3 y Figura 4). Los derivados del ácido benzoico se caracterizan por poseer un esqueleto C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>. Los más comunes son el ácido gálico, ácido vainillínico, ácido salicílico, ácido protocatecuico y ácido *p*-hidroxibenzoico. Los derivados del ácido cinámico tienen un esqueleto C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, son los más comunes en cereales y los más representativos son el ácido ferúlico, ácido sinápico, ácido *p*-cumárico y ácido caféico (Bravo, 1998).



$R_1=R_2=R_3=R_4= H$	Ácido cinámico
$R_1=R_2=R_4= H; R_3=OH$	Ácido <i>p</i> -cumárico
$R_1=R_2=H; R_3=R_4=OH$	Ácido caféico
$R_1=R_2=H; R_3=OH; R_4=OCH_3$	Ácido ferúlico
$R_1=H; R_2=R_4=OCH_3; R_3=OH$	Ácido sinápico

**Figura 3.** Estructura química de los ácidos hidroxicinámicos.

Fuente: (D'Archivio et al., 2007)

	
Radical	Ácido hidroxibenzoico
$R_1=OH; R_2=R_3=R_4= H$	Ácido salicílico
$R_1=R_4=OH; R_2=R_3=H$	Ácido gentísico
$R_1=R_2= R_4=H; R_3=OH$	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico
$R_1=R_4=H; R_2=R_3=OH$	Ácido protocatecuico
$R_1=H; R_2=OCH_3; R_3=OH; R_4=H$	Ácido vainillínico
$R_1=H; R_2=R_3=R_4=OH$	Ácido gálico
$R_1=H; R_2=R_4=OCH_3; R_3=OH$	Ácido siríngico

**Figura 4.** Estructura química de los ácidos hidroxibenzoicos.

Fuente: (D'Archivio et al., 2007)

### Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante es una medida que describe la capacidad para estabilizar radicales libres en diferentes sistemas. Un antioxidante es un agente que tiene capacidad de donar electrones para poder estabilizar los radicales libres (Čukelj et al., 2010). Los compuestos fenólicos tienen la capacidad de donar uno o más de sus electrones adicionales a los radicales libres (Das y

Singh, 2015). Los radicales libres, a su vez, son moléculas que poseen un electrón desapareado y que para encontrar estabilidad secuestran electrones de otras biomoléculas, tales como proteínas, lípidos o ADN, dando lugar a los distintos procesos de oxidación. Los ácidos fenólicos son excelentes secuestradores de radicales libres (Čukelj et al., 2010).

Se han realizado diversos estudios donde se ha evaluado la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en grano de maíz. Das y Singh (2015) encontraron que los ácidos fenólicos están presentes principalmente en el pericarpio del grano y que el 6-9% de los compuestos fenólicos totales se encuentran en forma libre. El pericarpio tiene mayor capacidad antioxidante seguida por el germen, que es donde se presenta una mayor cantidad de fenólicos ligados.

Por otro lado, la lignina, como componente principal de la fibra dietaria, puede inhibir la actividad de enzimas relacionadas con la generación del radical anión superóxido y obstruir el crecimiento y viabilidad de células cancerígenas (Lu et al., 1998). Pan et al. (2006) evaluaron lignina organosolv, proveniente del licor generado en el proceso de obtención de pulpa de madera mediante disolventes orgánicos, como antioxidante mediante la capacidad de secuestro del radical DPPH reportando este valor como RSI (Índice de Secuestro del Radical). Ellos caracterizaron los grupos funcionales que conferían esa capacidad antioxidante. Los grupos hidroxilos fenólicos (ArOH) se relacionan positivamente con la capacidad antioxidante y los grupos alifáticos hidroxilos (AlkOH) tienen un efecto negativo en la capacidad antioxidante.

Por su parte, Kurakake et al. (2015) evaluaron la lignina a partir de Akamatsu (*Pinus densiflora*) y Bambú moso (*Phyllostachys edulis*), el primero es una especie arbórea de la familia de las pináceas y el segundo es una especie botánica del género de *Bambús phyllostachys*. Estos autores mencionan que los compuestos fenólicos en la lignina son compuestos termoestables; sin embargo, no los caracterizaron. El contenido fenólico total de Akamatsu y Bambú moso fue de  $0.683 \pm 0.069$  mg EAG·g<sup>-1</sup> y  $1.334 \pm 0.044$  mg EAG·g<sup>-1</sup> respectivamente. Ellos atribuyen la capacidad antioxidante a compuestos que

pueden estar en la lignina con grupos hidroxilo fenólico como alcohol coniferilílico, eugenol, propil guayacol y siringol.

### **Compuestos Fenólicos en la Planta de Maíz**

La planta de maíz se compone de raíz, hoja, tallo, hoja de mazorca, olote, grano, e inflorescencias. Los compuestos fenólicos identificados en maíz corresponden a ácidos hidroxicinámicos en su mayoría y flavonoides.

El contenido y distribución de ácidos hidroxicinámicos dependen de la localización morfológica y del estado de madurez (Sun et al., 2002). La bioactividad del maíz se relaciona con el contenido de compuestos fenólicos, y en grano de maíz, el 85% del contenido fenólico total se encuentra en forma ligada (Lopez-Martinez et al., 2009).

En la familia de las poaceas o gramíneas, la pared celular se compone de un esqueleto de microfibras de celulosa embebidas en una matriz compuesta principalmente por hemicelulosa y en menor proporción pectina y glicoproteínas. Además de estos componentes, las gramíneas contienen altas concentraciones de ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico unido mediante enlaces éster a los polímeros de la pared celular. Dependiendo del tejido y de su estado de madurez, la pared celular de las plantas C4 tiende a contener en mayor proporción ácidos hidroxicinámicos; por ejemplo, en maíz y sorgo, se ha reportado que contienen hasta 4% de ferulatos (conjunto de monómeros y dímeros) y hasta un 3% de *p*-cumarato. El *p*-cumarato se encuentra principalmente esterificado a la posición de las unidades S de la lignina. Aunque el *p*-cumarato se encuentra en pequeñas cantidades en tejidos inmaduros, su acumulación sucede proporcionalmente con la lignificación, haciendo la acumulación de éste un indicador de la deposición de lignina (Santiago y Malvar, 2010).

Lopez-Martinez et al. (2009) evaluaron el contenido fenólico libre y ligado de extractos obtenidos con una mezcla etanol-agua (80:20%) de grano maíz



blanco de origen mexicano, obteniendo 170 mg EAG•100 g<sup>-1</sup> de los cuales 33.4 mg correspondían a compuestos libres y 136 mg a ligados. De estos, se cuantificó por HPLC una concentración de ácido ferúlico (AF) de 148 mg AF • 100 g<sup>-1</sup> de muestra, de los cuales cerca del 94-98% se encontró en forma ligado.

Por su parte, Ayala-Soto et al. (2014) caracterizaron el perfil de ácidos hidroxicinámicos de diferentes fuentes de fibra de maíz y determinaron la capacidad antioxidante mediante el ensayo ORAC. En este estudio se encontró en mayor concentración al ácido ferúlico siendo el valor más alto de 1.197 µg mg<sup>-1</sup> de extracto seco. Los autores concluyeron que la capacidad antioxidante estuvo significativamente correlacionada con el contenido fenólico total.

En un estudio más reciente, Das y Singh (2015) evaluaron la distribución de los ácidos fenólicos libres y ligados en diferentes familias botánicas de grano de maíz. A su vez, también evaluaron la capacidad antioxidante de éstas, encontrando que los ácidos fenólicos estuvieron presentes principalmente en el pericarpio del grano y que del 6-9% de los compuestos fenólicos totales se encontraron en forma libre. Los autores obtuvieron la mayor capacidad antioxidante en el pericarpio del grano, seguida por el germen y lo atribuyeron a que estas fracciones presentaron altas cantidades de fenólicos ligados.

En reportes encontrados en la literatura, la mayoría utilizan trigo como modelo de estudio; sin embargo, el maíz, al ser un cultivo económicamente importante, requiere de estudios que evalúen el perfil de compuestos fenólicos presentes, así como su capacidad antioxidante para evaluar un posible aprovechamiento de estos, no solamente del grano, el cual es el principal objetivo de su cultivo, sino de las distintas partes que componen la planta.

Sun et al. (2002) cuantificaron ácidos hidroxicinámicos en tallo de maíz por extracción alcalina, como resultado, la lignina del tallo de maíz contenía ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico, este último en mayor proporción, además evaluaron los enlaces con los que estos estaban ligados a la lignina y determinaron el 6.7% del ácido *p*-cumárico encontrado se encuentra unido mediante enlaces éster y en menor proporción (1.32%) unido mediante enlaces éter, y que el

ácido ferúlico en se une a la lignina mediante enlaces éster (1.38%) y en mayor proporción mediante enlaces éter (2.43%).

### **Variación en el Perfil Fenólico**

El perfil fenólico puede variar en la misma especie debido a diferentes factores, como el genotipo, la variedad de la planta, lugar de cultivo, condiciones de extracción, condiciones ambientales, entre otros (Hosseinian y Mazza, 2009; Kováčová y Malinová, 2007). Otros factores que pueden afectar el contenido fenólico son el estado fenológico de la planta, función fisiológica de cada órgano y tiempo de cultivo (Ali et al., 2014).

Derivado a la variación en el contenido de compuestos bioactivos, la capacidad antioxidante también es diferente, aunque no necesariamente existe una correlación entre estos dos factores (Boudebaz et al., 2015). Por este motivo, la capacidad antioxidante de una planta es dependiente, tanto del contenido fenólico total, como del tipo de ácido fenólico que se encuentre, ya que unos ácidos fenólicos ejercen mayor capacidad antioxidante que otros. En un estudio realizado por Dong et al. (2014), se evaluó el contenido fenólico y la capacidad antioxidante por DPPH, ABTS y FRAP, en diferentes partes de la planta de maíz (olote, hoja de mazorca y barbas de maíz). Como resultado se encontró diferencia significativa entre las tres fracciones, y se mostró una correlación positiva con el contenido fenólico total ( $r=0.709$  para DPPH,  $r=0.871$  para ABTS y  $r=0.477$  para FRAP), pero en FRAP y contenido de flavonoides no existió correlación positiva.

### **Beneficios Obtenidos por el Consumo de Maíz**

El grano de maíz es la única parte comestible de la planta y ha sido ampliamente estudiado debido a que se ha relacionado que su consumo

promueve efectos benéficos en la salud (Adom y Liu, 2002; Adom et al., 2005; Liu, 2007; Nile y Park, 2014).

Los compuestos fenólicos que contiene el grano de maíz, en estudios *in vitro*, se han asociado con la reducción del riesgo de desarrollar enfermedades crónicas como enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, entre otros, esto es, en parte, producto a la capacidad antioxidante que poseen, actuando como secuestradores de radicales libres. Los compuestos fenólicos también tienen efectos antimicrobianos y de protección contra rayos UVB (Staniforth et al., 2012).

Asimismo, el maíz es un cultivo muy importante a nivel mundial, no solo por su superficie sembrada sino también por su utilización, lo cual nos habla de un alto porcentaje de desechos. Se estima que anualmente se genera una cantidad de 25.1 millones de toneladas derivadas de residuos del cultivo de maíz en México (Vélez Izquierdo et al., 2013), es por eso, que la revalorización de esta biomasa puede generar un impacto económico positivo en diferentes sectores, comenzando desde el productor primario que es el agricultor, hasta la industria de alimentos.

Por último, actualmente existe una tendencia por los consumidores de preferir productos cuyo origen sean fuentes naturales, lo que ha derivado en la disminución del uso de antioxidantes sintéticos en alimentos los cuales han sido relacionados con efectos adversos en la salud, por ejemplo el butilhidroxitolueno (BHT) (Balasundram et al., 2006; Farag et al., 2003).

## Lignina

La lignina es el segundo polímero natural más abundante en la naturaleza (Figura 7), y el tercer compuesto más abundante de las paredes celulares de las plantas después de la celulosa y hemicelulosa, constituyen generalmente,

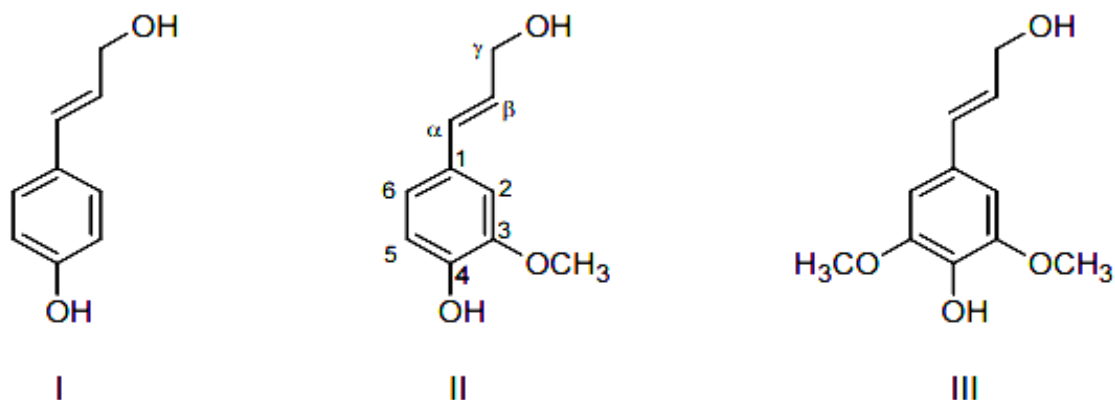
entre el 15% y 40% de la materia seca de estas (Doherty et al., 2011; Taiz y Zeiger, 2006).

La lignina se encuentra principalmente en plantas vasculares y se deposita selectivamente en la pared celular secundaria de algunas células (Doherty et al., 2011). Su formación resulta de la polimerización oxidativa de tres alcoholes *p*-hidroxicinamílicos, en una reacción mediada por oxidasas y peroxidasas, lo que da lugar a un polímero heterogéneo hidrofóbico (Doherty et al., 2011).

La lignina es principalmente un material de soporte estructural y provee de fuerza y rigidez a la pared celular de los tallos, encontrándose también en las paredes celulares de un número limitado de tipos de células como son las traqueidas, los vasos, las fibras del xilema y del floema. Las esclereidas, participan en la conducción de agua, ayudando a canalizarla a las áreas críticas de la planta, y desempeña funciones en el transporte de nutrientes y metabolitos en el sistema vascular. Por su alta polimerización con los polisacáridos, forma una barrera físico-química eficaz en contra del ataque de organismos patógenos y el estrés oxidativo, y protege a los polisacáridos de la despolimerización (Taiz y Zeiger, 2006; Van Dyk y Pletschke, 2012).

### **Formación y Estructura**

La estructura química exacta de la lignina no se conoce, debido principalmente a las alteraciones que sufre durante su aislamiento, así como de su origen botánico (Strassberger et al., 2014). En general, la lignina resulta de la polimerización de tres alcoholes fenólicos o monolignoles (compuestos por unidades C6-C3): alcohol *p*-cumarílico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico (Figura 5).



**Figura 5.** Estructura química de los monolignoles de la lignina, alcohol *p*-cumarílico (I) alcohol coniferílico (II) y alcohol sinapílico (III).

Fuente: Barceló et al. (2004)

Estas unidades son precursores en la síntesis de las subunidades: *p*-hidroxifenilo (H), guayacilo (G) y siringilo (S) (Kaur y Uppal, 2015). La proporción de monolignoles varía entre las diferentes especies de plantas, tejidos y capas de la pared celular (Cuadro 4) (Cooper y Nicola, 2014; Menon y Rao, 2012; Taiz y Zeiger, 2006).

