



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL**

**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA**

**SEPARACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE SUBPRODUCTOS
DEL PROCESAMIENTO DE MAÍZ**

TESIS

**Que como requisito parcial para
obtener el grado de:**

**MAESTRA EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA**

Presenta:

ABIGAIL LÓPEZ HERRERA

Bajo la supervisión de: SALVADOR VALLE GUADARRAMA, DR.



Chapingo, Estado de México, diciembre de 2024



APROBADA



SEPARACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE SUBPRODUCTOS DEL PROCESAMIENTO DE MAÍZ

Tesis realizada por **ABIGAIL LÓPEZ HERRERA** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

DIRECTOR



DR. SALVADOR VALLE GUADARRAMA

CO-DIRECTORA



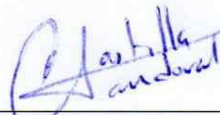
DRA. LÉTICIA GARCÍA CRUZ

ASESOR



**DR. RAFAEL ANGEL DEL SAGRADO
CORAZÓN ORTEGA PACZKA**

ASESORA



DRA. OFELIA SANDOVAL CASTILLA

Chapingo, Estado de México, diciembre de 2024

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
DEDICATORIAS	ix
AGRADECIMIENTOS	x
DATOS BIOGRÁFICOS	xii
RESUMEN GENERAL	xiii
GENERAL ABSTRACT	xiv
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1. Objetivo general	4
1.2. Objetivos específicos	5
1.3. Hipótesis	5
1.4. Organización de la tesis	5
1.5. Literatura citada	6
2. REVISIÓN DE LITERATURA	1
2.1. Maíz (<i>Zea mays</i> L.)	1
2.2. Maíz morado	1
2.3. Clasificación taxonómica y morfológica de la planta	2
2.4. Producción de maíz mundial	3
2.5. Maíz morado: Perú	6
2.6. Variedades de maíz morado	8
2.7. Exportación de maíz morado	9
2.8. Maíz morado: Ecuador	9
2.9. Variedades de maíz morado	11
2.10. Producción de maíz en México	14
2.11. Maíz de color en México	15
2.12. Maíz morado de San Juan Ixtenco Tlaxcala	20

2.13.	Productos de maíz a nivel mundial	21
2.14.	Subproductos de la cosecha de maíz morado	22
2.16.	Sistemas de extracción acuosa en dos fases (ATPE o ATPS)	25
2.17.	Antocianinas	27
2.17.1.	Estructura	28
2.17.2.	Biosíntesis	29
2.17.3.	Factores que afectan la estabilidad	30
2.18.	Comercio de antocianinas	32
2.19.	Métodos de extracción	33
2.20.	Extracción de antocianinas con extracción acuosa en dos fases	33
2.21.	Aplicación de antocianinas de maíz	33
2.22.	Uso de pigmentos en alimentos	40
2.23.	Literatura citada	40
3.	SEPARACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE OLOTE DE MAÍZ MORADO (<i>Zea mays</i> L.)	62
	Resumen	62
	Abstract	63
3.1.	Introducción	64
3.2.	Materiales y métodos	66
3.2.1.	Material vegetal	66
3.2.2.	Molienda	67
3.2.3.	Extracción convencional	67
3.2.4.	Color	67
3.2.5.	Elaboración del diagrama de fases	68
3.2.6.	Selección del punto de operación	69
3.2.7.	Evaluación del efecto de la temperatura	69
3.2.8.	Tiempo de agitación previa a la extracción acuosa en dos fases	69
3.2.9.	Extracción acuosa en dos fases auxiliada con ultrasonificación	70
3.2.10.	Antocianinas totales (ANT)	70
3.2.11.	Fenoles Solubles (FS)	70
3.2.12.	Proantocianidinas (P)	71
3.2.13.	Flavonoides totales (FT)	71
3.2.14.	Azúcares totales (AT)	72

3.2.15.	Análisis proximal	72
3.2.16.	Evaluación del pigmento	72
3.2.17.	Análisis estadístico	73
3.3.	Resultados y discusión	74
3.3.1.	Caracterización del material vegetal	74
3.3.2.	Color	77
3.3.3.	Análisis proximal del olote.....	81
3.3.4.	Selección del material vegetal	82
3.3.5.	Elaboración del diagrama binodal de fases.....	83
3.3.6.	Sistemas acuosos bifásicos	83
3.3.7.	Selección del punto de operación	85
3.3.8.	Efecto de la temperatura	86
3.3.9.	Tiempo de agitación previa a la extracción acuosa en dos fases.....	87
3.3.10.	Extracción acuosa en dos fases auxiliada con ultrasonificación....	88
3.3.11.	Conclusión de condiciones de extracción	89
3.3.12.	Evaluación de compuestos bioactivos	90
3.3.13.	Evaluación del pigmento	94
3.4.	Conclusiones	102
3.5.	Literatura citada	103
4.	CONCLUSIONES GENERALES	115

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica.	2
Cuadro 2. Maíz peruano.	9
Cuadro 3. Variedades de maíz cultivados en la sierra ecuatoriana.	11
Cuadro 4. Cultivos de maíz.	13
Cuadro 5. Razas de maíz mexicano que poseen color en el grano.	18
Cuadro 6. Sistemas acuosos bifásicos utilizados para extraer antocianinas. ..	34
Cuadro 7. Aplicación de las antocianinas extraídas de la planta de maíz morado.	38
Cuadro 8. Identificación de las poblaciones utilizadas.	66
Cuadro 9. Composición fitoquímica de la harina del olote de maíz morado, cultivado en Juchitepec, Estado de México en el ciclo P-V, 2023.	75
Cuadro 10. Composición proximal de olote de maíz morado cultivado en la región de Juchitec, Estado de México.	82
Cuadro 11. Composición de los puntos equidistantes	84
Cuadro 12. Concentración de compuestos bioactivos extraídos por ATPE.....	93
Cuadro 13. Color en yogur comercial de sabor fresa y en yogur natural pigmentado con antocianinas extraídas de olote	96
Cuadro 14. Color en tamales de dulce comerciales y pigmentados con antoicianinas de olote	101

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales países productores de maíz.	4
Figura 2. Consumo humano per cápita anual de maíz	4
Figura 3. Países importadores de maíz.....	5
Figura 4. Países exportadores de maíz.....	6
Figura 5. Producción total de maíz duro seco (grano seco).....	12
Figura 6. Producción total de maíz suave seco (grano seco)	13
Figura 7. Producción nacional de maíz en los ciclos O-I y P-V del año 2023 ..	14
Figura 8. Diversidad de maíces cosechados y comercializados en San Juan Ixtenco, Tlaxcala, México.	17
Figura 9. Productos que se ofertan en la Feria del maíz, San Juan Ixtenco, Tlaxcala, México	21
Figura 10. Macroestructura del olote de maíz morado de San Juan Ixtenco, Tlaxcala, México	23
Figura 11. Estructura química de las antocianinas.....	29
Figura 12. Ruta biosintética de las antocianinas	30
Figura 13. Comportamiento de las antocianinas a diferentes pH	32
Figura 14. Representación en el plano de Croma x ángulo de tono del polvo de olote cultivado en Juchitepec, Estado de México.....	80
Figura 15. Diagrama de fase binodal ajustada (25 °C).	83
Figura 16. Puntos de operación en la línea principal del diagrama de fases ...	84
Figura 17. Concentración y rendimiento de extracción de antocianinas en la fase superior e inferior de los puntos de trabajo	86
Figura 18. Efecto de la temperatura de extracción en la concentración de antocianinas.....	87

Figura 19. Efecto del tiempo de agitación de los sistemas en el orbital en la concentración de antocianinas.....	88
Figura 20. Efecto de la sonicación de los sistemas en el orbital en la concentración de antocianinas	89
Figura 21. Ensayos de pigmentación en yogur	95
Figura 22. Yogur comercial de sabor fresa y las poblaciones P5 y P6 aplicadas.	96
Figura 23. Comparación de las condiciones de almacenamiento de yogur pigmentado con antocianinas.....	98
Figura 24. Curva de pigmentación de tamales.....	99
Figura 25. Evolución del color en tamales (antes y después de ser cocinados)	100
Figura 26. Variedad de color en tamales comercializados (U-1 – U-4) y tamales pigmentados con extractos de antocianinas	102

DEDICATORIAS

A mis padres, Venancio y Anselma por su apoyo y consejos. A mis hermanas, Berenice y Jennifer, por compartir conmigo cada paso de este camino y estar siempre a mi lado. A mis sobrinos, Gereb y Mildreth, cuya alegría y amor me impulsa a seguir adelante. Y a mis abuelitos, Sergio (†) y Adela, por ser mi inspiración y motivarme a cumplir cada uno de mis objetivos.

A José Antonio, mi compañero incondicional, por su comprensión, amor y por estar siempre a mi lado apoyándome, soñando conmigo y creyendo en mí, incluso en los momentos en que yo misma dudaba.

A mis compañeros de laboratorio Gabriel, Carlos, Lilia y Luciano, por su motivación, convivencia y asesoría.

A mis amigos Tonathiu, Tania, Guadalupe, Darío, Francisco Javier y Antonio de Jesús, que me han apoyado y acompañado en esta etapa. Su amistad ha sido un regalo invaluable, llenando de risas, motivación y comprensión cada paso. Gracias por ser tan especiales.

A mis compañeros de la 20ª generación, por su empatía, consejos, amabilidad y palabras de apoyo. Y a mis compañeros de grupo, por su motivación, enseñanza, consejos, asesorías y risas durante esta etapa.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología y Humanidades por la beca otorgada durante mis estudios de posgrado, con el número de apoyo 822191.

A la Universidad Autónoma Chapingo por brindarme la oportunidad de continuar con mi preparación académica.

Al Laboratorio de Atmósferas Modificadas del Departamento de Ingeniería Agroindustrial por permitirme hacer uso de sus instalaciones y equipo durante estos dos años.

Al Laboratorio del Maíz del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado en Texcoco, Estado de México, por facilitar el uso de sus instalaciones.

Al Dr. Salvador Valle Guadarrama, por la dirección, revisión y asesoría durante el desarrollo de esta investigación.

A la Dra. Leticia García Cruz, por su tiempo, asesoría y acertadas observaciones durante el desarrollo de esta investigación.

Al Dr. Rafael Ángel del Sagrado Corazón Ortega Paczka, por los consejos, asesoría y tiempo durante el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. Ofelia Sandoval Castilla, por el apoyo brindado como asesora para el desarrollo del presente trabajo.