**Cuadro 4.** Proporción de los monolignoles de la lignina en plantas herbáceas.

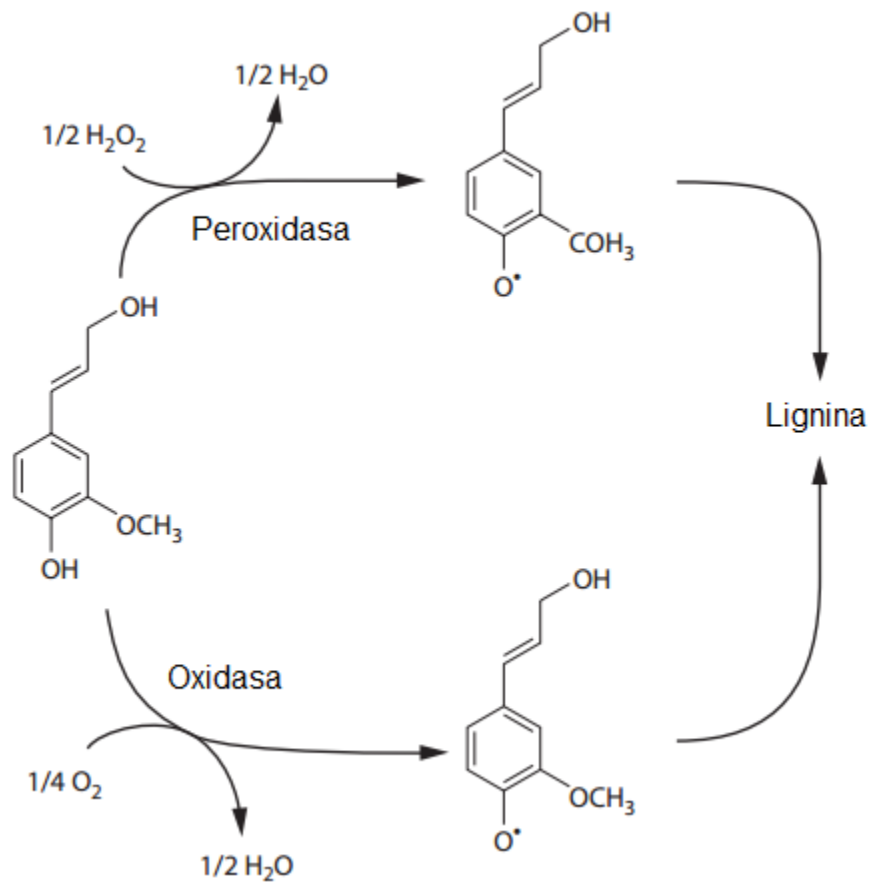
Monolignoles	Proporción (%)
Alcohol sinapílico (S)	25-50
Alcohol coniferílico (C)	25-50
Alcohol <i>p</i> -cumarílico (H)	10-25

Fuente: Li et al. (2012)

Los monolignoles se sintetizan a partir del aminoácido fenilalanina y son secretados a la pared, donde se polimerizan a través de un proceso oxidativo catalizado por peroxidasas y oxidasas (Figura 6), generando una estructura tridimensional. Estas unidades fenilpropanoides están interconectadas por diferentes enlaces que se pueden clasificar en dos tipos principales: uniones éter ( $\beta$ -O-4,  $\alpha$ -O-4, 4-O-5) y uniones carbono-carbono (C-C), siendo los enlaces

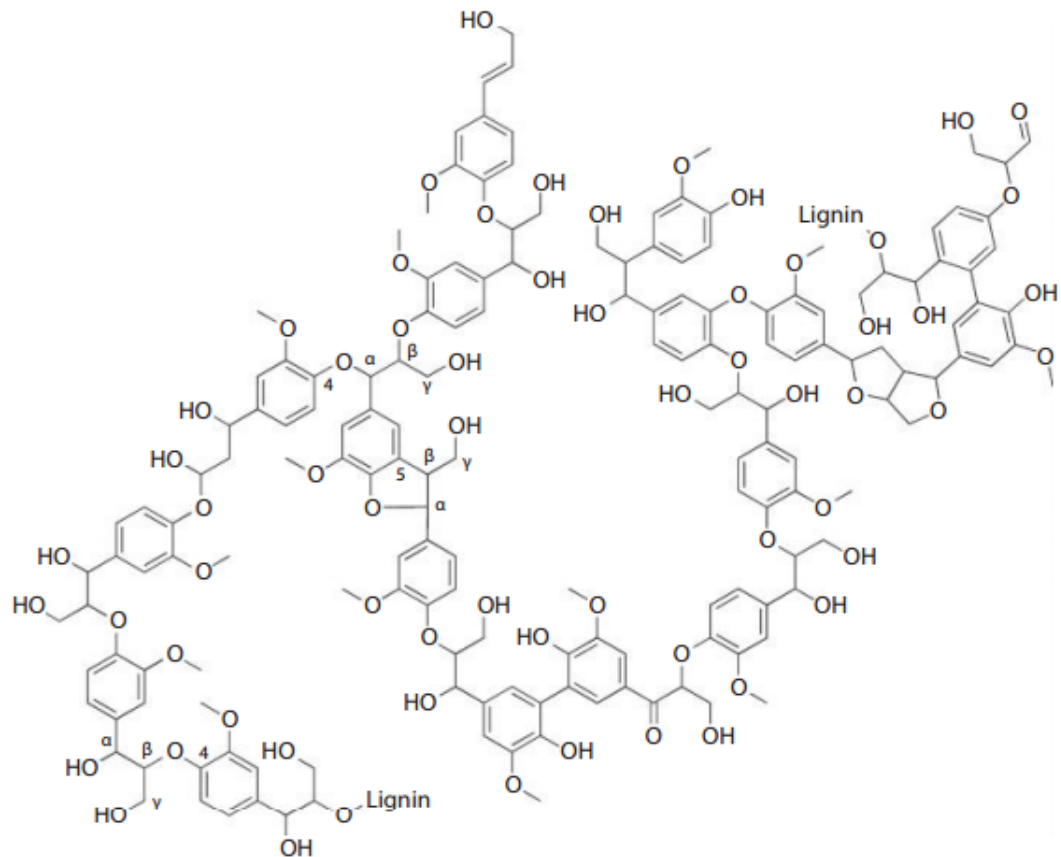
$\beta$ -O-4 los más frecuentes, éstos se presentan en las subestructuras aril-glicerol- $\beta$ -aryl éter, que son los blancos de la mayoría de los procesos de despolimerización de las ligninas. No obstante, existen otros enlaces entre las unidades, tales como,  $\beta$ -5,  $\beta$ -1,  $\beta$ - $\beta$ , 5-5 y 5-O-4 que son muy recalcitrantes a la degradación. Por lo tanto, las ligninas son polímeros poco definidos cuya composición monomérica varía enormemente, como lo hace la naturaleza de sus enlaces entre unidades (Uzal, 2008).

Los diferentes enlaces originan una diversidad de grupos funcionales, que impactan en su reactividad. Entre los grupos funcionales asociados a la lignina, se encuentran los grupos hidroxilo fenólicos que constituyen del 10% al 20% de ésta, y le confieren rigidez a la pared celular de las plantas, también contiene grupos metoxilo (-OCH<sub>3</sub>), grupos carboxílicos (COOH) y grupos carbonilos (CO) (Taiz y Zeiger, 2006; Van Dyk y Pletschke, 2012).



**Figura 6.** Ejemplo de la polimerización del alcohol coniferílico en la lignina.

Fuente: Cooper y Nicola (2014)



**Figura 7.** Estructura general de la lignina.

Fuente: Cooper y Nicola (2014)

Por otro lado, además de los tres monolignoles de la lignina, existen otros precursores. Algunas subunidades no canónicas que se han identificado incluyen al ácido ferúlico, ferulatos (que forman enlaces entre la lignina y hemicelulosa), coniferaldehído, sinapaldehído, entre otros, los cuales se pueden observar por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (2D-NMR) (Mansfield et al., 2012).

La lignina es una buena fuente de compuestos fenólicos; un alto contenido de éste polímero se traduce en una alta obtención de compuestos fenólicos (Amendola et al., 2012). Además, es un recurso renovable importante que puede emplearse como materia prima para la producción de bioproductos y biocombustibles, por sus aplicaciones prácticas complejas la vuelven un

material de investigación de gran interés (Kaur y Uppal, 2015). No obstante, su estructura compleja y variable genera un reto en su degradación.

### **Tipos de lignina**

El tipo de lignina depende del proceso empleado para su aislamiento así como de su origen. Se pueden tener ligninas comerciales con azufre (lignina tipo sulfito y lignina kraft), obtenidas a partir de la industria de la pulpa y papel, que proceden de coníferas; y ligninas sin azufre, estas se obtienen por diferentes procesos, como procesos alcalinos, organosolv (mediante el uso de solventes orgánicos), explosión a vapor y la hidrólisis de la biomasa (ligninas provenientes de la producción de bioetanol), estas ligninas provienen de madera y plantas anuales (El Mansouri et al., 2011; Hernández, 2013). Los principales tipos de lignina según su método de aislamiento se muestran en el Cuadro 5.

**Cuadro 5.** Características de los principales tipos de lignina clasificadas por método de aislamiento.

<b>Tipo de lignina</b>	<b>Características</b>
Lignina tipo sulfito	Disolución química de lignina a elevadas temperaturas y presiones en medio ácido.
Lignina tipo Kraft	Disolución en medio alcalino a elevadas temperaturas.
Lignina tipo soda	Disolución en medio alcalino a elevadas temperaturas y presiones de fibras no madereras, p.e. bagazo de caña.
Lignina Klason	Disolución de los polisacáridos con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 72% quedando como residuo insoluble la lignina.



Lignina organosolv

Obtenida a partir del licor generado en el proceso de obtención de pulpa de madera mediante disolventes orgánicos (p.e. metanol).

---

Fuente: Doherty et al. (2011)

## PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

- ¿Cuál es el contenido de compuestos fenólicos totales en cada órgano de la planta de maíz?
- ¿Cuál es el perfil de ácidos fenólicos de las fracciones libres y ligadas obtenidos de cada órgano de la planta de maíz?
- ¿Cuál es el potencial antioxidante de las fracciones libres y ligadas obtenidas de cada órgano de la planta de maíz?
- ¿Qué tipo de relación existe entre el contenido fenólico de la fracción ligada y la cantidad de lignina?

## HIPÓTESIS

- El contenido fenólico total será mayor en raíz y menor en grano.
- Los extractos de todas las fracciones contienen en mayor proporción ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico.
- La capacidad antioxidante es mayor en la fracción ligada.
- La cantidad de lignina se relaciona positivamente con el contenido de compuestos fenólicos en la fracción ligada.

## **PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

Se realizó una investigación en ciencia básica, de tipo descriptivo. Se caracterizó el contenido de compuestos nutracéuticos (fenoles totales) de los extractos que contienen fenólicos libres y ligados, así como la capacidad antioxidante (ORAC y DPPH) de seis órganos de la planta de maíz (tallo, raíz, hoja verdadera, olote, grano y hoja de mazorca), enseguida se identificaron los compuestos fenólicos presentes por medio de cromatografía de líquidos. El siguiente paso fue la cuantificación de lignina de cada órgano de la planta de maíz así como también la capacidad antioxidante de los mismos y se relacionó este con el contenido fenólico ligado. Lo anterior se llevó a cabo en el Laboratorio de Alimentos Funcionales y Nutracéuticos en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), Unidad Culiacán.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Material Vegetal**

Se realizó un muestreo de diez plantas de maíz en estado maduro de la variedad Pioneer W3254, obtenidas de una parcela ubicada en Culiacán, Sinaloa. Las muestras se separaron en seis componentes de la planta de maíz (hoja verdadera, tallo, olote, grano, hoja de mazorca y raíz). La raíz se lavó previamente para eliminar la tierra. Se secaron todas las muestras a 70 °C y se molieron en un molino universal IKA - M20 para obtener la harina, la cual fue almacenada a -20 °C hasta su análisis.

### **Caracterización de Antioxidantes en los Extractos**

#### **Extracción de Fenólicos Libres**

La extracción de fenólicos libres se realizó según lo propuesto por Adom y Liu (2002). Se pesaron 0.5 g de harina de cada muestra en tubos para centrifuga de 50 mL, enseguida, en cada tubo se adicionaron 10 mL de una solución etanólica fría al 80% y se mezcló la preparación en un homogeneizador de tejidos ULTRA-TURRAX®. Después, las muestras se incubaron a 25 °C con agitación a 200 rpm por 2 h en una incubadora Thermo Scientific Max 4000.

Finalmente, las muestras se centrifugaron a 10 000 rpm durante 15 min a 4 °C en una centrífuga Thermo Scientific Sorvall Legend XTR, se recolectó el sobrenadante en viales y se almacenó a -20 °C para su posterior análisis.

### **Extracción de Fenólicos Ligados**

La extracción de fenólicos ligados se realizó según la metodología propuesta por Adom y Liu (2002). La pastilla obtenida de la extracción de fenólicos libres, se le adicionaron 10 mL de NaOH 2N y se agitó en un vortex, posteriormente, ésta mezcla se sometió a baño maría durante 30 min a 95 °C, con agitaciones cada 5 min para llevar a cabo una hidrólisis alcalina. Al término de este periodo, la muestra se colocó en un agitador rotatorio durante 1 h a 25 °C a 200 rpm, y se le adicionaron 2 mL de HCl concentrado, se homogenizó en un vortex y se añadieron 10 mL de hexano por las paredes de los tubos. Después, se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 min a 10 °C. El sobrenadante se desechó y el pellet se sometió a cinco lavados con 10 mL de acetato de etilo en cada uno. El acetato de etilo se evaporó completamente en un Rotavapor BUCHI®, utilizando vacío a una temperatura de 35 °C. Los fenólicos ligados se reconstituyeron añadiendo 2 mL de etanol 80%.

### **Cuantificación de Compuestos Fenólicos Totales**

El ensayo de Folin-Ciocalteu (Swain y Hillis, 1959) se empleó para determinar el contenido fenólico total en cada extracto. Se tomó una alícuota de 15 µL de muestra y se colocó en una microplaca Costar® de 96 pozos, se adicionaron 240 µL de agua destilada y 15 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 3 min de incubación, la reacción se detuvo adicionando 30 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 4N y se incubó 2 h en oscuridad. El contenido fenólico total se determinó a una absorbancia de 725 nm en un lector de microplacas Synergy HT (BioTek®, Inc,

EEUU). Se preparó una curva de calibración usando ácido gálico (0 a 0.4 mg·mL<sup>-1</sup>) y el contenido fenólico total se calculó y expresó como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por cada 100 g de peso seco de muestra.

### **Capacidad del Secuestro del Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).**

La determinación de la capacidad antioxidante se realizó mediante la metodología propuesta por Brand-Williams et al., (1995). Para el ensayo se tomó una alícuota de 20 µL de cada extracto, y 280 µL del reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) 200 µM, se colocaron en una microplaca Costar® de 96 pozos y se incubó a temperatura ambiente por 30 min en la oscuridad. Posteriormente, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm en un lector de Microplacas Synergy HT (BioTek®, Inc, EEUU). Se preparó una curva de calibración usando Trólox (0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8 y 1 mg·mL<sup>-1</sup>) y la capacidad antioxidante se calculó y expresó como mg equivalentes de Trólox (ET) por cada 100 g de peso seco de muestra.

### **Capacidad de Absorción de Radicales Oxígeno (ORAC)**

La capacidad antioxidante de los extractos de cada muestra se evaluó utilizando el ensayo ORAC según la metodología propuesta por Huang et al. (2002), la cual se basa en la disminución de la fluoresceína inducida por un generador de radicales peroxil 2,2'-azobis, 2-amidino-propano dihidróclorido (AAPH). Para el ensayo se tomó una alícuota de 25 µL del extracto diluido con buffer de fosfatos 75 mM (pH 7.4), 25 µL del blanco (buffer de fosfatos 75 mM) y 25 µL de una curva estándar de Trólox (6.25, 25, 50, 75, 100 y 125 µM), y se depositaron en una microplaca de poliestireno con fondo y paredes oscuras de 96 pozos. Posteriormente, la placa se introdujo en un lector de microplacas Synergy HT (BioTek®, Inc, EEUU) a una temperatura de incubación de 37 °C, el cual dispensó 200 µL de fluoresceína 0.96 µM y 75 µL de 2,2'-azobis, 2-

amidino-propano dihidrocloro (AAPH) 95.8  $\mu\text{M}$ . La reacción inició una vez adicionado este último reactivo. La fluorescencia se leyó por 70 min con intervalos de 70 s a una longitud de onda de excitación de 485 nm y de emisión de 580 nm. Los cálculos se realizaron utilizando la ecuación de regresión lineal de la curva estándar de Trólox y el área bajo la curva de la pérdida de fluoresceína. Los resultados se expresaron en  $\mu\text{M}$  equivalentes de Trólox por g de muestra seca ( $\mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$ ).

### Identificación y Cuantificación de Ácidos Fenólicos por UPLC-PDA

El extracto fenólico se filtró a través de un filtro de jeringa de 0.2  $\mu\text{m}$  de membrana de nylon en un vial, y 0.5  $\mu\text{L}$  se analizaron en un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (ACQUITY UPLC clase H), empleando una bomba cuaternaria Waters (Milford, MA, USA), equipado con un automuestreador y un detector ACQUITY UPLC<sup>®</sup> e $\lambda$  de matriz de fotodiodos (PDA). Para la separación de ácidos fenólicos se utilizó una columna ACQUITY UPLC BEH C18 (1.7  $\mu\text{m}$  x 2.1 mm x 100 mm) a 50 °C. La fase móvil consistió de metanol: agua: ácido fórmico (A, 95:2:3, v/v/v) y: metanol: ácido fórmico (B, 95:2:3, v/v/v), con un flujo de 0.2 mL/min. El gradiente de elución fue el siguiente: 0 min, 90% (A); 3 min, 70% (A); 9 min, 60% (A); 11 min, 50% (A); 12 min, 0% (A), 13 min, 0% (A); 15 min, 90% (A); 17 min, 90% (A). El tiempo de corrida programado fue de 17 min. Los compuestos fenólicos individuales se cuantificaron en base al área del pico detectada a una longitud de onda máxima de 320 nm contra curvas de calibración. Los estándares utilizados fueron ácido gálico, ácido clorogénico, ácido caféico, ácido vanílico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico y ácido benzoico, los cuales se añadieron a una concentración de 50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Los datos se procesaron en el software “Empower 3” y se expresaron en  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de muestra.



## Análisis de Lignina

### **Preparación de la Muestra**

Las muestras se prepararon para su análisis mediante extracción de compuestos hidrosolubles y liposolubles siguiendo el procedimiento del NREL (2008). El procedimiento consistió en la extracción por método Soxhlet, primeramente se colocaron a peso constante los matraces receptores en una estufa a  $105\pm 5$  °C por 12 h y se registró el peso. Se añadió a un dedal aproximadamente 2 g de muestra y se registró el peso. Posteriormente, las muestras fueron secuencialmente extraídas con acetona, agua y etanol, con aproximadamente 150 mL de cada uno y se colocó a 56 ,100 y 80 °C respectivamente en una placa de calentamiento. El reflujo se mantuvo durante 8, 3 y 8 h respectivamente. Después de este tiempo, se removió el dedal y se transfirió el sólido extraído a un papel filtro en un embudo. Se lavaron los sólidos con aproximadamente 100 mL de etanol y se permitió que los sólidos secan usando filtración al vacío. El solvente se removió usando un rotavapor BUCHI® a una temperatura de 40 °C con vacío. Al término de la evaporación del solvente, se colocó el matraz en un horno a 40 °C durante 24 h y se registró el peso.

### **Determinación de Lignina**

La lignina ácido insoluble (LAI) se determinó de acuerdo al método TAPPI 222 (TAPPI, 2002). Se colocó en un matraz Erlenmeyer 250 mg de muestra libre de extraíbles y se le añadió 4 mL de ácido sulfúrico 72% (10-15 °C) manteniendo el matraz en un baño a 2 °C durante la dispersión del material. Posteriormente, el matraz se cubrió y se mantuvo en agitación por 2 h y se añadieron 96 mL de agua destilada. La solución anterior se llevó a ebullición durante 4 h,

manteniendo un volumen constante (100 mL) mediante la adición de agua destilada caliente. El material insoluble (lignina) que quedó al término de este tiempo se filtró y se tomó una alícuota del sobrenadante para la determinación de lignina ácido-soluble, y el sólido se lavó con agua destilada caliente, después, secó en un horno a 40 °C para su determinación gravimétrica.

### **Determinación de Lignina Ácido-Soluble**

La lignina ácido soluble (LAS) se determinó de acuerdo al método propuesto por Ehrman (1996), midiendo la absorbancia del hidrolizado (filtrado) a 205 nm, usando como blanco la solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3% (m/m) utilizada en la determinación de lignina ácido-insoluble. Cada muestra se analizó por triplicado, y se determinó la media de estas mediciones, la lignina ácido soluble se calculó según la fórmula:

Cálculo de lignina ácido soluble:

$$\text{LAS (\% sobre fibra seca)} = (A \cdot V) / (a \cdot m) \quad (1)$$

Dónde:

A= absorbancia a 205 nm (AU)

V= volumen final del hidrolizado (mL)

a= coeficiente de extinción 110 L · (g·m)<sup>-1</sup>

### **Análisis Estadístico**

Los análisis se llevaron a cabo por triplicado y los resultados se expresaron como media ± desviación estándar. Para los resultados del ensayo de Folin-Ciocalteu, ORAC y DPPH se utilizó una curva estándar de ácido gálico, y de Trólox respectivamente, la media y desviación estándar se calcularon en Excel.

Las diferencias entre órganos de la planta de maíz se calcularon usando un ANOVA. La comparación de medias se determinó usando la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%. Los datos se analizaron con el paquete estadístico Minitab Statistical Software, versión 17 (Minitab Inc., State College, PA, USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

### Contenido Fenólico Total

En el Cuadro 6 se muestran los valores de los compuestos fenólicos totales, que corresponde a la suma de los compuestos en extractos libres y ligados. El contenido de fenólicos ligados más alto fue en hoja de mazorca con 1276.49 mg EAG·100 g<sup>-1</sup> de peso seco, mientras que el más bajo fue en el grano con 164.90.10 EAG·100 g<sup>-1</sup> de peso seco. Este valor fue más alto que lo reportados en la literatura para otros granos de maíz, como maíz blanco (136 mg EAG·100 g<sup>-1</sup>) reportado por Lopez-Martinez et al. (2009), morocho blanco (140.5 mg EAG·100 g<sup>-1</sup>) reportado por González-Muñoz et al. (2013), y fue más bajo que el reportado en maíz amarillo (174.03 equivalentes de ácido ferúlico·100 g<sup>-1</sup>) por Adom y Liu (2002) y grano entero de maíz (255 mg EAG·100 g<sup>-1</sup>) reportado por Okarter (2012). El valor en la hoja de mazorca fue mayor que lo reportado en la literatura para otras especies de la familia de las gramíneas, como la hoja de triticale (219.9 mg FAE·100 g<sup>-1</sup>) reportado por Hosseinian y Mazza (2009).

Los principales compuestos fenólicos que se han identificado tanto en la pared celular primaria como secundaria de las gramíneas, son los ácidos hidroxicinámicos, los más abundantes son el ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico, dichos compuestos fenólicos se encuentra formando enlaces éter con la lignina a través de sus grupos hidroxilo en el anillo aromático y enlaces éster con los carbohidratos estructurales y proteínas a través de su grupo carboxilo. Además, los ácidos hidroxicinámicos son precursores de una variedad de compuestos

que participan en la respuesta de defensa de la planta (Espinoza-Acosta et al., 2015; Torre et al., 2008).

**Cuadro 6.** Contenido de fenoles totales (libres y ligados) en diferentes partes de la planta de maíz.

Órgano de la planta de maíz	Contenido fenólico total (mg EAG·100 g <sup>-1</sup> PS)		
	Ligados	Libres	Total
Grano	164.9 ± 16.71 <sup>d</sup>	54.77 ± 5.01 <sup>d</sup>	219.67 ± 21.72
Hoja mazorca	1276.49 ± 221.91 <sup>a</sup>	144.45 ± 29.69 <sup>c</sup>	1420.93 ± 252
Hoja verdadera	317.63 ± 110.34 <sup>cd</sup>	260.62 ± 41.64 <sup>b</sup>	578.25 ± 152
Olote	639.78 ± 81.18 <sup>b</sup>	305.47 ± 50.30 <sup>b</sup>	945.25 ± 131
Raíz	425.12 ± 89.79 <sup>bcd</sup>	490.82 ± 60.70 <sup>a</sup>	915.94 ± 150
Tallo	451.21 ± 82.03 <sup>bc</sup>	482.61 ± 59.98 <sup>a</sup>	933.82 ± 152

Los valores son presentados como la media ± la desviación estándar (n=4). EAG, Equivalentes de Ácido Gálico. Letras diferentes en la misma columna muestran diferencias significativas (Tukey, P<0.05). PS.=peso seco

Los compuestos fenólicos son sintetizados por las plantas como barreras de resistencia al ataque de microorganismos y protección contra la radiación solar, entre otras funciones (Lattanzio et al., 2006). Esto puede explicar el valor encontrado en la hoja de mazorca, la cual está más expuesta al estrés ambiental (p. e. radiación, microorganismos) y su función en la planta es la de proteger al fruto. El olote proporciona soporte y humedad al grano, por lo que es un material altamente resistente. El grano, es el órgano más “protegido” por la planta, por lo que está poco lignificado y la finalidad de las capas superiores del grano es la de proteger a la semilla de la oxidación (Retes-Mantilla et al., 2015). El contenido fenólico ligado osciló entre el 46 y el 89% del contenido fenólico total, lo cual sugiere que la mayoría de los ácidos fenólicos no se liberaron con la extracción etanólica, sino hasta la hidrólisis alcalina (Hosseinian y Mazza, 2009). Nuestros resultados son menores que lo reportado por Adom y Liu

(2002), donde la contribución de fenoles ligados en grano de maíz amarillo fue del 98.9% y que lo reportado por Hosseinian y Mazza (2009), donde el 90% de los ácidos fenólicos se encontraron en los extractos ligados. Estos autores reportan que los resultados pueden ser diferentes a otros estudios, debido a que las condiciones de hidrólisis afectan tanto el rendimiento total como el perfil de ácidos fenólicos que se pueden encontrar.

El contenido fenólico en extractos libres osciló de 54.77 - 490.82 mg EAG·100 g<sup>-1</sup>, la raíz y el tallo tuvieron significativamente el mayor contenido, mientras que el menor contenido se localizó en el grano, siendo significativamente diferente a los contenidos de los demás órganos. Estos valores son mayores que los reportados por Lopez-Martinez et al. (2009) en grano de maíz blanco (33.4 mg EAG·100 g<sup>-1</sup>). El valor que se obtuvo en la hoja de mazorca (144.45 mg EAG·100 g<sup>-1</sup>) fue mayor que lo reportado en la literatura para hoja de triticale (3.7 mg FAE·100 g<sup>-1</sup>).

Holasova et al. (2002) evaluaron el contenido fenólico total en granos de cebada, fue de 210 mg EAG·100 g<sup>-1</sup>, en hojas de trigo 3951.4 mg EAG·100 g<sup>-1</sup> y en semillas de trigo 330.3 mg EAG·100 g<sup>-1</sup>.

En olote de maíz, Suryanto et al. (2013) reportaron en extractos fenólicos libres un contenido de 7.31 mg EAG·100 g<sup>-1</sup>, menor al valor obtenido en el presente estudio (305.47 mg EAG·100 g<sup>-1</sup>).

### Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe a la capacidad que tienen de donar átomos de hidrógeno o electrones y secuestrar radicales libres (Vijayalaxmi et al., 2015). Se realizaron dos ensayos *in vitro* distintos para medir la capacidad de secuestro de radicales libres: el ensayo de Capacidad de Absorbancia del Radical Oxígeno (ORAC por sus siglas en inglés) y el ensayo

de capacidad de secuestro del radical DPPH. El cálculo para ambos se realizó con una curva estándar del antioxidante Trólox (Moore y Yu, 2008).

En el Cuadro 7 se muestran los valores para la capacidad antioxidante (ORAC y DPPH) para extractos de raíz, hoja, tallo, olote, hoja verdadera, hoja de mazorca y grano de la planta de maíz. En la capacidad antioxidante evaluada por ORAC en los extractos fenólicos ligados, el tallo y olote presentaron los valores más altos con 591.41 y 437.34  $\mu\text{mol ET}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectivamente. El valor significativamente menor se obtuvo en grano con 63.04  $\mu\text{mol TE}\cdot\text{g}^{-1}$ . Para la fracción libre, el valor más alto resultó en la raíz con 170.3  $\mu\text{mol ET}\cdot\text{g}^{-1}$  y el valor más bajo se observó en el grano con 15.43  $\mu\text{mol ET}\cdot\text{g}^{-1}$ . De todos los órganos analizados de la planta de maíz, los extractos conteniendo fenólicos ligados aportaron la mayor capacidad antioxidante, esto se puede atribuir a que el mayor contenido fenólico se encontró en ésta fracción.

**Cuadro 7.** Capacidad antioxidante ORAC ( $\mu\text{mol ET}\cdot\text{g}^{-1}$ ) y DPPH ( $\text{mmol ET}\cdot\text{g}^{-1}$ ) en órganos de la planta de maíz.

Órgano de la planta de maíz	ORAC ( $\mu\text{mol ET}\cdot\text{g}^{-1}$ PS)		DPPH ( $\text{mmol ET}\cdot\text{g}^{-1}$ PS)	
	Libre	Ligado	Libre	Ligado
Grano	15.43 $\pm$ 1.4 <sup>d</sup>	63.04 $\pm$ 17.74 <sup>e</sup>	1.11 $\pm$ 0.26 <sup>d</sup>	5.37 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
Olote	135.9 $\pm$ 18.4 <sup>b</sup>	437.34 $\pm$ 52.99 <sup>b</sup>	11.51 $\pm$ 1.26 <sup>a</sup>	5.54 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
Hoja verdadera	95.61 $\pm$ 7.0 <sup>c</sup>	198.02 $\pm$ 39.81 <sup>d</sup>	6.05 $\pm$ 0.73 <sup>b</sup>	5.00 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>
Hoja mazorca	30.47 $\pm$ 10.3 <sup>d</sup>	382.80 $\pm$ 28.92 <sup>bc</sup>	2.39 $\pm$ 0.49 <sup>c</sup>	5.54 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
Raíz	170.3 $\pm$ 7.3 <sup>a</sup>	332.23 $\pm$ 26.33 <sup>cd</sup>	7.20 $\pm$ 1.14 <sup>b</sup>	5.38 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
Tallo	160.2 $\pm$ 17.9 <sup>a</sup>	591.41 $\pm$ 23.46 <sup>a</sup>	11.75 $\pm$ 1.05 <sup>a</sup>	4.30 $\pm$ 0.76 <sup>b</sup>

Los valores son presentados como la media  $\pm$  la desviación estándar (n=4). ET, equivalentes de Trólox. Letras diferentes muestran diferencias significativas (Tukey, P<0.05). PS: peso seco

En el ensayo de inhibición del radical DPPH, los valores significativamente más altos en la fracción libre se obtuvieron en el olote y tallo con 11.51 mmol ET·g<sup>-1</sup> y 11.75 mmol ET·g<sup>-1</sup>, respectivamente, mientras que el valor más bajo se obtuvo en la hoja de mazorca con 2.39 mmol ET·g<sup>-1</sup>. Los valores más altos en la fracción ligada se obtuvieron en olote y hoja de mazorca, ambos con 5.54 mmol ET·g<sup>-1</sup> y las demás fracciones oscilaron entre 4.30 y 5.38 mmol ET·g<sup>-1</sup>. Hosseinian y Mazza (2009), señalan que los valores ORAC para los fenólicos en los extractos ligados de residuos de cosecha de triticale y salvado de trigo fueron de 4 a 5 veces más altos que los valores obtenidos para los extractos libres (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en diferentes residuos de cosecha de cereales.