Al Técnico Medio Especializado Agropecuario y Silvícola, Marcos Moreno Moreno, adscrito al Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, y al C. Margarito Cortés Cruz, agricultor de Juchitepec, Estado de México, por su apoyo en la cosecha de la muestra obtenida del proyecto "Caracterización de dos nuevas variedades mejoradas de maíz para Valles Altos

Centrales de México y aumento de su semilla", financiado por la Dirección General de Investigación de la Universidad Autónoma Chapingo, así como por las atenciones brindadas.

A la laboratorista Araceli Ayala, por su ayuda y atención durante el desarrollo de esta investigación.

A la Dra. Diana Guerra Ramírez por su invaluable asesoría y por brindarme siempre una cálida bienvenida en el Laboratorio de Productos Naturales.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre	Abigail López Herrera
Fecha de nacimiento	31 de julio de 1994
CURP	LOHA940731MOCPRB03
Profesión	Ingeniera en Industrias Alimentarias
Cédula profesional	11643118

Desarrollo académico

Bachillerato	Centro Escolar Pdte. Lic. Benito Juárez
Licenciatura	Instituto Tecnológico Nacional de México campus Acatlán de Osorio, Puebla

RESUMEN GENERAL

Separación de compuestos bioactivos de subproductos del procesamiento de maíz

El maíz (*Zea mays* L.) es diverso en variedades y genotipos. Entre ellos están los llamados maíces pigmentados, con tonalidades rojas, azules o moradas en la mazorca originado por la presencia de antocianinas. El olote es un residuo agrícola que se genera cuando se separa el grano de la mazorca y se usa comúnmente para alimento de ganado, abono y como material de combustión. Sin embargo, se puede aprovechar como fuente de antocianinas para usarlas en matrices alimenticias. El objetivo del trabajo fue cuantificar compuestos bioactivos presentes en olote de maíz morado cosechado en Juchitepec, Estado de México. Se caracterizaron cuatro poblaciones de maíz morado: Negro de Ixtenco (P5), Negro de Ixtenco x Negro de Perú (P6), Azul x Negro de Ixtenco (colecta 7247B; P7) y Azul x Negro de Ixtenco (colecta 7246B; P8). Se realizó extracción convencional con metanol 80% más 1% de ácido trifluoroacético (TFA). También, se emprendió extracción acuosa en dos fases, a través de la construcción y uso de un diagrama binodal con etanol grado 96, citrato de sodio (40%) y ácido cítrico (40%), para explorar condiciones adecuadas de separación. Los resultados indicaron que las poblaciones P5 y P6 tuvieron mayor concentración (base seca) de antocianinas (1678.8 ± 6.1 y 1651.8 ± 11.7 mg ECy/100 g), fenoles (4678.1 ± 149.0 y 4740.1 ± 170.8 mg EAF/100 g), azúcares totales (10917.4 ± 140.7 y 8654.1 ± 64.6 mg EG/100 g) y flavonoides (5781.7 ± 81.8 y 6238.8 ± 119.6 mg EQ/100 g, respectivamente). Con base en un sistema con 8.25% de citrato de sodio, 2.75% de ácido cítrico y 49.0% de etanol, se extrajeron fases superiores de los sistemas ATPE, a partir de las poblaciones P5 y P6, con contenido total de antocianinas de 0.26 ± 0.00 y 0.31 ± 0.00 mg ECy/mL, de fenoles de 3.91 ± 0.01 y 4.02 ± 0.02 mg EAF/mL, proantocianidinas de 42.49 ± 0.24 y 53.76 ± 0.60 mg EC/mL, de flavonoides de 6.55 ± 0.20 y 7.51 ± 0.30 mg EQ/mL y de azúcares totales de 10.26 ± 0.17 y 10.54 ± 0.03 mg EG/mL, respectivamente. Se realizaron pruebas de pigmentación en yogur y tamales dulces, con lo que se demostró que las antocianinas del olote de maíz pueden ser una alternativa para sustituir colorantes artificiales.

Palabras clave: *Zea mays* L., antocianinas, compuestos bioactivos, olote morado, sistemas acuosos bifásicos.

Tesis de Maestría en Ciencias, Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Abigail López Herrera.

Director de tesis: Dr. Salvador Valle Guadarrama.

GENERAL ABSTRACT

Separation of bioactive compounds from corn processing by-products

Corn (*Zea mays* L.) is diverse in varieties and genotypes, and among them the so-called pigmented corns are distinguished, which exhibit red, blue or purple hues in the cob, which is caused by the presence of anthocyanins. The *olote* is the part that remains of the cob after removing the grain and constitutes a residue that is used for livestock feed, fertilizer and as a combustion material, but it can also be used as a source of anthocyanins, which can be used in food matrices. The objective of this work was to quantify the bioactive compounds present in purple corn harvested in Juchitepec, State of Mexico. Four populations of purple corn were characterized: Negro de Ixtenco (P5), Negro de Ixtenco x Negro de Perú (P6), Azul x Negro de Ixtenco (collection 7247B; P7), and Azul x Negro de Ixtenco (collection 7246B; P8). A conventional extraction was performed with 80% methanol plus 1% trifluoroacetic acid (TFA). Also, aqueous two-phase extraction (ATPE) was applied, through the construction and use of a binodal diagram with 96-grade ethanol, sodium citrate (40%), and citric acid (40%), to explore suitable separation conditions. The results indicated that populations P5 and P6 had higher concentrations (dry basis) of anthocyanins (1678.8 ± 6.1 and 1651.8 ± 11.7 mg ECy/100 g), phenols (4678.1 ± 149.0 and 4740.1 ± 170.8 mg EAF/100 g), total sugars (10917.4 ± 140.7 and 8654.1 ± 64.6 mg EG/100 g), and flavonoids (5781.7 ± 81.8 and 6238.8 ± 119.6 mg EQ/100 g, respectively). With an ATPE system with a composition of 8.25% sodium citrate, 2.75% citric acid, and 49.0% ethanol, extracts were obtained from upper phases of ATPE systems based on P5 and P6 populations, with total content of anthocyanins of 0.26 ± 0.00 and 0.31 ± 0.00 mg ECy /mL, phenols of 3.91 ± 0.01 and 4.02 ± 0.02 mg EAF/mL, proanthocyanidins of 42.49 ± 0.24 and 53.76 ± 0.60 mg EC/mL, flavonoids of 6.55 ± 0.20 y 7.51 ± 0.30 mg EQ/mL and total sugars of $10.26 \pm .17$ and 10.54 ± 0.03 mg EG/mL respectively. Pigmentation tests were performed on yogurt and sweet tamales, which demonstrated that anthocyanins from *olote* can be an alternative to replace artificial coloring.

Key words: *Zea mays* L., anthocyanins, bioactive compounds, biphasic aqueous systems, purple corncob.

Thesis of Master Science, Program of Agro-Food Science and Technology, Universidad Autónoma Chapingo.

Author: Abigail López Herrera.

Thesis Director: Salvador Valle Guadarrama, Dr.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Los residuos agrícolas (residuos de cultivos o desechos de cosecha) se producen durante la cosecha y consisten en una gran cantidad de materiales a base de carbono (Ginni et al., 2021). En México, la cantidad anual de esquilmos oscila alrededor de 45 millones de toneladas de materia seca para los diez principales cultivos (maíz, sorgo, trigo, frijol, arroz, cebada, soya, algodón, cártamo y ajonjolí). Sin embargo, el rastrojo y olote de maíz representan 25.5 millones de toneladas por cada 21.4 millones de toneladas de grano (SAGARPA, 2015). Entre ellos, se generan cascarillas (8.4%), hojas (18.5%), tallos (57.8%) y olote (12.2%), todos ellos estructural y morfológicamente distintos (Zou et al., 2021; Wojcieszak et al., 2022; Castorina et al., 2023).

El uso de los desechos agrícolas en los últimos años se está investigando para su valorización a través de procedimientos biotecnológicos, con el fin de lograr la sostenibilidad ambiental, el valor agregado de los desechos y la promoción de avances en la economía bio y circular (Elegbede et al, 2021; Wang et al., 2024). Además de representar una alternativa para la obtención de fibras para su uso en la industria alimentaria (desarrollo de alimentos e ingredientes), farmacéutica y textil, principalmente, las partes del olote (medula y anillo) (Bonifaz-Delgado et al., 2023; Rolandelli et al., 2023) constituyen opciones de aprovechamiento que puede redituarse en forma económica en diversas industrias.

El olote es un tejido esponjoso y de color variado que constituye un residuo del proceso de desgranado (Valdivieso, 2020; Lozano-Salas et al., 2025). Su estructura consta de tres secciones; médula, anillo leñoso y paja (gluma), las cuales poseen características diferentes en cuanto a forma, estructura y densidad, compuestos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina. La médula está compuesta por tejido poroso que le proporciona mayor capacidad

de carga manteniendo una baja densidad. El anillo leñoso es una estructura tubular hueca compuesta principalmente por celulosa y unida por lignina, lo cual le da la característica dureza a la estructura. La paja (gluma) tiene una microestructura porosa y esponjosa (Zou et al., 2021; Hernández-García, 2023).

Se estima que por cada tonelada de maíz se obtienen 170 kg de olote. En conjunto, el olote y el jilote (xilote, shilote, cabello o seda) no son utilizados completamente, lo cual genera problemas ambientales (CIMMYT, 1995; Hernández-García, 2023). Sin embargo, no representan ningún valor monetario para los productores, por lo que terminan siendo alimento para los animales, incinerados y como combustible para cocinar, provocando un incremento en la contaminación del medio ambiente mediante la generación de gases de efecto invernadero (Elegbede et al., 2021; Ginni et al., 2021; Lozano-Salas et al., 2025). En Estados Unidos, el olote es cortado en porciones pequeñas y es esparcido en los espacios de cultivo como fertilizante (Yang et al., 2006).

El olote es utilizado para la preparación de bebidas tradicionales, como lo es el atole agrio en San Juan Ixtenco, Tlaxcala. Tal como lo reporta Díaz-Mora (2016), en una variante de preparación de esta bebida que indica que, además de remojar el maíz, también se ocupa olote para potenciar el color en la bebida final, el cual es retirado después de esta etapa y antes de la molienda del grano. El olote, al igual que las hojas de totemoxtle, se utiliza también para realizar algunas artesanías (Avendaño-Rocha, 2023).

En los maíces pigmentados, el color se debe a la presencia de antocianinas. En este sentido, Beristain-González et al. (2023), propusieron una línea de productos a base de olote morado con alto contenido de antocianinas y potencial antioxidante, incluyendo té, cápsulas y fibra. Asimismo, Pérez-Sauñi (2014), elaboró un producto tipo mermelada a base de antocianinas extraídas del olote de maíz morado. También, Choquemamani-Vera y Jara-Juhuaallanca (2022), formularon una bebida nutracéutica utilizando una mezcla de camu camu (13%),

quinua (17%) y olote de maíz morado (70%). El olote de maíz morado después de seleccionado y pesado se le aplica un lavado para posteriormente realizar una cocción y extracción.