Muestra	Contenido fenólico (mg GAE/100g)		Capacidad antioxidante ORAC (µM TE/g)		Autores
	Libre	Ligado	Libre	Ligado	
Hoja de triticale	3.7	219.9	48.2	202.5	(Hosseinian y Mazza, 2009)
Salvado de triticale	9.9	270.7	25.4	128.6	(Hosseinian y Mazza, 2009)
Salvado de trigo	13.7	439.9	66.5	226.6	(Hosseinian y Mazza, 2009)
Maíz blanco	33.4	136	NR	NR	(Lopez-Martinez et al., 2009)

NR: No reportado

Los valores altos de capacidad antioxidante los relacionan con el contenido de compuestos fenólicos ligados, el cual también resultó ser significativamente mayor ( $P < 0.05$ ) que en otras muestras analizadas (avena y centeno). Estos



autores concluyen que debido al contenido fenólico y capacidad antioxidante, el triticale y sus residuos tienen el potencial para actuar como antioxidantes naturales *in vivo* y proveer un efecto en beneficio de la salud.

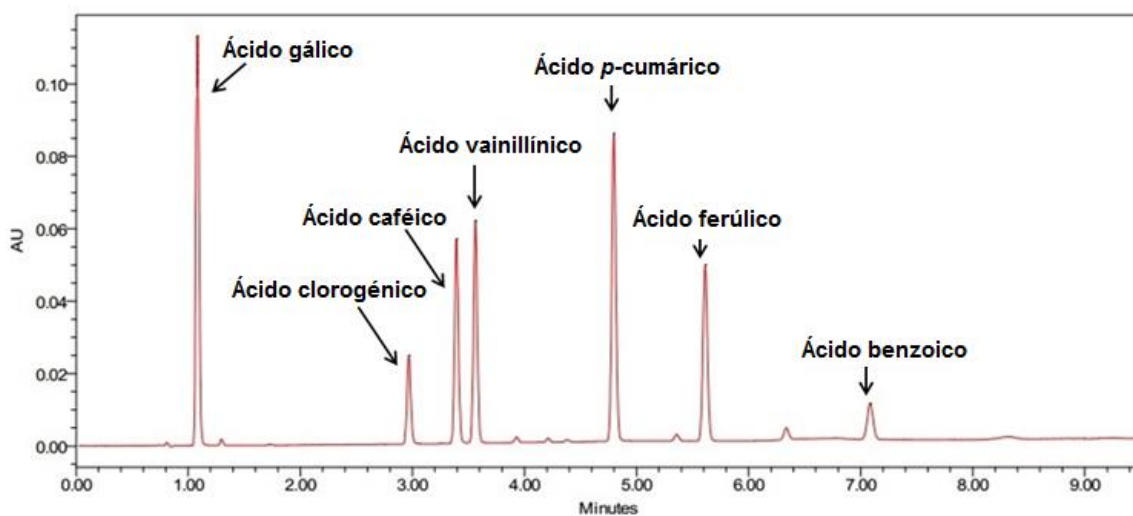
Estudios previos han demostrado que el contenido de compuestos fenólicos ligados en los cereales es mayor que los libres, es por eso que contienen una capacidad antioxidante considerablemente alta (Hosseinian y Mazza, 2009; Lopez-Martinez et al., 2009). Las diferencias observadas en el contenido de compuestos fenólicos respecto a los resultados previamente mencionados pueden ser atribuidas a las diferencias en las condiciones a las que el cultivo estuvo expuesto, condiciones meteorológicas y manejo agronómico (Adom y Liu, 2002).

En el ensayo de inhibición del radical DPPH (Cuadro 7), en los extractos que contenían fenólicos libres, el mayor resultado se obtuvo en tallo y olote con 11.75 mmol ET·g<sup>-1</sup> y 11.51 mmol ET·g<sup>-1</sup> respectivamente, siendo estadísticamente iguales y el menor resultado en grano con 1.11 mmol ET·g<sup>-1</sup>. En la fracción ligada se obtuvo el mayor resultado en grano, olote, hoja de mazorca y raíz, siendo estos estadísticamente iguales. Los resultados más bajos se obtuvieron en la hoja verdadera y el tallo, siendo estadísticamente iguales. Las diferencias en las tendencias observadas por ambos ensayos de capacidad antioxidante, se puede explicar por el fundamento de ambas técnicas. DPPH es un ensayo que se basa mayormente en la transferencia de electrones, y ORAC es un ensayo basado en transferencia de átomos de hidrógeno, además, este último utiliza radicales peroxilo que son mejores modelo de reacciones antioxidantes en comparación con el radical DPPH (Schaich et al., 2015).

## Caracterización del Contenido Fenólico por UPLC- PDA

### Estándares

Los estándares de ácidos fenólicos inyectados en el UPLC- PDA fueron ácido gálico, ácido clorogénico, ácido caféico, ácido vainillínico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico y ácido benzoico los cuales han sido reportados por encontrarse en cereales. La figura 8 muestra el cromatograma con la mezcla de estándares.



**Figura 8.** Cromatograma de la mezcla de estándares de ácidos fenólicos. Absorbancia medida a una longitud de onda de 271 nm.

## Identificación y Cuantificación de Ácidos Fenólicos por UPLC- PDA

Para la identificación y cuantificación de ácidos fenólicos presentes en tallo, raíz, olote, hoja verdadera, hoja de mazorca y grano de la planta de maíz se inyectaron los extractos que contenían fenólicos libres y ligados de todos los materiales utilizados en el UPLC-PDA y se midió la absorbancia a 320 nm. Todos los cromatogramas se muestran en el anexo 1. En los resultados (Cuadro 9), se obtuvo coincidencia de los estándares tanto en tiempo de retención como en el espectro de absorción, con dos ácidos fenólicos en las muestras de extractos ligados, los cuales fueron ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico.

**Cuadro 9.** Concentración de ácidos fenólicos ligados ( $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s.) en órganos de la planta de maíz.

Órgano de la planta de maíz	Compuestos fenólicos identificados (media $\pm$ desviación estándar) ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	
	Ácido <i>p</i> -cumárico	Ácido ferúlico
Grano	581.60 $\pm$ 259.91	1208.62 $\pm$ 53.21
Hoja mazorca	4555.00 $\pm$ 1131.66	3515.50 $\pm$ 1025.61
Hoja verdadera	2027.45 $\pm$ 511.42	990.20 $\pm$ 210.63
Olote	7307.75 $\pm$ 1056.65	3470.95 $\pm$ 482.77
Raíz	5579 $\pm$ 1471.48	1350.51 $\pm$ 683.95
Tallo	5722.85 $\pm$ 397.92	1401.70 $\pm$ 124.34

Comparando los cromatogramas, se observó que todas las muestras mostraron el mismo perfil cromatográfico variando en las concentraciones, donde el ácido *p*-cumárico se encontró en mayor concentración en todas las muestras analizadas a excepción del grano; en este último se obtuvo mayor concentración de ácido ferúlico que de ácido *p*-cumárico. El ácido ferúlico se ha reportado por encontrarse en las capas más superficiales de los granos de cereal, la presencia de este compuesto tiene la finalidad de proteger a la semilla de la oxidación de los tejidos de las capas inferiores (Liyana-Pathirana y Shahidi, 2006; Maillard y Berset, 1995; Retes-Mantilla et al., 2015). El ácido *p*-cumárico,

se encuentra en la pared celular de las plantas unido principalmente a la lignina, y debido a que las capas externas de los granos de cereal están más lignificadas que las capas internas del grano, este ácido hidroxicinámico se sugiere que se encuentra en mayor concentración en esta. Por otro lado, el ácido ferúlico se ha encontrado principalmente en la aleurona, las cuales son ricas en arabinosilanos y el ácido ferúlico en forma ligada, se conoce por estar esterificado con residuos L-arabinofuranosido en las posiciones C2 o C5 (Nordkvist et al., 1984; Ou y Sun, 2014). El ácido ferúlico y el ácido *p*-cumárico se han encontrado en raíz de maíz, específicamente en células del apoplasto; estos ácidos hidroxicinámicos son sustratos de peroxidasas, las cuales están implicadas en el mecanismo antioxidante de defensa de las plantas para controlar los niveles de especies reactivas de oxígeno, por ejemplo, el ácido *p*-cumárico puede ser oxidado por peroxidasas para formar radicales que se combinan espontáneamente y forma el polímero de la lignina (Šukalović et al., 2005). Otra de las funciones del ácido *p*-cumárico en la planta es la de ser cofactor de las peroxidasas mitocondriales en raíz de maíz (Šukalović y Vuletić, 2003).

En cuanto a las muestras de extractos libres, no se lograron identificar ácidos fenólicos, esto puede ser debido a que la concentración de estos fue baja. El perfil cromatográfico en grano de maíz ya ha sido reportado para otras variedades, y en relación a las concentraciones de ácido ferúlico, nuestros resultados son mayores que lo reportado por Irakli et al. (2012) que obtuvieron  $954.45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de ácido ferúlico y ligeramente menores a lo reportado por Luthria et al. (2012) con  $1250 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Respecto a la concentración de ácido *p*-cumárico, los resultados obtenidos son mayores que lo reportado por estos últimos autores ( $95.42 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  y  $150 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de ácido *p*-cumárico, respectivamente). Las diferencias en los resultados se puede deber a la diferencia en la variedad, genotipo, lugar de cultivo y método de extracción.

Kováčová y Malinová (2007) determinaron por HPLC el contenido de ácido *p*-cumárico y ácido ferúlico en 21 genotipos de grano de avena, donde el 61.9 % de las muestras el contenido de ácido *p*-cumárico fue mayor, mientras que en el

38.15% restante, el contenido de ácido ferúlico fue el más alto, señalando que el genotipo es un factor importante en la concentración de compuestos fenólicos. En este mismo estudio el contenido de ácido ferúlico en grano de avena fue de 16.50 mg·100 g<sup>-1</sup> a 149.36 mg·100 g<sup>-1</sup> en grano y el contenido de ácido *p*-cumárico resultó entre 8.05 a mg·100 g<sup>-1</sup> y 210.27 mg·100 g<sup>-1</sup> de grano. En nuestros resultados en grano de maíz, se obtuvieron 58.16 mg·100 g<sup>-1</sup> de ácido *p*-cumárico y 120.86 mg·100 g<sup>-1</sup> de ácido ferúlico.

La diferencia entre el contenido fenólico total estimado por el ensayo espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu y UPLC-PDA, se puede atribuir a la diferencia en los métodos de detección. El fundamento del ensayo de Folin-Ciocalteu se basa en la transferencia de electrones de los compuestos fenólicos al complejo fosfomolibdico-fosfotúngstico, lo cual produce un color azul intenso el cual es proporcional al número de grupos hidroxilo de la molécula y es determinado espectrofotométricamente. Dicha transferencia de electrones, no es específica para compuestos fenólicos, y aunque el procedimiento de extracción elimina aproximadamente el 85% de compuestos que puedan interferir, estas interferencias podrían dar una sobreestimación del contenido fenólico total, no siendo así en cromatografía donde se determina específicamente compuestos en base a estándares (Ainsworth y Gillespie, 2007; Irakli et al., 2012; Peterson, 1979).

### Determinación del Contenido de Lignina

En el Cuadro 10 se muestran los resultados de la determinación del contenido del porcentaje de lignina total, Klason (lignina ácido-insoluble) y lignina ácido-soluble en tallo, olote, hoja de mazorca, hoja verdadera, raíz y grano de maíz.

**Cuadro 10.** Contenido de lignina Klason (%), lignina ácido-soluble (%) y lignina total (%) en órganos de la planta de maíz.

Órgano de la planta de maíz	Lignina Klason (%)	Lignina ácido-soluble (%)	Lignina total (%)
Raíz	30.54 ± 1.09	1.58 ± 0.90	32.12 <sup>a</sup>
Olote	15.48 ± 1.08	2.27 ± 1.16	17.75 <sup>bc</sup>
Tallo	24.48 ± 1.72	1.22 ± 0.29	25.70 <sup>ab</sup>
Hoja verdadera	24.79 ± 0.34	1.02 ± 0.40	25.81 <sup>ab</sup>
Hoja mazorca	9.56 ± 0.30	2.10 ± 0.63	11.66 <sup>cd</sup>
Grano	3.86 ± 0.95	1.02 ± 0.30	4.88 <sup>d</sup>

Los valores son presentados como la media ± la desviación estándar (n=3). ET, equivalentes de Trólox. Letras diferentes muestran diferencias significativas (Tukey, P<0.05).

El análisis de varianza indicó diferencias significativas entre el contenido de lignina total de cada órgano (P<0.05). En este sentido, la raíz resultó el órgano con el contenido de lignina total significativamente más alto (32.12%) en comparación a los demás órganos, además resultó estadísticamente igual a los órganos del tallo (25.70%) y la hoja verdadera (25.81%), asimismo, en la comparación de medias por la prueba de Tukey, el grano resultó ser significativamente diferente a los demás, siendo el de menor contenido de lignina (4.88%) y fue estadísticamente igual a la hoja de mazorca (11.66%).

Estudios previos han mostrado que el contenido de lignina del tallo es de 20.45% (Wang y Chen, 2016), en hojas de 16% (Lee, 2007), en hoja de mazorca es el 7.9% (Mendes et al., 2015), en olote es el 20.3% (Rivas et al., 2002), en fibra de maíz es el 1.0% (Saulnier et al., 1995) y en raíz representa el 17.6% (Machinet et al., 2011), sin embargo, estos estudios reportan metodologías diferentes a lo reportado en este experimento y algunos autores no analizan el órgano completo, en este orden de ideas, tenemos que Wang y Chen (2016) reportan sólo lignina Klason (%), no analizan la lignina ácido soluble, Mendes et al. (2015) reportan el porcentaje de lignina como el

porcentaje que resta después de sustraer el valor de cenizas, de extraíbles y de holocelulosa. Rivas et al. (2002) utilizan un pretratamiento de la muestra con etanol, mientras que en este estudio se utilizó etanol, agua y acetona, además sólo reportan el porcentaje de lignina de salvado de maíz por el método de lignina Klason (%), y no incluyen los demás tejidos, en otro estudio realizado por Machinet et al. (2011) seleccionaron solo raíces de 2-3 mm de diámetro y determinaron el contenido de lignina Klason, sin tomar en cuenta el contenido de lignina ácido-soluble. De lo anterior se puede observar que los datos obtenidos en esta investigación se encuentran dentro del intervalo reportado en la literatura. Asimismo, algunos autores mencionan que los valores de lignina reportados dependen de factores como los métodos de aislamiento de la lignina, del tipo de órgano de la planta, método de extracción, así como también el tiempo de cosecha, lo que hace complicada la comparación entre estudios (Buranov y Mazza, 2008; Schroyen et al., 2015).

El método Klason es un ensayo gravimétrico en donde se cuantifica lignina directamente, consiste en dos pasos de hidrólisis, donde primero se extrae la fracción insoluble por la hidrólisis con ácido sulfúrico al 72%, seguido de la solubilización de los polisacáridos de la pared celular por una segunda hidrólisis con ácido sulfúrico al 3%. Se ha reportado que este método puede subestimar el contenido de lignina en tejidos con bajo contenido de la misma, como por ejemplo el grano de maíz, debido a que se puede perder muestra en los tratamientos de hidrólisis previos, a pesar de esto, es una metodología muy utilizada (Moreira-Vilar et al., 2014).

La función fisiológica de algunos órganos de las plantas puede estar relacionada con un alto contenido de lignina. La lignina se encuentra en el tejido del xilema, el cual se encarga del transporte de agua y sales minerales provenientes de la raíz a toda la planta. En el tallo, la lignina se encarga de darle fortaleza y rigidez a la pared celular para mantener a la planta erecta.

Respecto al grano de maíz, la lignina se encuentra formando enlaces éter con el ácido ferúlico que a su vez se encuentra enlazado a los arabinoxilanos, lo

que proporciona resistencia a la pared celular del pericarpio, y a su vez mayor resistencia a plagas (Cabrera-Soto et al., 2009).

Por otro lado, la máxima absorción de las unidades de la lignina resulta alrededor de 280 nm, sin embargo, no es recomendable debido a la interferencia por productos de carbohidratos, furfural e hidroximetilfurfural que se forman después de la hidrólisis ácida (Prinsen, 2010), por lo que se ha recomendado medirla a 205 nm, ya que la interferencia no es significativa a esta longitud de onda aunque pueden interferir algunos monosacáridos, por lo que en esta investigación la lignina ácido soluble se analizó a 205 nm (Hatfield y Fukushima, 2005).

Finalmente, a las muestras de lignina se le determinó el contenido fenólico total por el ensayo de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante por el ensayo de ORAC y DPPH. Los resultados de estos ensayos se muestran en el Cuadro 11. Respecto al contenido fenólico, los resultados obtenidos oscilaron entre el 3.41-16.90 mg EAG·100 g<sup>-1</sup> y la capacidad antioxidante se encontró entre 0.80-3.90 μmol ET·g<sup>-1</sup> en ORAC y entre 1.80-2.55 mmol ET·g<sup>-1</sup> en DPPH.

**Cuadro 11.** Fenoles totales (mg EAG·100 g<sup>-1</sup>) y capacidad antioxidante ORAC (mg EAG·100 g<sup>-1</sup>) y DPPH (mmol ET·g<sup>-1</sup>) de lignina de órganos de la planta de maíz.

Órgano de la planta de maíz	Fenoles totales (mg EAG·100 g <sup>-1</sup> PS)	ORAC (μmol ET·g <sup>-1</sup> PS)	DPPH (mmol ET·g <sup>-1</sup> PS)
Raíz	8.56 ± 3.33	3.90 ± 0.35	1.80 ± 0.16
Olote	16.90 ± 6.96	3.55 ± 0.74	2.55 ± 0.01
Tallo	5.62 ± 1.52	1.88 ± 0.04	2.41 ± 0.01
Hoja verdadera	3.84 ± 1.16	1.94 ± 0.74	2.15 ± 0.17
Hoja mazorca	3.41 ± 0.65	1.52 ± 0.31	2.17 ± 0.01
Grano	ND	0.80 ± 0.35	2.41 ± 0.28

EAG, Equivalentes de Ácido Gálico. ND, No Detectado. ET, Equivalentes de Trólox. PS, Peso seco



Reportes en la literatura mencionan al polímero de la lignina por tener la capacidad de secuestrar radicales libres debido al contenido de grupos hidroxilo fenólicos en su estructura, por lo que es reconocida como un antioxidante de origen natural (Dizhbite et al., 2004).

Por otro lado, algunos autores sugieren que la capacidad antioxidante de la lignina se relaciona positivamente con el contenido fenólico ligado, sin embargo en los resultados esto no se observó (Cuadro 12). Asimismo, no se observó una relación entre el contenido de lignina total y el contenido fenólico total. Este comportamiento es similar al reportado por Vanderghem et al. (2014).

**Cuadro 12.** Fenoles totales (mg EAG·100 g<sup>-1</sup> PS) de extractos con fenoles libres y ligados y lignina total (%) de órganos de la planta de maíz.

<b>Contenido fenólico total (mg EAG·100 g<sup>-1</sup> PS)</b>				
<b>Órgano de la planta de maíz</b>	<b>Ligados</b>	<b>Libres</b>	<b>Total</b>	<b>Lignina total (%)</b>
Grano	164.9 ± 16.71	54.77 ± 5.01	219.67 ± 21.72	4.88
Hoja mazorca	1276.49 ± 221.91	144.45 ± 29.69	1420.93 ± 252	11.66
Hoja verdadera	317.63 ± 110.34	260.62 ± 41.64	578.25 ± 152	25.81
Olote	639.78 ± 81.18	305.47 ± 50.30	945.25 ± 131	17.75
Raíz	425.12 ± 89.79	490.82 ± 60.70	915.94 ± 150	32.12
Tallo	451.21 ± 82.03	482.61 ± 59.98	933.82 ± 152	25.70

EAG, Equivalentes de Ácido Gálico. PS, Peso seco

La presencia de carbohidratos residuales así como hidroxilos alifáticos puede alterar la capacidad antioxidante, al igual que la conformación de los monómeros de la lignina.

Por último, el método de aislamiento de la lignina puede afectar el valor de la capacidad antioxidante, también el ensayo puede no ser muy adecuado para el evaluar la capacidad antioxidante (Vanderghem et al., 2014).

## CONCLUSIONES

El contenido de fenoles totales (libres y ligados) fue mayor en hoja de mazorca (1420.94 mg EAG·100 g<sup>-1</sup> de peso seco), por lo que es la parte de la planta con mayor potencial para la extracción de los mismos. En la capacidad antioxidante evaluada por ORAC en los extractos ligados, el tallo y olote presentaron los valores más altos con 591.41 y 437.34 μmol ET·g<sup>-1</sup>, respectivamente. En los extractos libres también se encontró capacidad antioxidante, el valor mayor resultó en la raíz con 170.3 μmol ET·g<sup>-1</sup> y el valor menor en el grano con 15.43 μmol ET·g<sup>-1</sup>. En el ensayo de capacidad antioxidante de DPPH, los valores significativamente más altos en la fracción libre se obtuvieron en el olote y tallo con 11.51 mmol ET·g<sup>-1</sup> y 11.75 mmol ET·g<sup>-1</sup>, respectivamente, mientras que el valor menor se obtuvo para la hoja de mazorca con 2.39 mmol ET·g<sup>-1</sup>. Los valores más altos en la fracción ligada se obtuvieron en olote y hoja de mazorca, ambos con 5.54 mmol ET·g<sup>-1</sup> y las demás fracciones oscilaron entre 4.30 y 5.38 mmol ET·g<sup>-1</sup>. En el análisis del perfil fenólico de los extractos libres de todas las estructuras de la planta de maíz, no se obtuvieron resultados, sin embargo, en los extractos ligados se identificaron y cuantificaron dos ácidos hidroxicinámicos (ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico) con los estándares que se tenían. En la determinación del contenido de lignina Klason, la raíz resultó con el valor más alto (32.12%) y el grano con el valor más bajo (4.88 %), y en el contenido fenólico de la lignina, los resultados obtenidos oscilaron entre el 3.41-16.90 mg EAG·100 g<sup>-1</sup> y la capacidad antioxidante se encontró entre 0.80-3.90 μmol ET·g<sup>-1</sup> en ORAC y entre 1.80-2.55 mmol ET·g<sup>-1</sup> en DPPH. El contenido de la lignina no se relacionó con el contenido fenólico ligado.

## **RECOMENDACIONES**

Se recomienda realizar estudios de factibilidad económica de la extracción de compuestos fenólicos a partir de la planta de maíz, en conjunto con metodologías que hagan eficiente el proceso.

Para identificar los componentes de los extractos que contenían fenólicos libres así como los picos no identificados en los extractos que contenían fenólicos ligados, se recomienda realizar espectrometría de masas.

## REFERENCIAS

- Adom, K.K., Liu, R.H., 2002. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(21), 6182-6187.
- Adom, K.K., Sorrells, M.E., Liu, R.H., 2005. Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(6), 2297-2306.
- Ainsworth, E.A., Gillespie, K.M., 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols* 2(4), 875-877.
- Ali, I.B.E.H., Bahri, R., Chaouachi, M., Boussaïd, M., Harzallah-Skhiri, F., 2014. Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicus* Poir. organs. *Industrial Crops and Products* 62, 188-195.
- Amendola, D., De Faveri, D.M., Egües, I., Serrano, L., Labidi, J., Spigno, G., 2012. Autohydrolysis and organosolv process for recovery of hemicelluloses, phenolic compounds and lignin from grape stalks. *Bioresource Technology* 107, 267-274.
- Ayala-Soto, F.E., Serna-Saldívar, S.O., García-Lara, S., Pérez-Carrillo, E., 2014. Hydroxycinnamic acids, sugar composition and antioxidant capacity of arabinoxylans extracted from different maize fiber sources. *Food Hydrocolloids* 35, 471-475.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99(1), 191-203.
- Barceló, A.R., Ros, L.G., Gabaldón, C., López-Serrano, M., Pomar, F., Carrión, J., Pedreño, M., 2004. Basic peroxidases: the gateway for lignin evolution? *Phytochemistry Reviews* 3(1-2), 61-78.
- Boudebaz, K., Nia, S., Ayadi, M.T., Cherif, J.K., 2015. The effect of extraction method on antioxidant activity of *Atractylis babelii* Hochr. leaves and flowers extracts. *Algerian Journal of Natural Products* 3(2), 146-152.
- Bravo, L., 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56(11), 317-333.
- Britannica, E., 2015. Corn: composition of a corn kernel. <<http://kids.britannica.com/comptons/art-181448>>.
- Buranov, A.U., Mazza, G., 2008. Lignin in straw of herbaceous crops. *Industrial Crops and Products* 28(3), 237-259.
- Cabrera-Soto, M.L., Salinas-Moreno, Y., Velázquez-Cardelas, 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.

Cooper, R., Nicola, G., 2014. Phenolic Compounds Natural Products Chemistry: Sources, Separations and Structures. CRC Press, Florida, p. 69.

Čukelj, N., Novotny, D., Ćurić, D., 2010. Antioxidant properties of whole grain cereals. *Croatian Journal of Food Technology and Nutrition* 5(1-2), 18-23.

Chundawat, S.P., Venkatesh, B., Dale, B.E., 2007. Effect of particle size based separation of milled corn stover on AFEX pretreatment and enzymatic digestibility. *Biotechnology and Bioengineering* 96(2), 219-231.

D'Archivio, M., Filesì, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R., 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita* 43(4), 348.

Das, A.K., Singh, V., 2015. Antioxidative free and bound phenolic constituents in pericarp, germ and endosperm of Indian dent (*Zea mays* var. *indentata*) and flint (*Zea mays* var. *indurata*) maize. *Journal of Functional Foods* 13, 363-374.

Dizhbite, T., Telysheva, G., Jurkjane, V., Viesturs, U., 2004. Characterization of the radical scavenging activity of lignins—natural antioxidants. *Bioresource Technology* 95(3), 309-317.

Doherty, W.O., Mousavioun, P., Fellows, C.M., 2011. Value-adding to cellulosic ethanol: Lignin polymers. *Industrial Crops and products* 33(2), 259-276.

Dong, J., Cai, L., Zhu, X., Huang, X., Yin, T., Fang, H., Ding, Z., 2014. Antioxidant activities and phenolic compounds of cornhusk, corncob and stigma maydis. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 25(11), 1956-1964.

Ehrman, T., 1996. Determination of acid-soluble lignin in biomass. National Renewable Energy Laboratory, Technical Report NREL-LAP-004, Golden, CO.

El Mansouri, N.E., Yuan, Q., Huang, F., 2011. Characterization of alkaline lignins for use in phenol-formaldehyde and epoxy resins. *Bioresources* 6(3), 2647-2662.

Espinoza-Acosta, J.L., Torres-Chávez, P.I., Ramírez-Wong, B., Bello-Pérez, L.A., Vega Ríos, A., Carvajal Millán, E., Plascencia Jatomea, M., Ledesma Osuna, A.I., 2015. Mechanical, thermal, and antioxidant properties of composite films prepared from durum wheat starch and lignin. *Starch-Stärke* 67(5-6), 502-511.

FAO, 1992. Chemical composition and nutritional value of maize, Maize in human nutrition. Rome.

FAO, 1993. El maíz en la nutrición humana. <<http://www.fao.org/docrep/t0395s/T0395S02.htm>> (Fecha de acceso: 08-07.16).

FAO, 2014. Producción de maíz en el mundo. <<http://faostat3.fao.org/search/produccion%20de%20maiz/S>>.

Farag, R., El-Baroty, G., Basuny, A.M., 2003. Safety evaluation of olive phenolic compounds as natural antioxidants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 54(3), 159-174.

FIRA, 2015. Panorama Agroalimentario. <[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/61952/Panorama\\_Agroalimentario\\_Ma\\_z\\_2015.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/61952/Panorama_Agroalimentario_Ma_z_2015.pdf)> (Fecha de acceso: 12-06.16).

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.

Hatfield, R., Fukushima, R.S., 2005. Can lignin be accurately measured? *Crop Science* 45(3), 832-839.

Hernández, M.H., 2013. Utilización de lignina de olote de maíz como componente en películas base almidón., *Ingeniería Química*. Universidad Iberoamericana, Ciudad de México, pp. 7-8.

Holasova, M., Fiedlerova, V., Smrcinova, H., Orsak, M., Lachman, J., Vavreinova, S., 2002. Buckwheat—the source of antioxidant activity in functional foods. *Food Research International* 35(2), 207-211.

Hosseinian, F., Mazza, G., 2009. Triticale bran and straw: potential new sources of phenolic acids, proanthocyanidins, and lignans. *Journal of Functional Foods* 1(1), 57-64.

Hrazdina, G., 1992. Biosynthesis of flavonoids, *Plant Polyphenols*. Springer, pp. 61-72.

Integrated Taxonomic Information System, I., 2016. *Zea mays* var. *mays* L. <[http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=798648](http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=798648)> (Fecha de acceso: 12-06.16).

Irakli, M.N., Samanidou, V.F., Biliaderis, C.G., Papadoyannis, I.N., 2012. Development and validation of an HPLC-method for determination of free and bound phenolic acids in cereals after solid-phase extraction. *Food Chemistry* 134(3), 1624-1632.

Kaur, R., Uppal, S., 2015. Structural characterization and antioxidant activity of lignin from sugarcane bagasse. *Colloid and Polymer Science* 293(9), 2585-2592.

Kováčová, M., Malinová, E., 2007. Ferulic and coumaric acids, total phenolic compounds and their correlation in selected oat genotypes. *Czech Journal of Food Sciences* 25, 325-332.

Kumar, A., Jat, S.L., Kumar, R., Yadav, O.P., 2013. Maize production systems for improving resource-use efficiency and livelihood security, in: Kumar, B., Jat, S.L., G, M., Yatish, K.R. (Eds.), *Maize production systems for improving*

resource-use efficiency and livelihood security. Directorate of Maize Research, New Delhi, pp. 88-92.

Kurakake, M., Hirotsu, S., Shibata, M., Kubota, A., Makino, A., 2015. Lignin antioxidants extracted from lignocellulosic biomasses by treatment with ammonia water. *Industrial Crops and Products* 77, 1028-1032.

Lattanzio, V., Lattanzio, V.M., Cardinali, A., 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects, *Phytochemistry: Advances in research*. pp. 23-67.

Lee, D., 2007. Composition of herbaceous biomass feedstocks. North Central Sun Grant Center, South Dakota State University.

Lempereur, I., Rouau, X., Abecassis, J., 1997. Genetic and agronomic variation in arabinoxylan and ferulic acid contents of durum wheat (*Triticum durum*L.) grain and its milling fractions. *Journal of Cereal Science* 25(2), 103-110.

Li, M.-F., Sun, S.-N., Xu, F., Sun, R.-C., 2012. Microwave-assisted organic acid extraction of lignin from bamboo: Structure and antioxidant activity investigation. *Food Chemistry* 134(3), 1392-1398.

Liu, R.H., 2007. Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science* 46(3), 207-219.

Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F., 2006. Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(4), 1256-1264.

Lopez-Martinez, L.X., Oliart-Ros, R.M., Valerio-Alfaro, G., Lee, C.-H., Parkin, K.L., Garcia, H.S., 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Science and Technology* 42(6), 1187-1192.

Lu, F.J., Chu, L.H., Gau, R.J., 1998. Free radical-scavenging properties of lignin. *Nutrition and Cancer* 30(1), 31-38.

Luthria, D.L., Liu, K., Memon, A.A., 2012. Phenolic acids and antioxidant capacity of distillers dried grains with solubles (DDGS) as compared with corn. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 89(7), 1297-1304.

Machinet, G.E., Bertrand, I., Barrière, Y., Chabbert, B., Recous, S., 2011. Impact of plant cell wall network on biodegradation in soil: Role of lignin composition and phenolic acids in roots from 16 maize genotypes. *Soil Biology and Biochemistry* 43(7), 1544-1552.

Madhujith, T., Shahidi, F., 2009. Antioxidant potential of barley as affected by alkaline hydrolysis and release of insoluble-bound phenolics. *Food Chemistry* 117(4), 615-620.