Alternativamente, el olote de maíces pigmentados puede ser procesado para recuperar las antocianinas responsables del color, con lo que se puede favorecer dar valor a este subproducto. La forma tradicional de extraer antocianinas consiste en moler, secar o liofilizar el material vegetal, para después remojarlo en una mezcla de disolvente y agua con o sin ácido, bajo ciertas condiciones de temperatura (Monrad et al., 2010). Otros métodos de aplicación más reciente incluyen la extracción asistida con ultrasonido, la extracción con microondas, la extracción con enzimas y la extracción con fluidos supercríticos (Tena & Asuero 2022; Zhang et al., 2022). En cualquier caso, el uso de técnicas tradicionales para separar antocianinas de fuentes vegetales requiere de un manejo a través de distintas etapas. De hecho, el aislamiento y purificación de antocianinas puede implicar la aplicación de métodos de separación complementarios tales como la extracción en fase sólida, la cromatografía de intercambio catiónico, la combinación de ambas, la extracción líquido-líquido, el uso de resinas de adsorción/desorción o el uso de cromatografía de líquidos de alta y media resolución (Ahmadiani et al., 2019; Pangestu et al., 2020; Zhang et al., 2022).

Como alternativa, se ha demostrado que el uso de extracción acuosa en dos fases puede atender la concentración de los pigmentos naturales por procedimientos no térmicos en una sola operación (Rodríguez-Herrera et al., 2023), lo que le confiere ventajas sobre otras opciones de separación. La extracción acuosa en dos fases se puede desarrollar con la mezcla de dos polímeros, la mezcla de un polímero y una sal (Raja et al., 2011) o bien la mezcla de un solvente orgánico y una sal (García-Cruz et al., 2021; Rodríguez-Salazar & Valle-Guadarrama 2020), los cuales, en función de la concentración, pueden formar dos fases inmiscibles que favorecen la separación de los compuestos. Durante el desarrollo del sistema es fundamental la presencia de los dos tipos de

componente, pues la formación de fases depende de un mecanismo de exclusión salina o “salting-out” (Gomes et al., 2017). Si bien los sistemas polímero-sal constituyen la manera más común de implementar la técnica, el uso de solventes orgánicos ofrece una manera más directa eliminarlos al final mediante evaporación (García-Cruz et al., 2021), lo cual es una ventaja. En el caso de antocianinas, la técnica se ha usado con sistemas que han incluido sales como sulfato de amonio (Liu et al., 2013) o sulfato de magnesio (Jiménez-Velázquez et al., 2020). Sin embargo, el eventual uso de los extractos en matrices alimenticias obliga a considerar las concentraciones residuales de la sal usada y que éstas no sean tóxicas. En tal sentido, se ha argumentado que el uso de citrato de sodio puede ser una alternativa factible de ser aprobada por los organismos correspondientes, pero puede inducir valores de pH en el rango alcalino. Sin embargo, las antocianinas son estables en el rango de pH de 3.0 a 5.0, principalmente (Lee et al., 2005) y fuera de ese rango pueden experimentar degradación. A este respecto, Hernández-Rodríguez (2023) demostró que el uso de un sistema basado en acetona, citrato de sodio y ácido cítrico provee un medio adecuado para extraer antocianinas atendiendo el control de pH. Sin embargo, la presencia de cantidades residuales de acetona puede ser una desventaja para un potencial uso de los extractos en alimentos, lo que plantea la necesidad de explorar el uso de un solvente, tal como etanol, que no exhiba esos problemas.

En tal contexto, el presente trabajo se realizó con los siguientes Objetivos:

1.1. Objetivo general

Evaluar las condiciones de operación de un procedimiento de extracción acuosa en dos fases para separar compuestos bioactivos del olote de maíz para incrementar el valor agregado de este subproducto.

1.2. Objetivos específicos

- Desarrollar diagramas binodales de fase mediante el uso de sistemas basados en alcohol, citrato de sodio y ácido cítrico, para atender un proceso de extracción con el control de pH, que constituye un factor importante de estabilidad de las antocianinas.
- Identificar condiciones de operación de un procedimiento de extracción acuosa en dos fases con potencial para separar antocianinas de olote de maíz morado, para favorecer el incremento de valor agregado de este subproducto.
- Evaluar, en matrices alimentarias, el potencial de pigmentación de las antocianinas recuperadas por el sistema bifásico para determinar su estabilidad.

Asimismo, se plantearon las siguientes hipótesis:

1.3. Hipótesis

- Los sistemas acuosos bifásicos basados en etanol, citrato de sodio y ácido cítrico constituyen una alternativa de extracción y recuperación de compuestos bioactivos.
- El olote de maíz contiene altas concentraciones de antocianinas, fenoles totales solubles, proantocianidinas, azúcares totales y flavonoides que pueden ser extraídos por sistemas bifásicos.

1.4. Organización de la tesis

El presente trabajo estuvo enfocado a la caracterización del contenido de antocianinas de distintas poblaciones de olotes obtenidos después del desgranado de maíz morado. Para extraer estos compuestos se aplicó un procedimiento basado en sistemas acuosos bifásicos formados con mezclas de alcohol, citrato de sodio y ácido cítrico. Ello implicó el desarrollo de un diagrama

binodal que permitió identificar condiciones adecuadas de extracción. Después de la selección de las mejores condiciones de extracción, los compuestos obtenidos se utilizaron para evaluar la pigmentación de matrices lácteas.

1.5. Literatura citada

Ahmadiani, N., Sigurdson, G. T., Robbins, R. J., Collins, T. M., & Giusti, M. M. (2019). Solid phase fractionation techniques for segregation of red cabbage anthocyanins with different colorimetric and stability properties. *Food Research International*, 120, 688–696. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.026>.

Avendaño-Rocha, G. R. (2023). *Acercamiento etnográfico a la biodiversidad y semillas locales de maíz: Atole agrio en San Juan Ixtenco, Tlaxcala*. (Tesis de Especialidad, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Pue. Consultada en <https://hdl.handle.net/20.500.12371/20305>.

Beristain-González, C., Corte-Rincón, L. J., Hernández-Blanca, S., & Miernau-Cupido, C. (2023). *Desarrollo de una línea de productos con potencial efecto antioxidante a base de olote morado*. Universidad Iberoamericana de Puebla. Consultado el 8 de mayo de 2024, en <https://repositorio.iberopuebla.mx/handle/20.500.11777/5963>.

Bonifaz-Delgado, LV, de la Rosa-Millán, J., & Guajardo-Flores, D. (2023). Comprehensive physical and chemical characterization of corncob and nopal fibers: exploring sustainable alternatives for high-value applications. *ACS Food Science & Technology*. 3 (12), 2132-2143. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsfoodscitech.3c00298>.

Castorina, G., Cappa, C., Negrini, N., Criscuoli, F., Casiraghi, M. C., Marti, A., Rollini, M., Consonni, G., & Erba, D. (2023). Characterization and nutritional valorization of agricultural waste corncobs from Italian maize landraces through the growth of medicinal mushrooms. *Scientific Reports*, 13(1), 21148. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48252-9>.

- Choquemamani-Vera, J., & Jara-Jihuallanca, M. (2022). *Efecto del tratamiento térmico sobre la calidad nutritiva y sensorial de una bebida nutraceutica a base de quinua (Chenopodium quinua), maíz morado (Zea mays) y camu camu (Myrciaria dubia)*. (Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios – UNAMAD, Puerto Maldonado, Perú). Consultada en <http://repositorio.unamad.edu.pe/handle/20.500.14070/856>.
- CIMMYT. (1995). Manejo de los ensayos e informes de los datos para el Programa de Ensayos Internacionales de Maíz, México DF, ISBN:970-648-045-5, 20 p.
- Díaz-Mora, D. (2016). *Valor social, económico y nutracéutico de los maíces nativos pigmentados en localidades de Puebla y Tlaxcala, su rescate y revalorización*. (Tesis de Maestría, Colegio de Posgraduados, Puebla, Pue.). Consultado en <http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/3754>.
- Elegbede, J. A., Ajayi, V. A., & Lateef, A. (2021). Microbial valorization of corncob: Novel route for biotechnological products for sustainable bioeconomy. *Environmental Technology & Innovation*, 24, 102073. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102073>.
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Soto-Hernández, R. M., Guerra-Ramírez, D., Zuleta-Prada, H., Martínez-Damián, M. T., & Ramírez-Valencia, Y. D. (2021). Separation of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) betaxanthins, betacyanins, and soluble phenols through multistage aqueous two-phase systems. *Food and Bioprocess Technology*, 14(10), 1791–1804. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02676-1>.
- Ginni, G., S, K., R, Y. K., Bhatia, S. K., S, A. K., M, R., Kumar, G., Pugazhendhi, A., Chi, N. T. L., & J, R. B. (2021). Valorization of agricultural residues: Different biorefinery routes. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105435. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105435>.

- Gomes, J., Ferreira, S., Reinert, O., Gandol, R., Ayra, L., Santos, V., et al. (2017). Fluid phase equilibria evaluation of salting-out effect in the liquid e liquid equilibrium of aqueous two-phase systems composed of 2-propanol and Na₂ SO₄ / MgSO₄ at different temperatures. *Fluid Phase Equilibria*, 450, 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2017.08.001>.
- Hernández-García, Y. R. (2023). *Desarrollo de un ingrediente alimentario con fibra y antioxidantes a partir de olote y seda de maíz y determinación de su bioaccessibilidad gastrointestinal y efecto antiinflamatorio in vitro*. (Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Qro. Consultada en <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/9398>.
- Hernández-Rodríguez, G. (2023). *Proceso de fermentación y aprovechamiento de antocianinas de frutos de Ardisia compressa Kunt.* (Tesis Doctoral, Texcoco de Mora, México: Programa de Posgrado en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua, Universidad Autónoma Chapingo). Consultado en <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/52904754-122b-4288-92db-d2da34b64df6>.
- Jiménez-Velázquez, P., Valle-Guadarrama, S., Alia-Tejacal, I., Salinas-Moreno, Y., García-Cruz, L., Pérez-López, A., & Guerra-Ramírez, D. (2020). Separation of bioactive compounds from epicarp of ‘Hass’ avocado fruit through aqueous two-phase systems. *Food and Bioproducts Processing*, 123, 238–250. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.07.004>.
- Lee, J., Durst, R. W., Wrolstad, R. E., & Collaborators: (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269–1278. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.5.1269>.
- Liu, X., Mu, T., Sun, H., Zhang, M., & Chen, J. (2013). Optimisation of aqueous two-phase extraction of anthocyanins from purple sweet potatoes by response surface methodology. *Food Chemistry*, 141(3), 3034–3041.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.119>.