Maillard, M.-N., Berset, C., 1995. Evolution of antioxidant activity during kilning: role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43(7), 1789-1793.

- Mansfield, S.D., Kim, H., Lu, F., Ralph, J., 2012. Whole plant cell wall characterization using solution-state 2D NMR. *Nature Protocols* 7(9), 1579-1589.
- Masisi, K., Beta, T., Moghadasian, M.H., 2016. Antioxidant properties of diverse cereal grains: A review on in vitro and in vivo studies. *Food Chemistry* 196, 90-97.
- Mendes, C.A.D.C., Adnet, F.A.D.O., Leite, M.C.A.M., Furtado, C.R.G., De Sousa, A.M.F., 2015. Chemical, physical, mechanical, thermal and morphological characterization of corn husk residue. *Cellulose Chemistry and Technology* 1, 10.
- Menon, V., Rao, M., 2012. Trends in bioconversion of lignocellulose: biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. *Progress in Energy and Combustion Science* 38(4), 522-550.
- Mondragón, C.M., 2004. Estudio comparativo de cambios estructurales y funcionales en almidones de maíz nixtamalizado. Instituto Politécnico Nacional, Tamaulipas, pp. 3-6.
- Moore, J., Yu, L., 2008. Methods for Antioxidant Capacity Estimation of Wheat and Wheat-Based Food Products, in: Liangli, Y. (Ed.) *Wheat Antioxidants*. Wiley, Canada, pp. 120-125.
- Moreira-Vilar, F.C., de Cássia Siqueira-Soares, R., Finger-Teixeira, A., de Oliveira, D.M., Ferro, A.P., da Rocha, G.J., Maria de Lourdes, L.F., dos Santos, W.D., Ferrarese-Filho, O., 2014. The acetyl bromide method is faster, simpler and presents best recovery of lignin in different herbaceous tissues than klason and thioglycolic acid methods. *PloS one* 9(10), e110000.
- Nile, S.H., Park, S.W., 2014. Antioxidant,  $\alpha$ -Glucosidase and Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Bioactive Compounds From Maize (*Zea mays* L.). *Chemical Biology & Drug Design* 83(1), 119-125.
- Nordkvist, E., Salomonsson, A.C., Åman, P., 1984. Distribution of insoluble bound phenolic acids in barley grain. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 35(6), 657-661.
- Okarter, N., 2012. Phenolic compounds from the insoluble-bound fraction of whole grains do not have any cellular antioxidant activity. *Life Sciences and Medicine Research*.
- Ou, J., Sun, Z., 2014. Feruloylated oligosaccharides: structure, metabolism and function. *Journal of Functional Foods* 7, 90-100.
- Paliwal, R.L., Granados, G., Lafitte, H.R., Violic, A.D., Marathée, J.-P., 2001. El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Pan, X., Kadla, J.F., Ehara, K., Gilkes, N., Saddler, J.N., 2006. Organosolv ethanol lignin from hybrid poplar as a radical scavenger: relationship between



lignin structure, extraction conditions, and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(16), 5806-5813.

Peterson, G.L., 1979. Review of the Folin phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall. *Analytical Biochemistry* 100(2), 201-220.

Prinsen, P., 2010. Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas, *Biotecnología Vegetal*. Universidad de Sevilla, España, p. 52.

Retes-Mantilla, R.F., Torres-Mancera, M.T., Lugardo-Bravo, M.T., 2015. Ventajas económicas para la industria de alimentos y bebidas en México con el uso de la vainillina obtenida del nejayote, [http://www.custoseagronegocioonline.com.br/numero3v11/5%20vainillina%20en%20english.pdf](http://www.custoseagronegocioonline.com.br/numero3v11/5%20vainillina%20en%20ingles.pdf). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil, pp. 86-105.

Rispail, N., Morris, P., Webb, K.J., 2005. Phenolic compounds: extraction and analysis, *Lotus japonicus handbook*. Springer, pp. 349-354.

Rivas, B., Dominguez, J., Dominguez, H., Parajó, J., 2002. Bioconversion of posthydrolysed autohydrolysis liquors: an alternative for xylitol production from corn cobs. *Enzyme and Microbial Technology* 31(4), 431-438.

Rosa, L., Silva, N., Soares, N., Monteiro, M., Teodoro, A., 2016. Anticancer Properties of Phenolic Acids in Colon Cancer â A Review. *Journal of Nutrition & Food Sciences* 2016.

Santiago, R., Malvar, R.A., 2010. Role of dehydrodiferulates in maize resistance to pests and diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 11(2), 691-703.

Saulnier, L., Marot, C., Chanliaud, E., Thibault, J.-F., 1995. Cell wall polysaccharide interactions in maize bran. *Carbohydrate Polymers* 26(4), 279-287.

Schaich, K., Tian, X., Xie, J., 2015. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods* 14, 111-125.

Schroyen, M., Vervaeren, H., Vandepitte, H., Van Hulle, S.W., Raes, K., 2015. Effect of enzymatic pretreatment of various lignocellulosic substrates on production of phenolic compounds and biomethane potential. *Bioresource Technology* 192, 696-702.

SIAP-SAGARPA, 2014. Maíz forrajero. México.

Singh, N., Kaur, A., Shevkani, K., 2014. Maize: grain structure, composition, milling, and starch characteristics, *Maize: Nutrition dynamics and novel uses*. Springer, pp. 65-76.

Staniforth, V., Huang, W.-C., Aravindaram, K., Yang, N.-S., 2012. Ferulic acid, a phenolic phytochemical, inhibits UVB-induced matrix metalloproteinases in mouse skin via posttranslational mechanisms. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 23(5), 443-451.

Stevanovic, T., Diouf, P.N., Garcia-Perez, M.E., 2009. Bioactive polyphenols from healthy diets and forest biomass. *Current Nutrition & Food Science* 5(4), 264-295.

Strassberger, Z., Tanase, S., Rothenberg, G., 2014. The pros and cons of lignin valorisation in an integrated biorefinery. *RSC Advances* 4(48), 25310-25318.

Šukalović, V.H.-T., Vuletić, M., 2003. The characterization of peroxidases in mitochondria of maize roots. *Plant Science* 164(6), 999-1007.

Šukalović, V.H.-T., Vuletić, M., Vučinić, Ž., 2005. The role of p-coumaric acid in oxidative and peroxidative cycle of the ionically bound peroxidase of the maize root cell wall. *Plant Science* 168(4), 931-938.

Sun, R., Sun, X., Wang, S., Zhu, W., Wang, X., 2002. Ester and ether linkages between hydroxycinnamic acids and lignins from wheat, rice, rye, and barley straws, maize stems, and fast-growing poplar wood. *Industrial Crops and Products* 15(3), 179-188.

Suryanto, E., Momuat, L.I., Yudistira, A., Wehantouw, F., 2013. The evaluation of singlet oxygen quenching and sunscreen activity of corn cob extract. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 267-276.

Taiz, L., Zeiger, E., 2006. *Fisiologia vegetal*, Universitat Jaume I, pp. 610-612.

TAPPI, 2002. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. *TAPPI Test Method T222*.

Torre, P., Aliakbarian, B., Rivas, B., Domínguez, J.M., Converti, A., 2008. Release of ferulic acid from corn cobs by alkaline hydrolysis. *Biochemical Engineering Journal* 40(3), 500-506.

Uzal, E.N., 2008. *Lignificación en cultivos celulares de gimnospermas basales*, Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología. Universidade da Coruña, La Coruña, pp. 12-15.

Van Dyk, J., Pletschke, B., 2012. A review of lignocellulose bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between enzymes—factors affecting enzymes, conversion and synergy. *Biotechnology Advances* 30(6), 1458-1480.

Vanderghem, C., Jacquet, N., Richel, A., 2014. Can Lignin Wastes Originating From Cellulosic Ethanol Biorefineries Act as Radical Scavenging Agents? *Australian Journal of Chemistry* 67(11), 1693-1699.

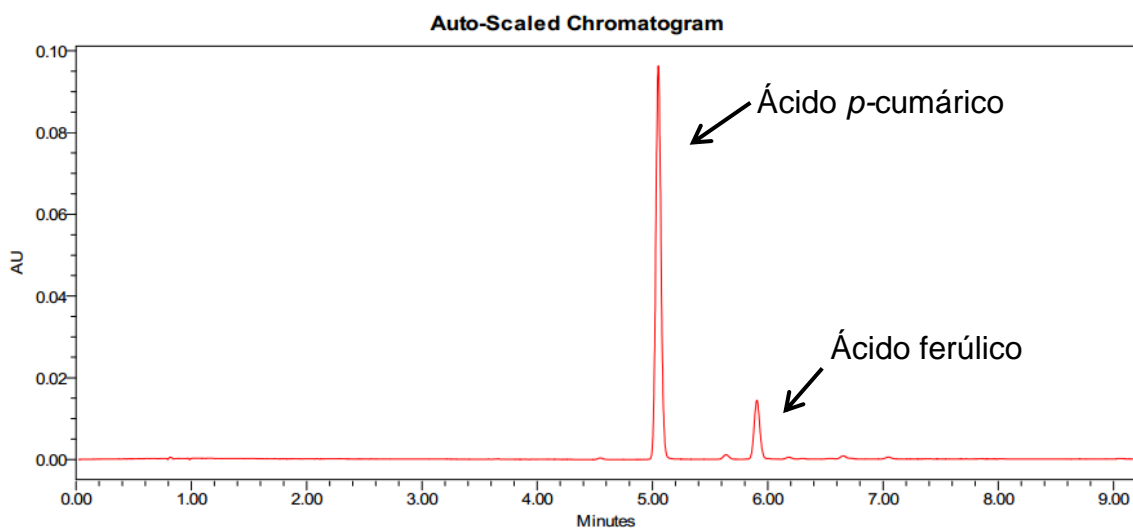
Vélez Izquierdo, A., Guevara Hernandez, F., Gomez Castro, H., Ovando Cruz, J., Hellin, J., Espinosa Garcia, J., Sonder, K., Rodriguez Larramendi, L., Reyes Muro, L., Fonseca Flores, M., 2013. *Rastrojos: manejo, uso y mercado en el centro y sur de México*.

Vijayalaxmi, S., Jayalakshmi, S., Sreeramulu, K., 2015. Polyphenols from different agricultural residues: extraction, identification and their antioxidant properties. *Journal of Food Science and Technology* 52(5), 2761-2769.

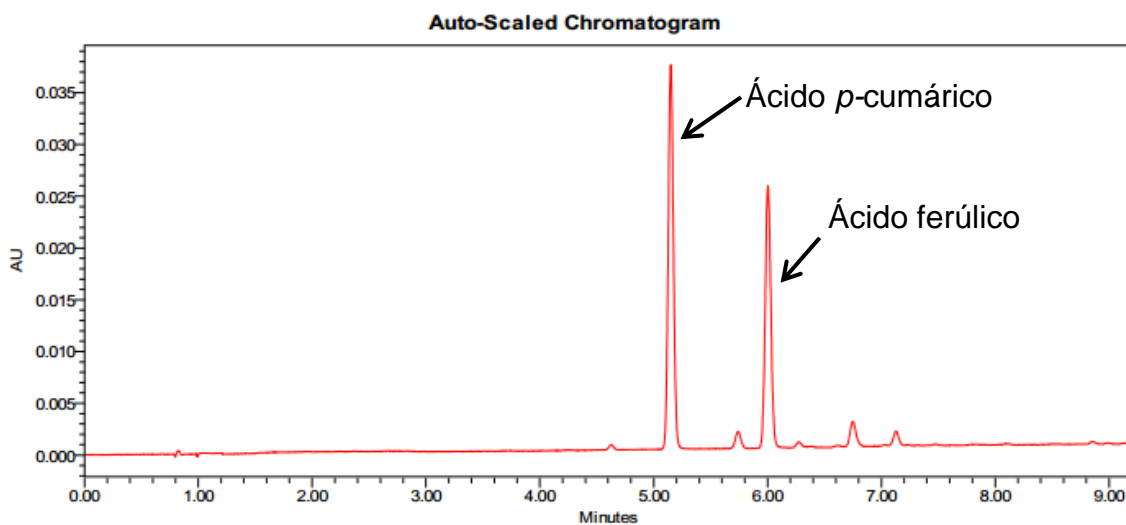
Wang, G., Chen, H., 2016. Enhanced lignin extraction process from steam exploded corn stalk. *Separation and Purification Technology* 157, 93-101.

Watson, S.A., Ramstad, P., 1987. Structure and composition. Corn: chemistry and technology., 53-82.

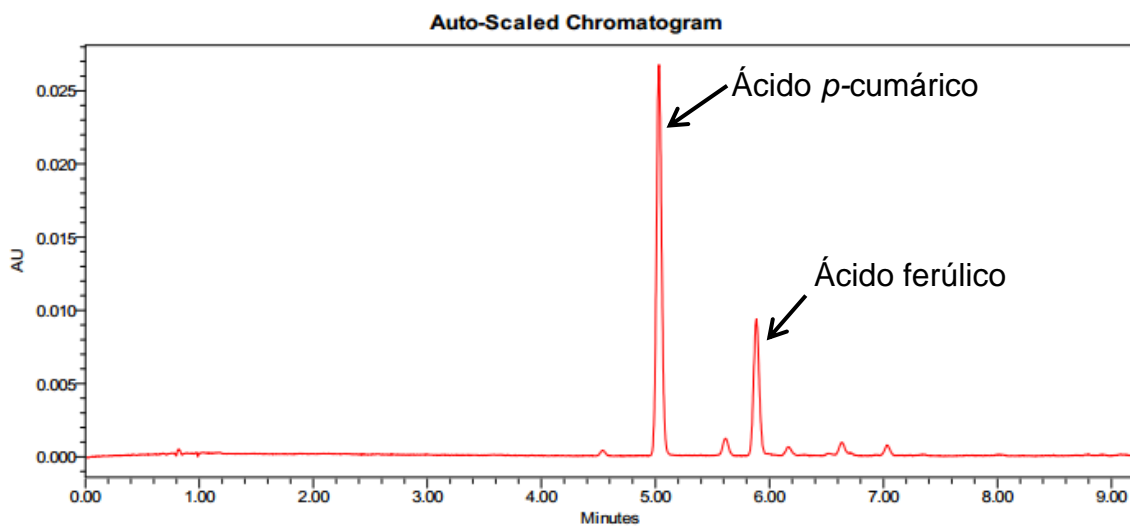
## ANEXO 1



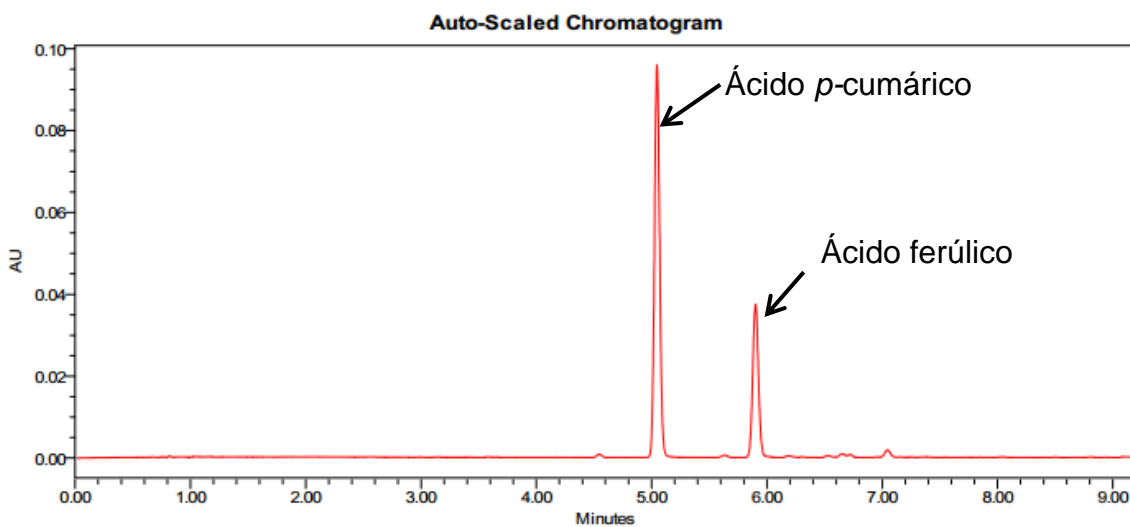
**Figura 9.** Cromatograma de UPLC-PDA (detección a 320 nm) de ácidos fenólicos detectados en extracto ligado de raíz de la planta de maíz.