- Lozano-Salas, L., Ortiz-Duarte, G., Romero-Ibarra, I. C., Canseco-Urbieto, A., Bravo-González, E., & León-Nataret, Y. A. (2025). Síntesis de nanocelulosa de olote de maíz mediante hidrólisis ácida. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 12(24), Article 24. <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icbi/article/view/11746>.
- Monrad, J. K., Howard, L. R., King, J. W., Srinivas, K., & Mauromoustakos, A. (2010). Subcritical solvent extraction of anthocyanins from dried red grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(5), 2862–2868. <https://doi.org/10.1021/jf904087n>.
- Pangestu, N. P., Miyagusuku-Cruzado, G., & Giusti, M. M. (2020). Copigmentation with chlorogenic and ferulic acid affected color and anthocyanin stability in model beverages colored with *Sambucus peruviana*, *Sambucus nigra*, and *Daucus carota* during storage. *Foods*, 9(10), 1476. <https://doi.org/10.3390/foods9101476>.
- Pérez-Sauñi, H. F. (2014). *Utilización de la antocianina del maíz morado (Zea mays L.) y stevia (Stevia rebaudiana bertonii) en la elaboración de un producto tipo mermelada y su aceptabilidad*. (Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú). Consultado en <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/3857>.
- Raja, S., Murty, V. R., Thivaharan, V., Rajasekar, V., & Ramesh, V. (2011). Aqueous two phase systems for the recovery of biomolecules – a review. *Science and Technology*, 1(1), 7–16. <https://doi.org/10.5923/j.scit.20110101.02>.
- Rodríguez-Herrera, V. V., García-Cruz, L., & Valle-Guadarrama, S. (2023). Aqueous two-phase extraction: A non-thermal technique to separate and concentrate betalains from *Bougainvillea glabra* Choisy bracts. *Industrial Crops and Products*, 193, 116245. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116245>.

- Rodríguez-Salazar, N., & Valle-Guadarrama, S. (2020). Separation of phenolic compounds from roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyces with aqueous two-phase extraction based on sodium citrate and polyethylene glycol or acetone. *Separation Science and Technology*, 55(13), 2313–2324. <https://doi.org/10.1080/01496395.2019.1634730>.
- Rolandelli, G., Favre, L. C., Aguirre-Calvo, T. R., Farroni, A. E., Buera, M. del P., & dos Santos-Ferreira, C. (2023). An optimized purple corn cob extract as an ingredient for the development of maize-based extrudates with novel characteristics. *Journal of Cereal Science*, 114, 103809. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103809>.
- SAGARPA. (2015). Avance de siembras y cosechas año agrícola 2015 riego + temporal. <http://www.siap.gob.mx/avance-de-siembras-y-cosechas-por-cultivo/>.
- Tena, N., & Asuero, A. G. (2022). Up-to-date analysis of the extraction methods for anthocyanins: principles of the techniques, optimization, technical progress, and industrial application. *Antioxidants*, 11(2), 286. <https://doi.org/10.3390/antiox11020286>.
- Valdivieso, J. E. (2020). *Diseño de un proceso para la obtención de papel a partir de la celulosa extraída del olote de Maíz (Zea mays L var Ceratina)*. Consultado el 16 de mayo de 2024 en <https://1library.co/document/zkw8jp1z-diseno-proceso-obtencion-partir-celulosa-extraida-maiz-ceratina.html>.
- Wang, Z., Liu, Y., Wang, K., Wang, Y., Wang, X., Liu, J., Xu, C., & Song, Y. (2024). Phenotyping the anthocyanin content of various organs in purple corn using a digital camera. *Agriculture*, 14(5). <https://doi.org/10.3390/agriculture14050744>.
- Wojcieszak, D., Przybył, J., Czajkowski, Ł., Majka, J., & Pawłowski, A. (2022). Effects of harvest maturity on the chemical and energetic properties of corn stover biomass combustion. *Materials*, 15(8).

<https://doi.org/10.3390/ma15082831>.

Yang, R., Zhang, C., Feng, H. y Yang, W. (2006). A kinetic study of xylan solubility and degradation during corncob steaming. *Biosystems Engineering*, 93(4), 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2006.01.006>.

Zhang, X., Zhao, Y., Li, B., Guo, M., Lv, J., & Wei, Y. (2022). Comparison of three extraction methods for anthocyanins from perilla frutescens leaves. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 29, 100817. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100817>.

Zou, Y., Fu, J., Chen, Z., & Ren, L. (2021). The effect of microstructure on mechanical properties of corn cob. *Micron*, 146, 103070. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2021.103070>.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Maíz (*Zea mays* L.)

El maíz (*Zea mays* L.) es un cereal de relevancia global, utilizado en la alimentación humana, animal y en diversas industrias. El maíz posee macronutrientes clave, como almidón, polisacáridos no amiláceos, proteínas y lípidos. Las variedades ricas en amilosa, proteínas y aceites brindan beneficios específicos para la salud, mejorando la respuesta glucémica y optimizando el metabolismo de los lípidos (Ai & Jane, 2016). También, es una fuente rica de vitaminas (A, B, E y K), minerales (como magnesio, fósforo y potasio), ácidos fenólicos, carotenoides, flavonoides y fibra dietética. Estos nutrientes, en conjunto, contribuyen a disminuir el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas, tales como las cardiovasculares, la diabetes tipo 2 y la obesidad (Siyuan et al., 2018). La diversidad de maíz, incluidas las variedades de grano entero, dulce y colores en el grano, ofrecen ventajas únicas. Además, se estima que por cada tonelada de maíz producido se obtiene un 17% de olote (Beristain-González et al., 2023).

2.2. Maíz morado

El maíz morado se produce en los valles de la región andina de Perú, originario de la raza Kculli el cual se cultiva alrededor de los 3000 m.s.n.m., posee características que lo han convertido en una fuente de ingresos y de interés de estudio; presenta una coloración morado intenso en grano, olote y en otras partes de la planta. El color que presenta es relacionado con la presencia de antocianinas (Medina-Hoyos et al., 2020).

Conocer la raza que es cultivada en un espacio determinado permite su conservación y aprovechamiento (González-Santos et al., 2023). También permiten obtener genotipos mejorados (Barrera-Guzmán et al., 2020).

Su alto contenido en antocianinas, principalmente como cianidina-3-glucosido (C3G), hace que actúe como un poderoso antioxidante natural, anticancerígeno, y antiinflamatorio, además, ayuda a disminuir la presión sanguínea, mejora de la agudeza visual y el colesterol alto, mejora la circulación sanguínea y promueve la regeneración del tejido y es por estos importantes beneficios, que surge la necesidad de comprender el mecanismo de acción de las antocianinas en la salud humana (Giusti & Wrolstad, 2003; Rabanal-Atalaya & Medina-Hoyos, 2021).

2.3. Clasificación taxonómica y morfológica de la planta

El maíz es una de las plantas más cultivadas a nivel global y constituye un alimento fundamental en muchas regiones del planeta. Su clasificación taxonómica (Cuadro 1) (InfoAgro, 2012) ha sido de gran polémica y demasiado estudiada en el transcurso de los años.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica.

Reino	Vegetal
División	Angiosperma
Clase	Monocotyledoneae
Orden	Cereales
Familia	Graminea - Poaceae
Género	Zea
Especie	Mays
Nombre científico	<i>Zea mays</i> L.

El maíz es una planta compleja con varias partes, cada una de las cuales desempeña un papel crucial en su crecimiento, desarrollo y utilidad. A continuación, se describen las partes de la planta (Valladares, 2010; CIBIOGEM, 2023).

Raíz: el conjunto de raíces forma una estructura fasciculada que le brinda soporte a la planta. Son esenciales para la salud y crecimiento de la planta. Además, influye en la distribución de los minerales (fósforo, potasio, calcio y magnesio).

Tallo: es recto y de una sola pieza, alcanzando una altura considerable de hasta 4 metros. Es fuerte, no presenta ramificaciones, ni entrenudos visibles y si se realiza un corte transversal presenta una medula esponjosa.

Hojas: son de gran tamaño, lanceoladas, alternadas y paralelinervias. Estas, abrazan el tallo de la planta y presentan vellosidades por el haz. Suelen ser afiladas y cortantes por los extremos. El color de las hojas suele variar, van de verde, rayas en blanco y verde o verde purpura.

Flores: presenta dos tipos masculina y femenina dentro de la misma planta. Además, la flor masculina tiene una forma de espigón (penacho) y la femenina se encuentra en espádices posicionados de forma lateral.

Frutos: Son granos que se encuentran en la mazorca, van de 600 a 1000 los cuales se encuentran ordenados en hileras en el olote. Dependiendo la variedad pueden tener características físicas diferentes como ser dentados o semi, cristalinos entre otros además del color que pueden ser blancos, amarillos, negros, rojos, solo por mencionar algunos.

2.4. Producción de maíz mundial

El Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) reportó un incremento en la producción mundial de maíz hasta el mes de julio de 2024 de 1224.79 millones de toneladas (mdt). Los cuales se reparten entre los principales países productores (Figura 1). México se situó en el octavo lugar.

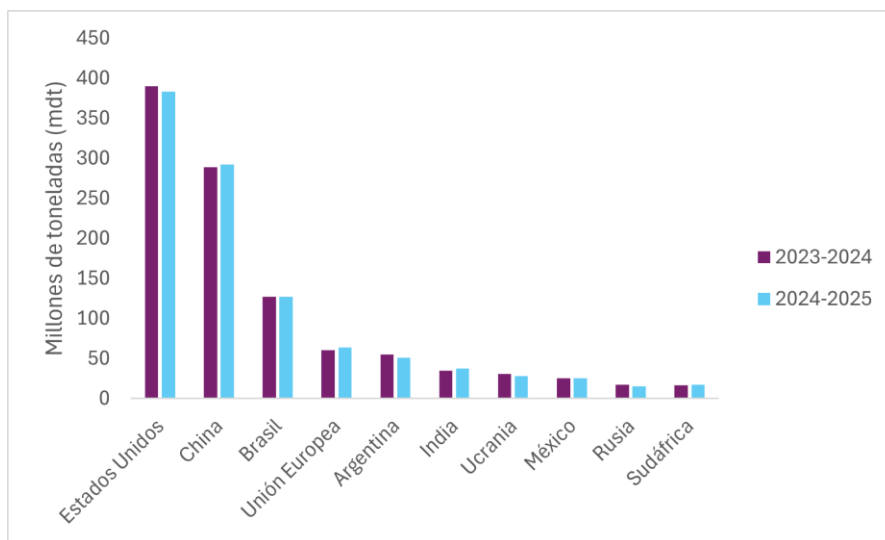


Figura 1. Principales países productores de maíz. Elaboración propia con información de USDA. Información reportada en julio de 2024.