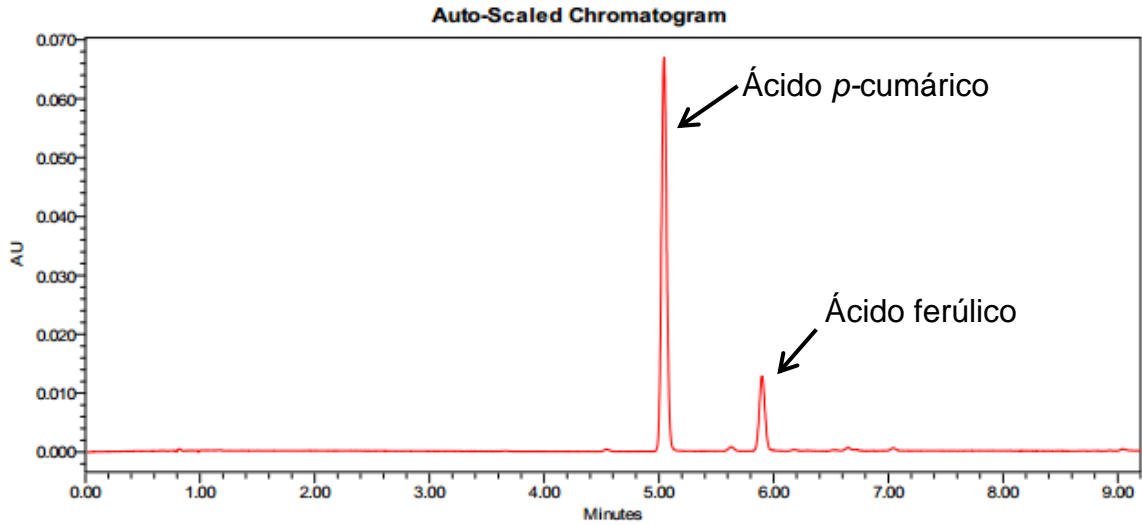
**Figura 10.** Cromatograma de UPLC-PDA (detección a 320 nm) de ácidos fenólicos detectados en extracto ligado de hoja de mazorca de la planta de maíz.



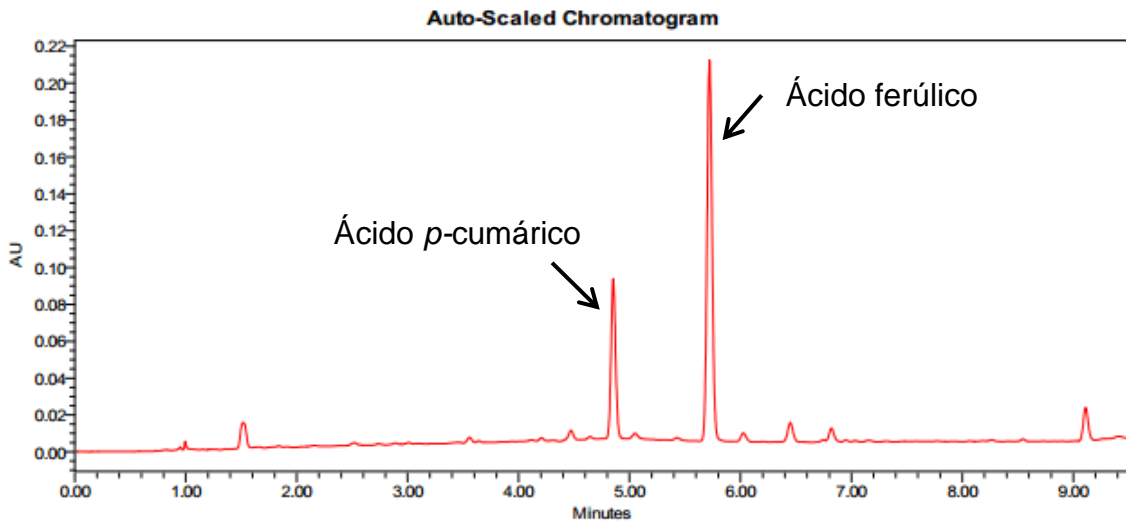
**Figura 11.** Cromatograma de UPLC-PDA (detección a 320 nm) de ácidos fenólicos detectados en extracto ligado de hoja verdadera de maíz.



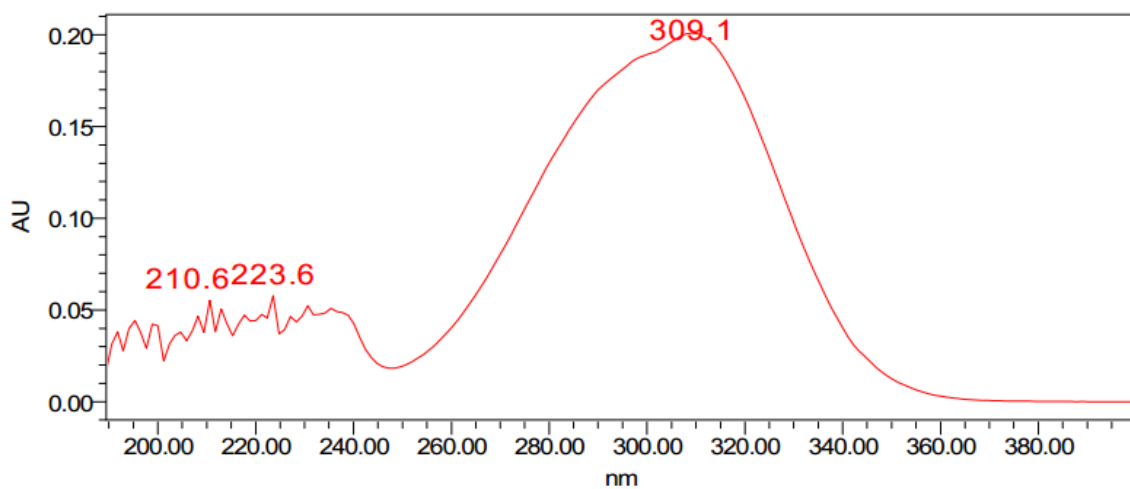
**Figura 12.** Cromatograma de UPLC-PDA (detección a 320 nm) de ácidos fenólicos detectados en extracto ligado de olote de la planta de maíz.



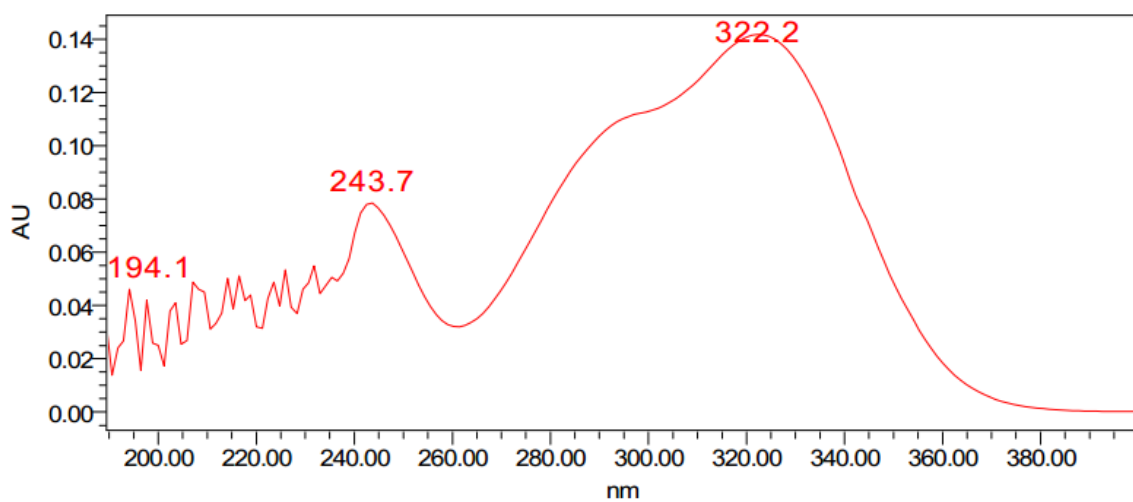
**Figura 13.** Cromatograma de UPLC-PDA (detección a 320 nm) de ácidos fenólicos detectados en extracto ligado de tallo de la planta de maíz.



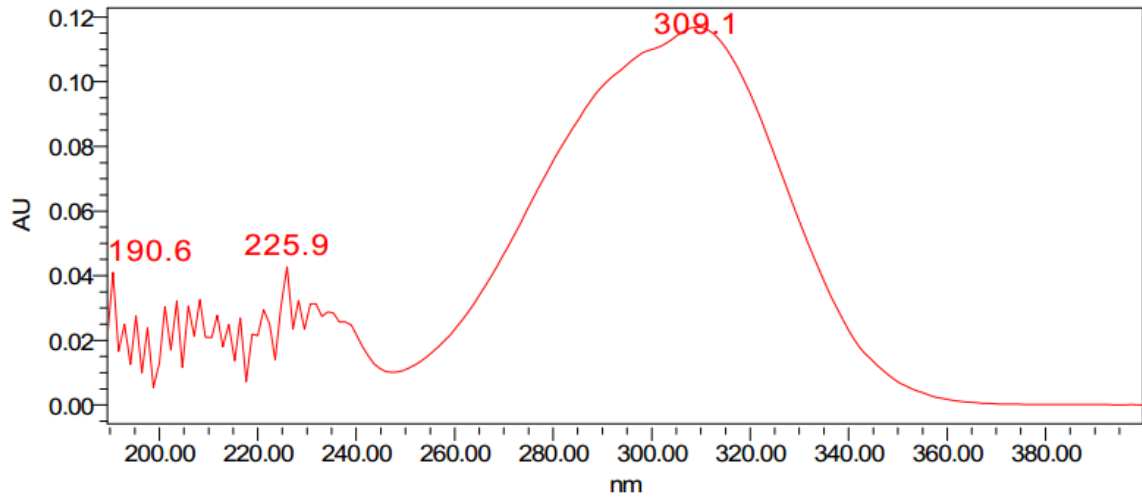
**Figura 14.** Cromatograma de UPLC-PDA (detección a 320 nm) de ácidos fenólicos detectados en extracto ligado de grano de la planta de maíz.



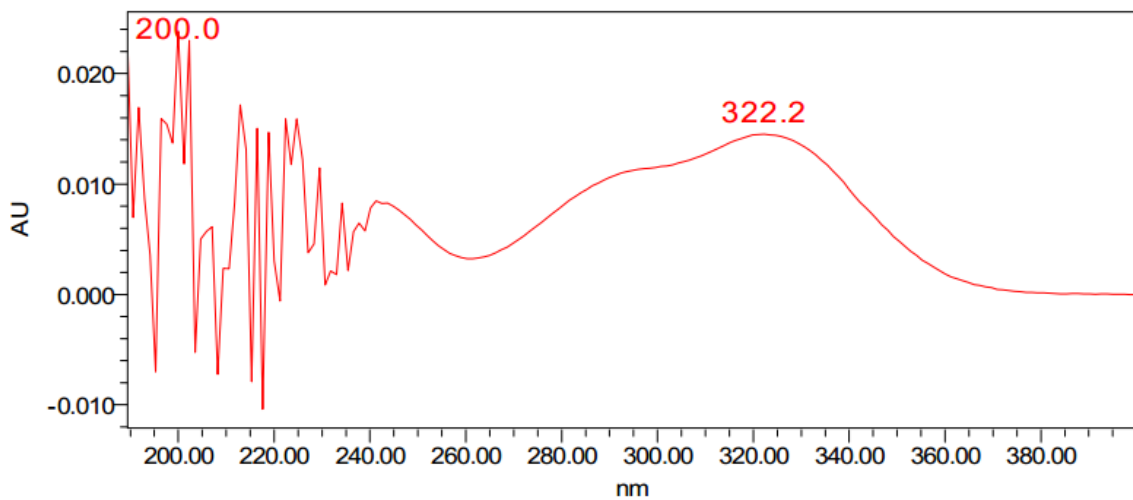
**Figura 15.** Espectro de absorción del estándar de ácido *p*-cumárico obtenido mediante UPLC-PDA.



**Figura 16.** Espectro de absorción del estándar de ácido ferúlico obtenido mediante UPLC-PDA.

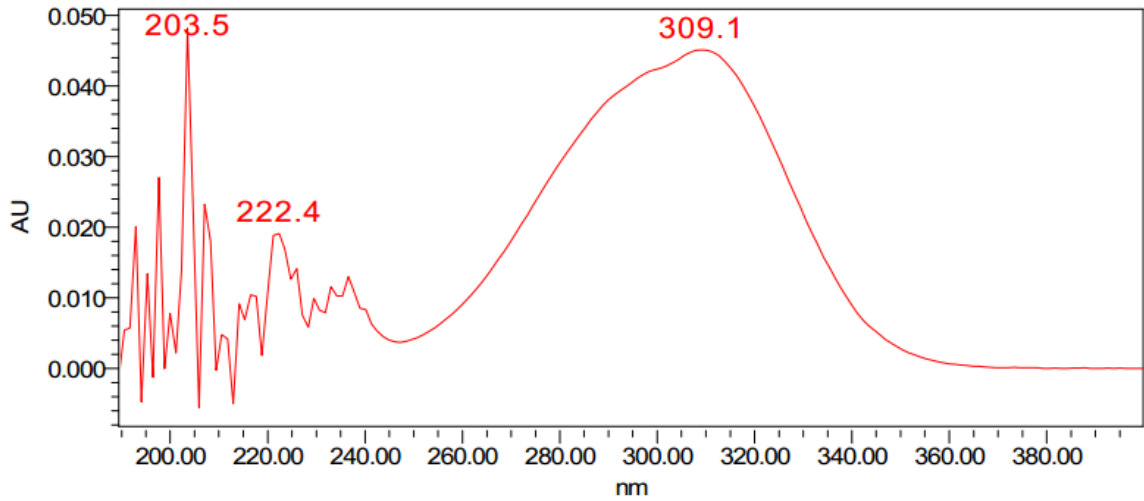


**Figura 17.** Espectro de absorción de ácido *p*-cumárico de raíz obtenido mediante UPLC-PDA.

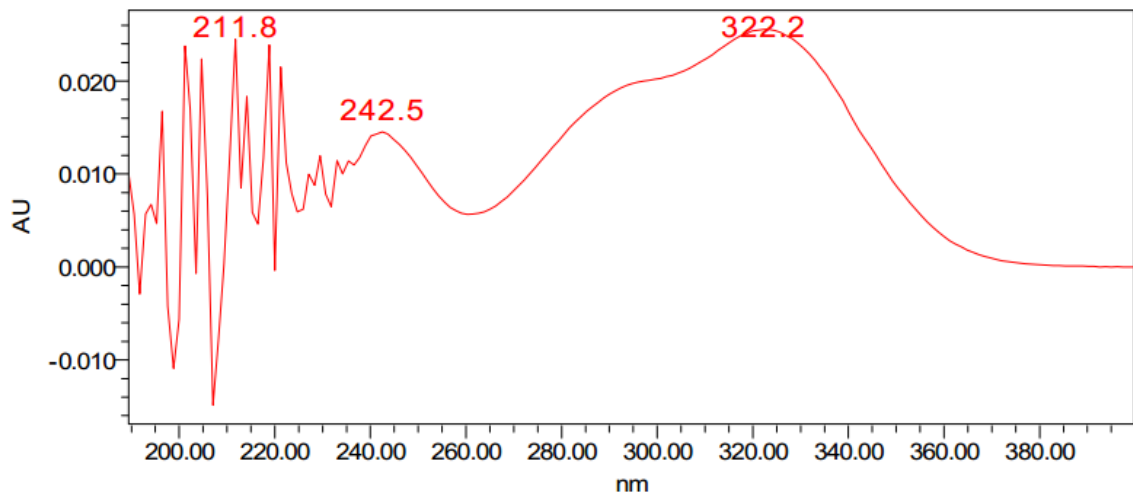


**Figura 18.** Espectro de absorción de ácido ferúlico de raíz obtenido mediante UPLC-PDA.

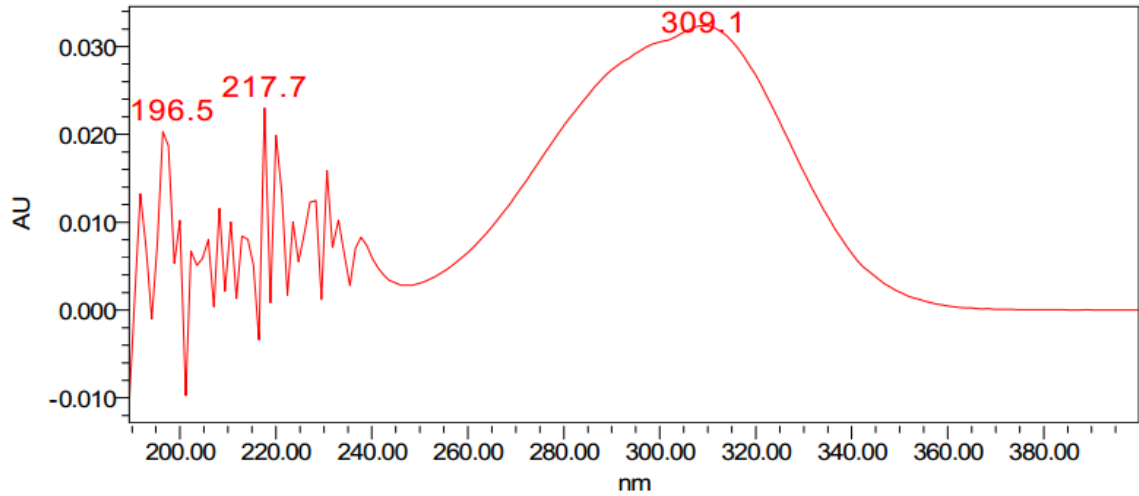




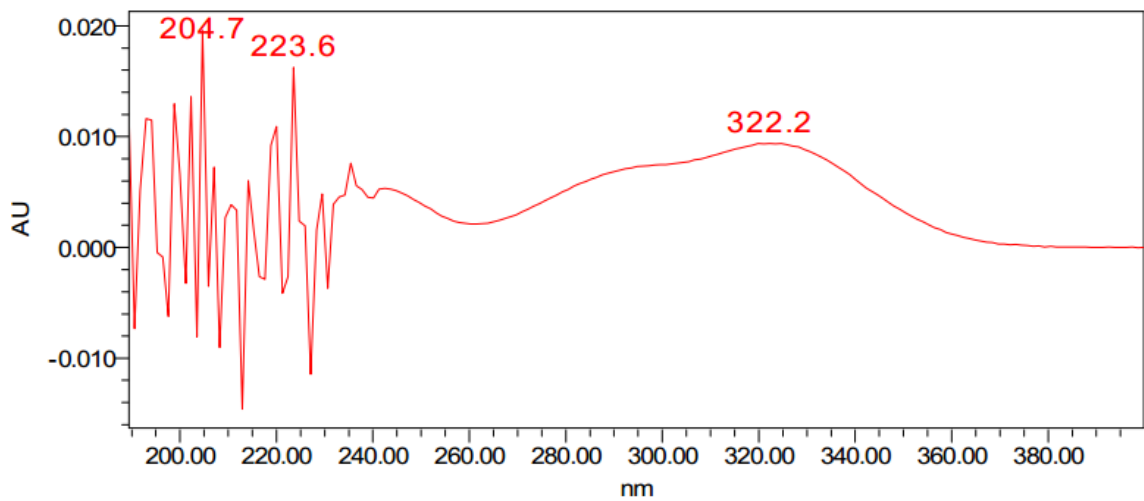
**Figura 19.** Espectro de absorción de ácido *p*-cumárico de hoja de mazorca obtenido mediante UPLC-PDA.



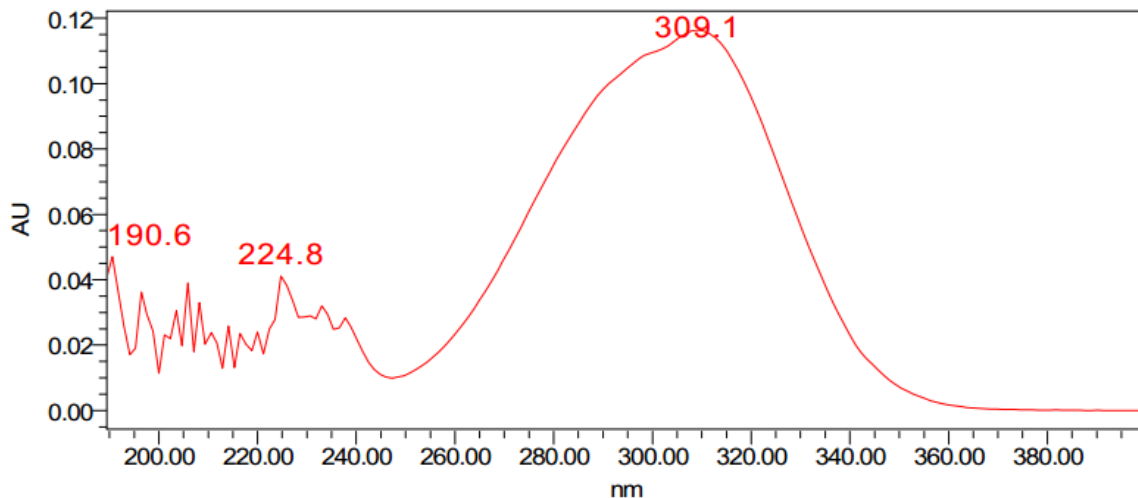
**Figura 20.** Espectro de absorción de ácido ferúlico de hoja de mazorca obtenido mediante UPLC-PDA.



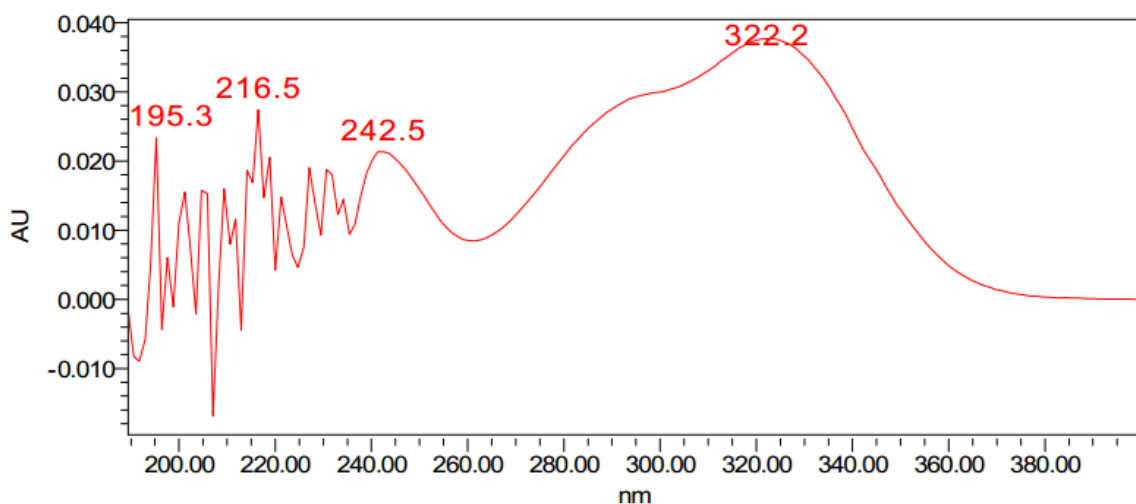
**Figura 21.** Espectro de absorción de ácido *p*-cumárico de hoja verdadera obtenido mediante UPLC-PDA.



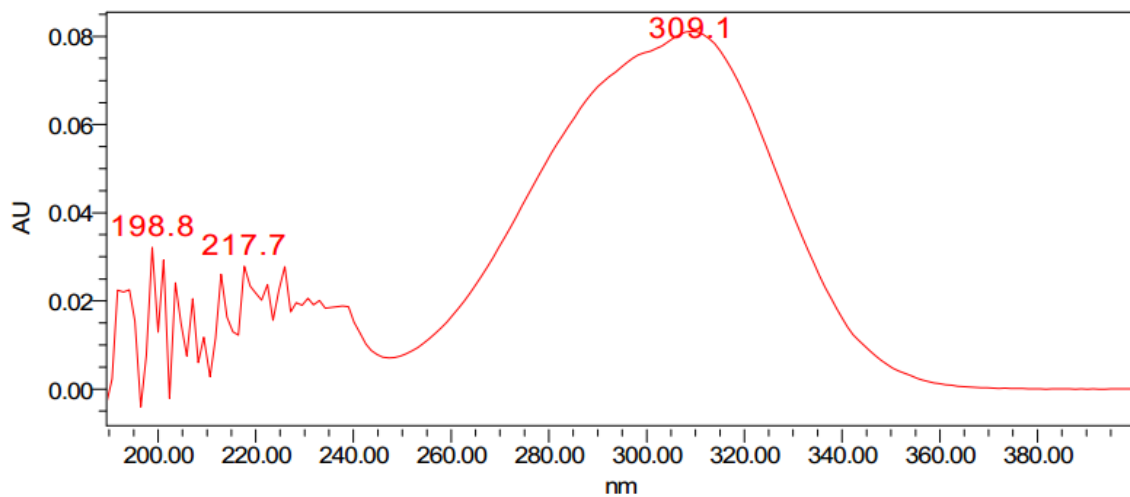
**Figura 22.** Espectro de absorción de ácido ferúlico de hoja verdadera obtenido mediante UPLC-PDA.



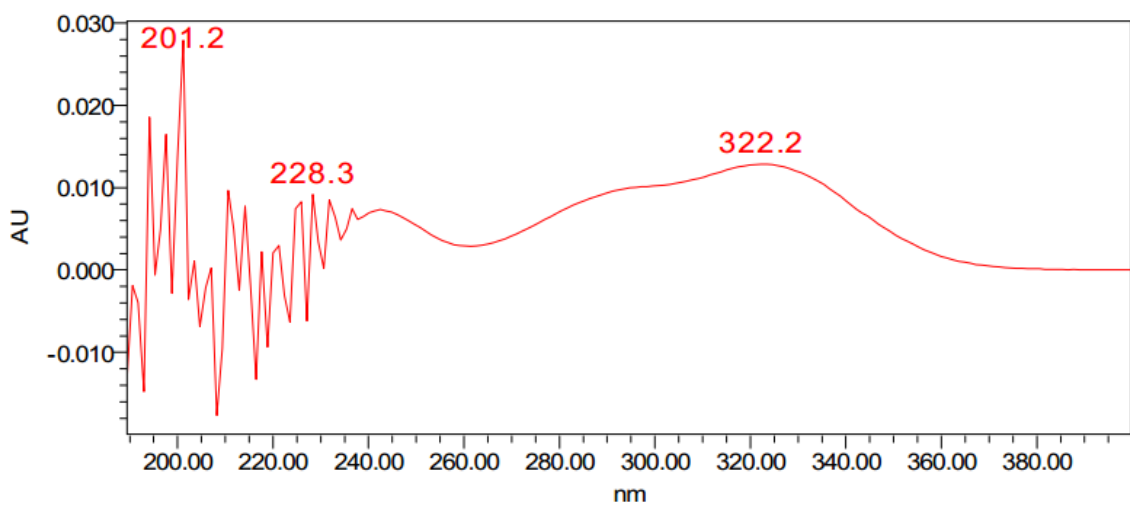
**Figura 23.** Espectro de absorción de ácido *p*-cumárico de olote obtenido mediante UPLC-PDA.



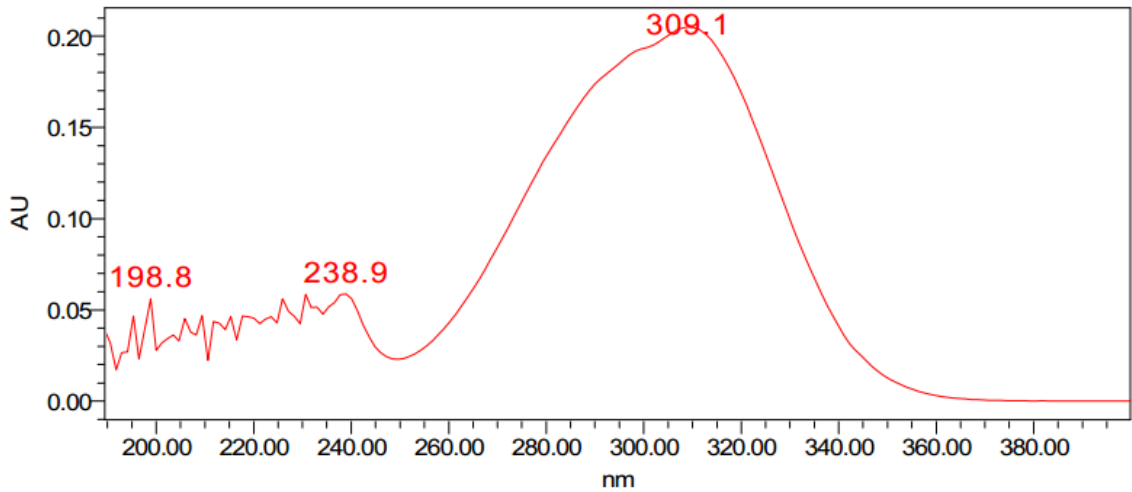
**Figura 24.** Espectro de absorción de ácido ferúlico de olote obtenido mediante UPLC-PDA.



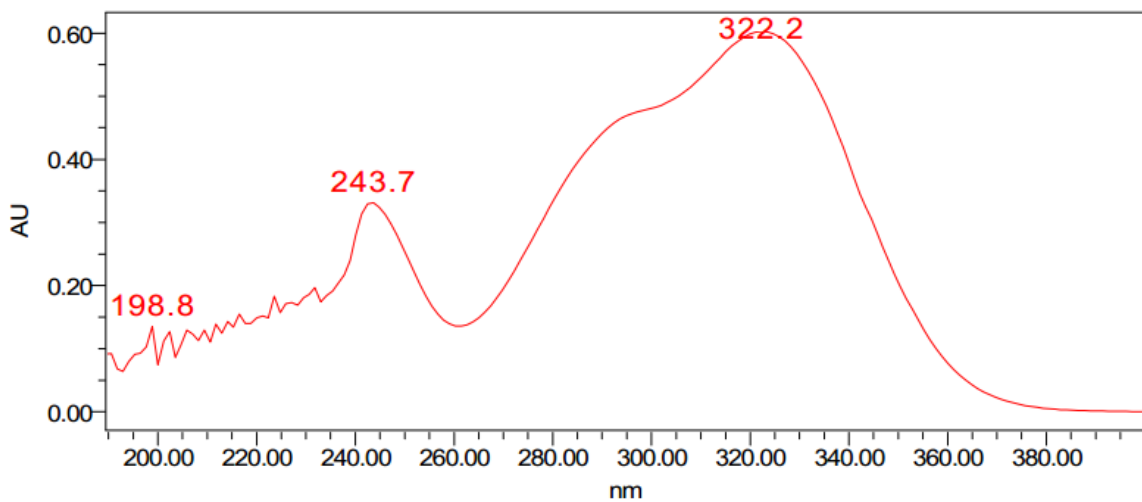
**Figura 25.** Espectro de absorción de ácido *p*-cumárico de tallo obtenido mediante UPLC-PDA.



**Figura 26.** Espectro de absorción de ácido ferúlico de tallo obtenido mediante UPLC-PDA.



**Figura 27.** Espectro de absorción de ácido *p*-cumárico de grano obtenido mediante UPLC-PDA.



**Figura 28.** Espectro de absorción de ácido ferúlico de grano obtenido mediante UPLC-PDA.