Los principales países consumidores de maíz en el ciclo 2023-2024 fueron Estados Unidos, China, Brasil, Unión Europea y México. El consumo humano por persona (Figura 2) en 2023, México registró el indicador más alto en consumo humano. Estados Unidos destina el uso de maíz principalmente en la producción de etanol con 79.5%, para cereal y otros productos apenas el 3.2%. El récord de consumo para México registra un incremento de 3.3%.

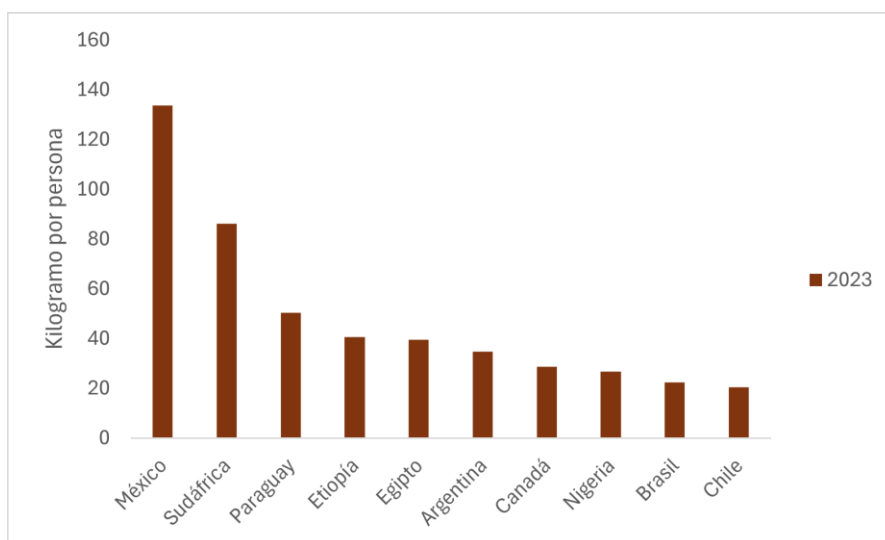


Figura 2. Consumo humano per cápita anual de maíz (FIRA, 2024).

China es el país con mayor importación de maíz de 23 mdt (FIRA, 2024). Como se ha mencionado anteriormente, el consumo de maíz en México incrementa la demanda y la importación de maíz (Figura 3). Estados Unidos exporta una mínima cantidad de 0.64 mdt, lo cual lo posiciona en el octavo lugar.

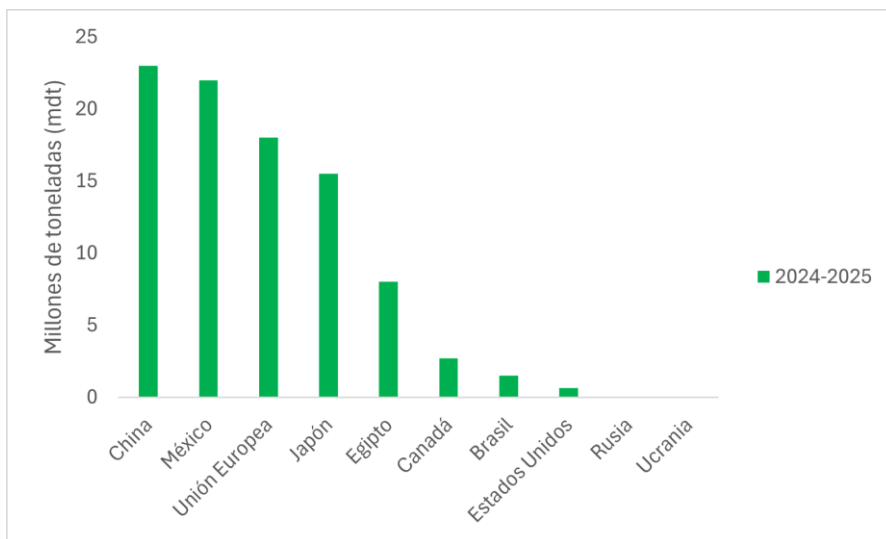


Figura 3. Países importadores de maíz. Elaboración propia con información de USDA. Información reportada en julio de 2024.

Caso contrario, los principales países exportadores de maíz (Figura 4), Argentina destaca como el tercer país exportador seguido de Ucrania. Las exportaciones de Ucrania pueden disminuir en el transcurso del ciclo 2024-2025 debido a una cosecha menor (FIRA, 2024), esto es porque el maíz es el principal cultivo el cual es destinado para uso forrajero y solo una mínima parte es destinada a alimento humano (Sots & Bnviak, 2018).

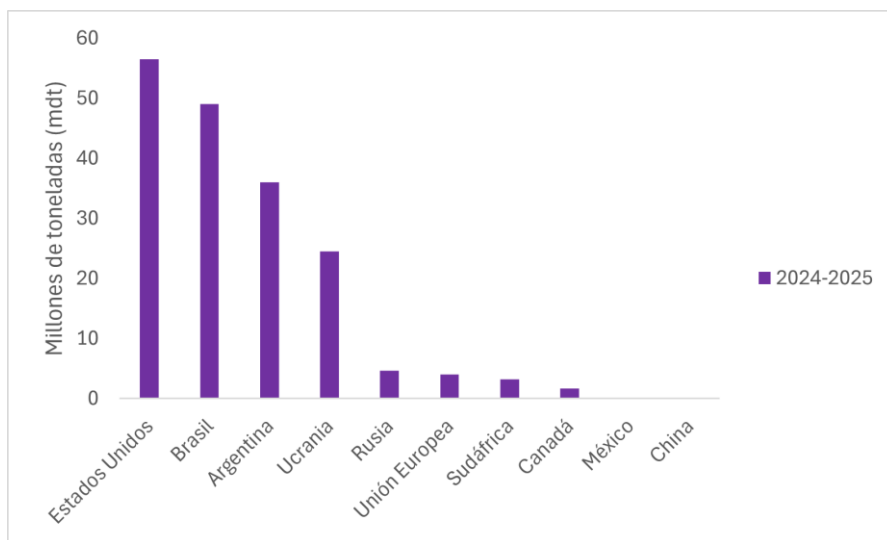


Figura 4. Países exportadores de maíz. Elaboración propia con información de USDA. Información reportada en julio de 2024.

2.5. Maíz morado: Perú

El maíz morado de color intenso es cultivado en Perú desde tiempos prehispánicos. Se utiliza tradicionalmente el maíz morado para la preparación de postres y bebidas típicas, por ejemplo, chicha morada, mazamorra morada, tamales, humitas y una variante de jora, esto, debido a los extractos obtenidos de la mazorca y semilla que poseen una tonalidad morada intensa (Requis-Varillas, 2012; Monroy et al., 2016). Especialmente, la chicha morada es una bebida no carbonatada, consumida en hogares y restaurantes en Perú, aunque en los últimos años ya se está produciendo a escala industrial (Ramos-Guerrero et al., 2021). En algunas regiones de Ecuador y Perú donde se realiza la preparación de chicha, se le conoce también como la cerveza indígena o masato (Mayorga et al., 2020). Es importante mencionar que dependiendo el lugar donde es preparada esta bebida tiene ingredientes diferentes que le dan al producto final ciertas características únicas. Específicamente para la preparación de la chicha morada, Ramos-Guerrero et al. (2021) indicaron los pasos para la elaboración a escala de esta bebida:

- **Ingredientes:** Agua potable, maíz morado, frutas (manzana, membrillo y piña), especias (canela y clavo de olor), azúcar o edulcorantes, y reguladores de acidez (jugo de limón o ácidos orgánicos). También incluye cáscara de naranja, cáscara de piña, durazno, anís y hojas de higuera y conservantes (sorbato de potasio, benzoato de sodio o una mezcla de ambos).
- **Preparación:** Primero, se selecciona la materia prima y se lavan los frutos y el maíz con un cepillo y agua potable. Después, se cortan y se colocan en un tanque con agua potable. El color dependerá de la proporción de agua y maíz utilizada en el extracto, así como del tiempo de ebullición que se aplique (20 – 60 minutos como mínimo a 100 °C). Posteriormente, la mezcla se filtra, obteniendo el extracto. En algunos casos, se realiza un segundo proceso de extracción a los ingredientes removidos, y es mezclado con el extracto de la primera extracción. Y se puede preparar un extracto solo de maíz que después puede ser mezclado en el proceso.
- **Mezcla:** Al extracto obtenido de la filtración se agregan azúcar, edulcorantes, ácidos, conservantes y demás ingredientes. Dicha formulación tiene un rango de grados brix de entre 6 a 10. El uso de ácido cítrico o jugo de limón ajusta el pH a aproximadamente 3, esta adición acidifica la bebida y al mismo tiempo crea un ambiente hostil contra las bacterias patógenas. El uso de conservadores es opcional y, si se añaden, solo prolongará la vida útil del producto.
- **Homogeneización:** Se controla el tiempo, velocidad de llenado para lograr un envasado homogéneo.
- **Inactivación térmica:** La fórmula lista para el consumo de 85 °C por 20 segundos, y el extracto 75 °C durante 25 minutos.
- **Llenado y embalaje:** Después de la pasteurización, la bebida es envasada inmediatamente en botellas de tereftalato de polietileno (PET), utilizando tecnología de llenado en caliente. Posteriormente, las botellas se enfrían rápidamente para evitar cambios bruscos en color o sabor. Una vez que el

producto ya se encuentra frío, está listo para ser etiquetado y comercializado.

Existen métodos variados de extracción de antocianinas sin embargo la extracción más empleada es la extracción sólido – líquido en la cual se emplean solventes como etanol, metanol y agua los cuales son acidificados usando ácido cítrico (1%) o ácido clorhídrico HCL (0.1 M), siendo el de mayor uso etanol por sus características y su uso para alimentos además de clínicos. También, temperatura, tiempo, combinación de los solventes antes mencionados y concentraciones son considerados para la extracción (Rabanal-Atalaya & Medina-Hoyos, 2021).

2.6. Variedades de maíz morado

El Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego de Perú (MIDAGRI) (2021), indica la importancia sobre las variedades mejoradas en el incremento de la producción en las diferentes zonas de producción lo cual no solo permite ingresos económicos sino un incremento en la calidad de los productos en los diversos mercados.

La variedad INIA 601 (Cuadro 2) se creó en el año 1990 por el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) de Perú, así también la variedad INIA 615-Negro Canaán en la estación experimental Canaán de la misma institución, UNC 47 se deriva de INIA 601 y es la Universidad Nacional de Cajamarca-Perú la responsable del mejoramiento para esta variedad y PMV 581 es mejorada por la Universidad Nacional Agraria La Molina (Medina-Hoyos et al., 2020).

Cuadro 2. Maíz peruano.

Razas de maíz morado	Variedades mejoradas
Morado canteño	Morado PVM-581
Cuzco	Morado PVM-582
Morado de Caraz	Morado INIA 601
Negro de Junín	UNC 47
UNC 46	Morado INIA 615-Negro Canaán
Morado Arequipeño	Morado mejorado (MMM)
Huancavelicano	

Fuente: Requis Varillas, 2012; Pinedo-Taco et al., 2017; Medina-Hoyos et al., 2020.

2.7. Exportación de maíz morado

Las áreas con mayor superficie cultivada para maíz morado es Arequipa, Ica, Lima, Huánuco, Cajamarca y Ayacucho (Pinedo-Taco et al., 2017). Hasta el mes de junio de 2024, Koo (2024), informó que los principales países a los que se exporta maíz morado son Estados Unidos (60%), Bélgica (11%), España (10%), Italia (3%), República de Corea (3%), Chile (1%) y otros (6%). Según Requis-Varillas (2012), el rendimiento del olote depende de la variedad, el cual puede ser de 16% al 20%; con el uso de semilla mejorada y aplicando un adecuado procedimiento agronómico la cantidad de olote que se puede obtener va de 1200 a 1600 kg/ha y en el año 2006, se pudo percibir en el mercado de exportación ingresos que iban de 3500 a 5000 dólares/ha.

2.8. Maíz morado: Ecuador

El maíz morado es la variedad morada del *Zea mays* L. se cultiva en los valles bajos de los Andes al cual se le denomina “Kculli” (Voz quechua) (Borja & Caviedes, 2013). En el comercio internacional, el maíz ecuatoriano tiene menos del 1% de representatividad del global (Analuisa et al., 2023). La producción de maíz en Ecuador es mayor de los tipos amarillo duro y suave. Sin embargo, los agricultores de Ecuador han reducido el cultivo de maíz morado debido a su bajo

rendimiento y a la falta de semillas certificadas (Borja & Caviedes, 2013). También por la falta de recursos tecnológicos, ausencia de socios, poco financiamiento por medio de entidades bancarias, limitado acceso a riego, inadecuado uso de los recursos, falta de capacitación, y la infraestructura poco adecuada ha disminuido la producción de este cultivo en las zonas maiceras, las cuales son Guayas, Los Ríos, Manabí y Loja (Rodríguez & Miranda, 2020). Es posible incrementar la producción actual y futura de este cultivo mediante la aplicación consciente y adecuada de proyectos de innovación tecnológica, por ende, se incrementan los ingresos económicos y mejora la calidad de vida de los agricultores (Bolaños & Tapia, 2019; Vásconez-Montúfar et al., 2021), los factores que se deben considerar para que la aplicación de resultados positivos son los conocimientos ancestrales, tener una participación comunitaria, la transferencia tecnológica e implementar el enfoque de cuádruple hélice (Monge-Garcia et al., 2023).

El maíz morado es usado como alimento desde hace tiempo, en Ecuador es popular, se usa para preparar la colada morada (“Yana Api” en Kichwa); es una bebida tradicional, popular consumida en festividades de Día de los difuntos (Rodríguez-Fernández et al., 2017). Se prepara con harina de maíz morado, se le agregan otras especias como canela, clavo de olor, cedrón, hojas de naranja, entre otros (Carrera et al., 2023). También se usa en la preparación de mazamorra morada, es un tipo de la bebida que es preparada en Perú, tiene textura consistente además de sabor agradable, se le agrega almidón de papa y maíz, canela, clavo, pasas, ciruelas pasas y fruta (piña y durazno) (Saldaña et al., 2018). Las bebidas fermentadas son parte importante de los avances sociales y son precisamente los alimentos fermentados los que se consideran exclusivos de la élite o como se mencionó anteriormente solo para eventos o ceremonias religiosas (Guerra et al., 2022). La microbiota de las bebidas autóctonas ha generado el desarrollo de nuevas investigaciones que pueden plantear la posibilidad de aislar cepas bacterianas debido a que la composición de estas bebidas es compleja a causa de las condiciones del entorno donde se elaboran y los ingredientes que se emplean (Mayorga et al., 2020).

2.9. Variedades de maíz morado

Las principales variedades de maíz nativo que aún se encuentran cultivados en las provincias de la Sierra de Ecuador (Cuadro 3), por lo cual se les ha denominado razas cosmopolitas (Zambrano-Mendoza et al., 2021). Uno de los principales criterios de la disminución del cultivo de maíz morado en Ecuador es el rendimiento, por lo cual se han implementado proyectos para incrementar la producción y es el responsable del mejoramiento y conservación de las variedades de maíz en Ecuador el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

Cuadro 3. Variedades de maíz cultivados en la sierra ecuatoriana.

Nativo	Mejorados	En mejoramiento
Chazo	INIAP-122 “Chaucho mejorado”	Chazo
Blanco de leche	INIAP-124 “Mishca mejorado”	Canguil (amarillo y morado)
Cuzco ecuatoriano	INIAP-102 “Blanco blandito mejorado”	Blanco de leche
Canguil ecuatoriano	INIAP-111 “Guagal mejorado”	Tusilla
Chillos	INIAP-153 “Zhima mejorado”	Chulpi
Huandango	INIAP-180	
Morochón	INIAP-182	
Patillo	INIAP-103 “Mishqui sara”	
Tusilla	INIAP-199 “Racimo de uva”	
Chaucho		
Chulpi		
Racimo de uva		

Además de las condiciones variadas de clima y suelo que requiere el cultivo. Se siembra a 2200 m.s.n.m., en las provincias ecuatorianas, en topografías planas, con pendientes moderadas – fuertes. Las zonas óptimas para producir maíz tienen suelos moderadamente profundos a profundos, ricos en materia orgánica con buen drenaje, temperaturas entre 14 – 28 °C y precipitaciones mayores a 600 mm anuales (Zambrano-Mendoza et al., 2021). El SIPA (2023), reporta una producción total de maíz para las provincias de Ecuador en el año 2023, incluyendo cultivos solos y asociados (Figura 5) para maíz duro y maíz suave (Figura 6).

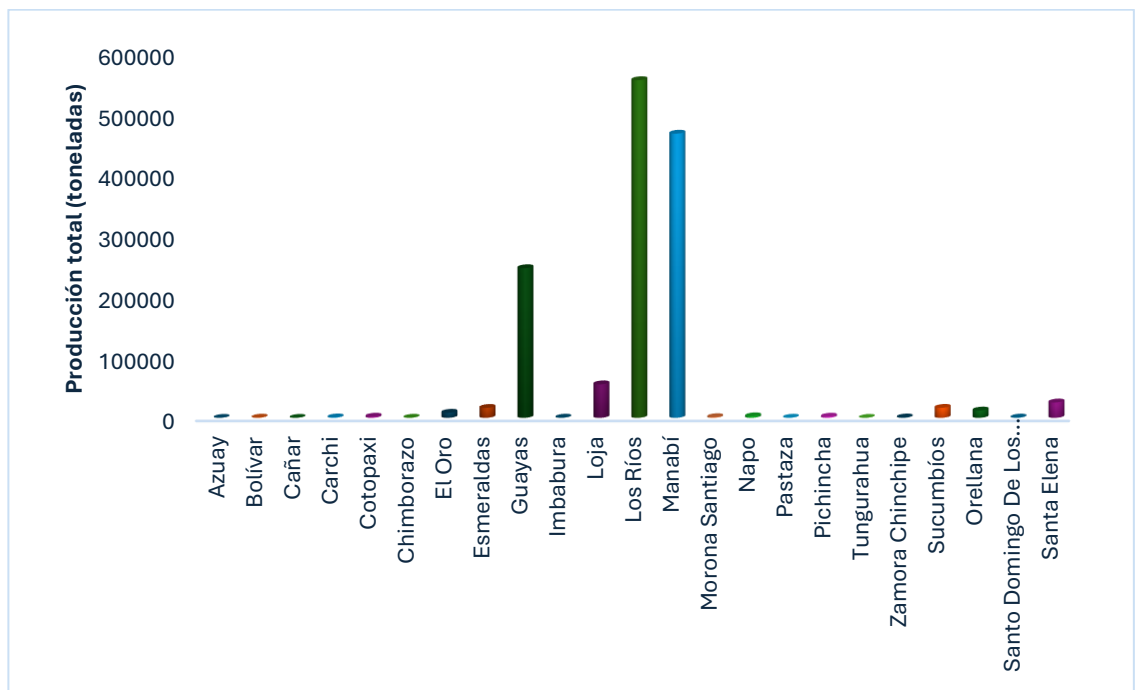


Figura 5. Producción total de maíz duro seco (grano seco). Elaboración propia.

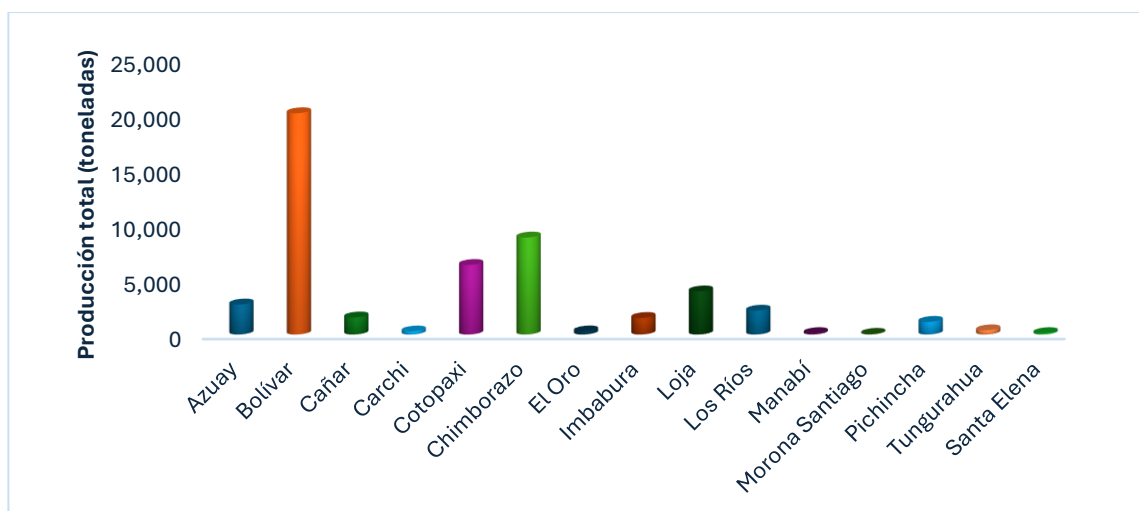


Figura 6. Producción total de maíz suave seco (grano seco). Elaboración propia.
Las variedades de maíz cultivadas en cada región son las siguientes (Cuadro 4) (Zambrano-Mendoza et al., 2021).

Cuadro 4. Cultivos de maíz.

Provincia	Variedad
Bolívar	Guagal y blanco leche
Imbabura	Variedades nativas de maíz de diversos colores, van desde el blanco, amarillo, rojos y negros
Cotopaxi	Tusilla, maíz amarillo “bola o bolón”, maíz blanco, morocho, maíz negro y chulpi
Chimborazo	Chazo, maíz de licto, racimo de uva INIAP-199 (variedad mejorada) y blanco blandito INIAP-102 (variedad mejorada)
Azuay	Kcello, zhima, morochón, blanco blandito y blanco harinoso dentado
Cañar	Zhima, maíz morocho y el maíz suave
Loja	Morochón, blanco harinoso dentado, tusilla, uchima, blanco blandito, blanco dentado, sabanero y kcello

2.10. Producción de maíz en México

En México, el maíz es el principal alimento básico, por lo que una reducción en su producción pondría en riesgo la seguridad alimentaria del país. México es hogar de aproximadamente la mitad de la diversidad genética de este cultivo en América, lo cual es esencial para los futuros programas de mejoramiento genético que podrían desarrollar variedades más resistentes a las condiciones ambientales (Ureta et al., 2020).

Según el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2019), el 54.5% del maíz blanco se produce en Sinaloa, Jalisco, México y Michoacán y el 59% de la producción de maíz de colores diversos se concentra en México y Chiapas. En el informe de SIAP (2023) (Figura 7) se sigue manteniendo la influencia de estos estados en la producción de maíz.

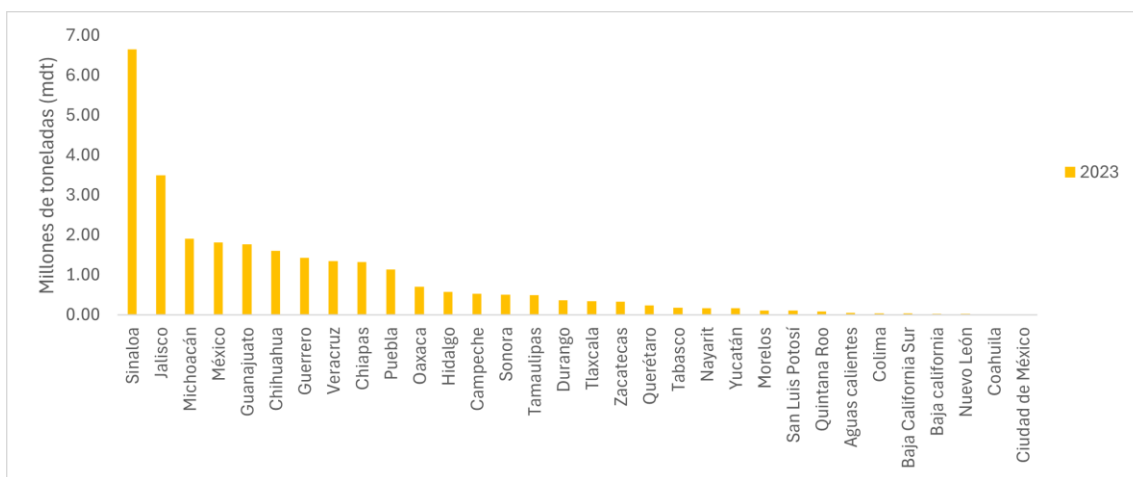


Figura 7. Producción nacional de maíz en los ciclos O-I y P-V del año 2023. Elaboración propia con información de SIAP.

Se estima que el consumo de maíz *per cápita* promedio es de 120 kg al año en la dieta de los mexicanos (Sangermán-Jarquín et al., 2018). Se ha calculado en promedio el consumo de 0.5 kg de maíz al día por persona en México (Rosado-Ortega & Villasante-Serrano, 2021). La amplia diversidad en dureza, tamaño y color del maíz mexicano es aprovechada para la elaboración de una amplia gama de alimentos (Barrera-Guzmán et al., 2020). En México, el maíz es consumido en

diferentes platillos típicos de su gastronomía; el consumo de maíz depende de la etapa de desarrollo del grano. En granos frescos se consumen en elote, esquites, granos hervidos en algún guiso, asados o procesados creando una masa que es utilizada en la preparación de tamales de elote dulce, totopos dulces o atole. Cuando los granos ya están secos son procesados en seco y se consumen como pinole, productos de panificación o en atole. Si se les aplica un proceso de nixtamalización se crea una masa que es usada para elaborar tortillas, tamales, bebidas fermentadas como pozol y atoles. Sin embargo, si los granos son hervidos pueden ser consumidos en pozole. Los estudios microbiológicos, composición química y nutricional de algunos productos elaborados típicamente son escasos.

Debido a la diversidad, demanda y alto consumo del maíz en México, el Senado de la República aprobó el 11 de octubre de 2023 un dictamen para declarar el 29 de septiembre de cada año como el “Día Nacional del Maíz”.

2.11. Maíz de color en México

La diversidad de maíces que hay a lo largo de la República Mexicana indica la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO, 2011) que es el resultado de tres influencias: la domesticación (teocintles), el ambiente en donde se cultiva (húmedos, secos, fríos y cálidos) y las prácticas agrícolas y de usos de más de 80 etnias indígenas. Relata Hernández (2009), que las civilizaciones más antiguas de América incluyendo a olmecas y teotihuacanos en Mesoamérica hasta los incas y quechuas en la región andina de Sudamérica estuvieron involucrados en su desarrollo del maíz. México es considerado el centro de origen, domesticación y diversificación del maíz (*Zea mays* L.). El Teocintle anual *Zea mays* ssp. *Parviglumis* Ittis y Doebley como el progenitor del maíz moderno *Zea mays* L. ssp. *Mays*, siendo principalmente la cuenca del río Balsas la región donde ha concurrido el Teocintle y el maíz moderno (Guerrero-Herrera & CONABIO, 2024). Desde el siglo XX y principios del XXI, el maíz es el cereal que ha tenido mayor relevancia en los diferentes sectores económicos a nivel mundial (Hernández, 2009). Siendo 64 razas de

maíces que se encuentran en México 59 son razas nativas. Ha pesar de la gran cantidad de híbridos que se han desarrollado, muchos pequeños productores siguen prefiriendo a los maíces nativos, señalan son más resistentes a las sequías (CONABIO, 2012; Sangermán-Jarquín et al., 2018).

El maíz es cultivado en México en diversas condiciones agroclimáticas, desde el nivel del mar hasta altitudes superiores a los 2500 m.s.n.m., de riego y temporal (Rincon et al., 2010). En México, el maíz es considerado el cultivo más importante, el 88% corresponde al maíz blanco, 11% amarillo y 1% de diferente color. Los maíces azules y morados son valorados por sus propiedades nutrimentales además de contener antocianinas, caracterizándoles como especiales para el consumo humano (Rodríguez-Pérez et al., 2023). El grano de maíz morado posee un contenido elevado de antocianinas que pueden ser utilizadas como pigmentos para atender la creciente demanda por la industria de alimentos (Salinas-Moreno et al., 2021; Antonio-Baustista et al., 2022). Además, un análisis cualitativo indicó la presencia de 12 metabolitos de diferentes grupos químicos incluyendo fenólicos, flavonoides entre otros (Lee et al., 2021) presentes en los granos de maíz.

El maíz es la materia prima más utilizada en América Latina en el proceso de elaboración de bebidas fermentadas (Chicha, variaciones de la preparación de chicha, tesgüino, pozole y atole) (Lasso-García et al., 2024).

Aunque en México existe una gran diversidad de maíces nativos (Figura 8) con antocianinas en grano y olote, es preferible usar un material exótico como donador para acelerar el proceso de obtención de variedades con alto contenido de antocianinas (Aguilar-Hernández et al., 2019). El contenido y tipo de antocianinas en el grano de maíz varía de acuerdo con el color del grano (Cuadro 5) y la concentración del pigmento en distintas estructuras (Salinas-Moreno et al., 2013). Sin embargo, se ha reportado que en maíces morados la antocianina mayoritaria es cianidina, en tanto que en maíces de color rojo-rosados la antocianina predominante es la pelargonidina (de Pascual-Teresa et al., 2002; Peniche-Pavía & Tiessen, 2020).



Figura 8. Diversidad de maíces cosechados y comercializados en San Juan Ixtenco, Tlaxcala, México.

Cuadro 5. Razas de maíz mexicano que poseen color en el grano sea claro o intenso (Rosado-Ortega & Villasante-Serrano, 2021).

Raza	Nombre	Color	Origen
Grupo cónico	Arrocillo	Amarillo, blanco y negro	Puebla, Veracruz, Hidalgo, Tlaxcala, Estado de México, Michoacán y Oaxaca
	Cacahuacintle	Blanco, rosa y azul	Estado de México, Hidalgo, Puebla, Tlaxcala, Veracruz y Michoacán
	Chalqueño	Color blanco, amarillo, rojo, rosado y azul	Durango, Zacatecas, La región de la mixteca Oaxaqueña, Querétaro, Hidalgo, Puebla, Tlaxcala y Estado de México
	Cónico	Blanco, amarillo morado y rojos	Estado de México, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, Oaxaca, Michoacán y Veracruz
	Cónico Norteño	Blanco, tonalidades de amarillo y morado	Guanajuato, Chihuahua, Zacatecas, Durango, Aguascalientes, San Luis Potosí, Coahuila, Nuevo León y Jalisco
	Dulce	Amarillo, rojo y morado	Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Zacatecas y Durango
	Elotes cónicos	Rojizo a morado o negro	Estado de México, Michoacán, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, Veracruz, Oaxaca, Guanajuato, Querétaro y Ciudad de México
	Mixteco	Blanco, amarillo y azul	Puebla y Oaxaca
	Mushito	Blanco, morado y pinto	Sierra madre del Sur, Oaxaca, Guerrero, Michoacán en la Meseta Tarasca y Jalisco
	Mushito Michoacán	de Diferente color	Michoacán
	Negrito	Azul oscuro y negro	Oaxaca e Hidalgo

Cuadro 5. Razas de maíz mexicano que poseen color en el grano sea claro o intenso (Rosado-Ortega & Villasante-Serrano, 2021) (continuación).

Raza	Nombre	Color	Origen
Grupo Sierra de Chihuahua	Apachito	Amarillo, blanco y rosado	Chihuahua
	Azul	Azul a violeta	Chihuahua
	Complejo serrano de Jalisco	Blanco, amarillo, rojas con tonalidades anaranjado	Jalisco y Colima
Grupo Hileras	Ocho Elotes Occidentales	Rosa a morado y roja	Nayarit, Jalisco, Durango, Zacatecas, San Luis Potosí, Morelos, Puebla, Guerrero, Oaxaca y Guanajuato
	Bolita	Variedad de colores	Oaxaca, Puebla, Hidalgo, Guerrero, Durango y Jalisco
Grupo Chapalote	Chapalote	Café, rosa y rojo cuando se cruza	Sonora y Sinaloa
	Dulcillo del Noreste	Amarillo y rojo	Sonora, Sinaloa, Nayarit, Chihuahua y Durango
	Elotero de Sinaloa	Azul	Sinaloa, Nayarit, Colima, Michoacán, Guerrero y Jalisco
	Nal-Tel	Amarillo, blanco, azul y rojo	Oaxaca, Campeche, Quintana Roo y Chiapas
Grupos Tropicales precoces	Ratón	Blanco, amarillo y azul oscuro	Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí, Durango, Veracruz, Zacatecas, Guerrero y Morelos
	Vandefño	Blanco, azul, amarillo y rojo	Chiapas, Sonora, Guerrero y Michoacán

Cuadro 5. Razas de maíz mexicano que poseen color en el grano sea claro o intenso (Rosado-Ortega & Villasante-Serrano, 2021) (continuación).

Raza	Nombre	Color	Origen
Grupo Maduración tardía	Zapalote Grande	Blanco, amarillo y azul	Itsmo de Tehuantepec, Guerrero, Veracruz, Chiapas y Oaxaca
	Chiquito	Blanco, amarillo, anaranjado y azul	Oaxaca
	Choapaneco	Amarillo, rojo y azul	Oaxaca
	Comiteco	Blanco, amarillo, azul, negro y rojo	Chiapas y Oaxaca
	Coscomatepec	Blanco, amarillo, rojo y azul	Veracruz y Puebla
	Olotillo	Variantes de colores	San Luis Potosí, Hidalgo, Veracruz, Oaxaca, Guerrero y Chiapas
	Tehua	Blanco, amarillo y morado	Chiapas
	Negro de Chimaltenango	Negro	Chiapas

2.12. Maíz morado de San Juan Ixtenco Tlaxcala

La comunidad YUMHU organiza la Feria del Maíz NGO R'O DETHÄ en San Juan de Ixtenco, Tlaxcala, feria donde los campesinos de la región y otros productores se reúnen y comercializan semillas, comida y artesanías (Figura 9). Además, de promover la importancia de las variedades de maíz que cultivan y cómo es el proceso de la siembra y preservación de estas. Sin embargo, la importancia de la preservación de estas variedades va más allá del ámbito económico, la relación en esta región con las tradiciones religiosas y la espiritualidad es la base importante del maíz morado en ritos y celebraciones. Los usos del maíz morado en la región van desde la elaboración de harina para atole, preparación de pinole, botanas, helado, hasta la elaboración artesanías hechas a base de las hojas de maíz o totomoxtle con pelos del xilote y cuadros usando además semillas de frijol, amaranto, chía y calabaza (Sangermán-Jarquín et al., 2018; COPAC A.C., 2019).



Figura 9. Productos que se ofertan en la Feria del maíz, San Juan Ixtenco, Tlaxcala, artesanías, gran diversidad de maíz, comida como el atole agrio y cerveza artesanal elaborada con maíz negro (morado) del lugar.

2.13. Productos de maíz a nivel mundial

Se estima alrededor de 3500 productos alimenticios y tecnológicos que son elaborados a partir del maíz. El maíz tiene vitaminas B (B1, B2 y PP), calcio, magnesio, fósforo y hierro, además de oligoelementos (cobre, níquel, etc.) permite la creación en conjunto con otros productos de alimentos con múltiples beneficios (Sots & Bnviak, 2018). La elaboración de estos alimentos contribuye a la seguridad alimentaria mundial, a la política agrícola (Martinez & Fernandez, 2019) y disminuye las cargas ambientales (Jiao et al., 2022), se disminuye el almacenamiento de recursos importantes que pueden procesarse y también abarata costos al ser utilizados los subproductos del procesamiento del maíz en los diferentes procesos.

El mercado mundial de maíz experimentó un crecimiento significativo entre 2010 y 2016. Este crecimiento, es impulsado por la demanda para el consumo humano, bocadillos, espesantes, pastas, jarabes, endulzantes, aceite de maíz, bebidas sin alcohol, piensos, farmacéutica, combustibles, almidón, y la industria cervecera y alcohólica (Sots & Bnviak, 2018), bebidas espirituosas y productos de panadería leudados químicamente (Serna-Saldivar & Perez-Carrillo, 2019).

Los subproductos de la molienda húmeda de maíz, se usa para la producción de almidón puro, endulzantes, dextrosa, fructuosa, glucosa, jarabes, almidón industrial, fibras, etanol y aceite de maíz a partir del germen. El germen (tocolos y fosfolípidos) y la fibra (fitoesteroles y carbohidratos complejos) representan un gran potencial para ser utilizados como precursores de ingredientes alimentarios nutracéuticos y funcionales de calidad, ya que poseen propiedades antioxidantes (Deepak & Javadeep, 2021). Los productos que se obtienen de la molienda en seco del maíz son los copos, harina y la sémola de maíz. Las cualidades nutricionales que estos alimentos poseen influyen en el estatus de muchas civilizaciones en todo el mundo (Serna-Saldivar & Perez-Carrillo, 2019). El maíz nixtamalizado es un ejemplo de ello, los granos son remojados y cocidos (no totalmente) en una mezcla de agua y cal. Después, son lavados y molidos hasta formar masa como se le conoce en México. La masa es la base para la elaboración de alimentos como lo son las tortillas, tamales, algunas bebidas calientes (atole) y frías (pozol). Se prevé que el crecimiento del mercado mundial del maíz continúe hasta 2025 (Soare et al., 2018), además de mejorar los beneficios económicos.

2.14. Subproductos de la cosecha de maíz morado

El olote es un tejido esponjoso y de color variado que resulta del proceso de desgranado (Valdivieso, 2020; Lozano-salas et al., 2025). Su estructura (Figura 10) consta de tres secciones; médula, anillo leñoso y paja (gluma), las cuales poseen características diferentes en cuanto a forma, estructura y densidad. El olote está compuesto principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina. La

medula está compuesta por tejido poroso que le proporciona mayor capacidad de carga manteniendo una baja densidad. El anillo leñoso es una estructura tubular hueca compuesta principalmente por celulosa y unida por lignina lo cual le da la característica dureza a la estructura. La paja (gluma) tiene una microestructura porosa y esponjosa (Zou et al., 2021; Hernández-García, 2023).

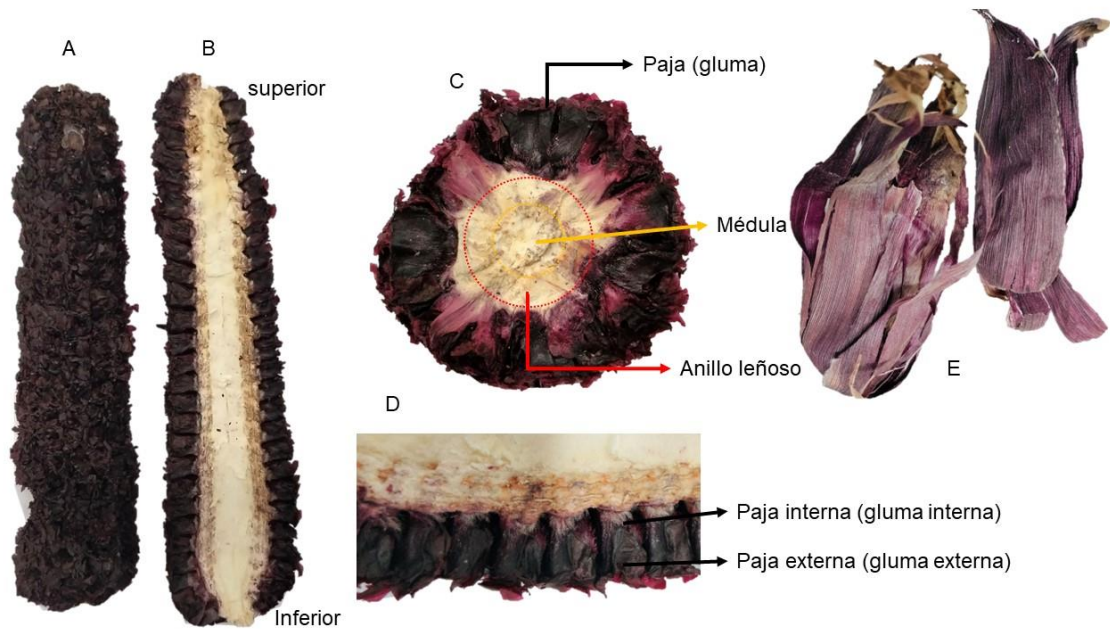


Figura 10. Macroestructura del olote de maíz morado de San Juan Ixtenco, Tlaxcala: (A) olote de maíz entero; (B) sección longitudinal del olote de maíz; (C) sección transversal de la parte inferior del olote; (D) sección axial del olote de maíz y (E) hoja de maíz (totomoxtle).

2.15. Usos del olote morado

Se estima que por cada tonelada de maíz se obtienen 170 kg de olote. En conjunto, el olote y el jilote (xilote, shilote, cabello o seda) no son utilizados completamente lo cual genera problemas ambientales (CIMMYT, 1995; Hernández-García, 2023). Sin embargo, no representa ningún valor monetario para los productores por lo que termina siendo alimento para los animales, incinerado y como combustible para cocinar, provocando un incremento en la contaminación del medio ambiente mediante la generación de gases de efecto invernadero (Elegbede et al., 2021; Ginni et al., 2021; Lozano-Salas et al., 2025).

Los pigmentos presentes en el olote de maíz de color pueden reducir los efectos dañinos de los factores que provocan el cáncer colorectal, antitumorales y antiinflamatorias, mejoran la circulación sanguínea y promueven la regeneración del tejido conectivo, colágeno, entre otros (Rabanal-Atayala & Medina-Hoyos, 2021). Según Díaz-García et al. (2021), 100 g de olote morado seco contienen aproximadamente 41.32 ± 0.95 mg de antocianinas, y la dosis recomendada es de 20 mg al día (García-Pastor, 2016) a 150 mg (Saini et al., 2024), con el propósito de contrarrestar la oxidación celular causada por los radicales libres (Beristain-González et al., 2023).

El olote es utilizado para la preparación de bebidas tradicionales como lo es el atole agrio en San Juan Ixtenco, Tlaxcala; tal como lo reporta Díaz-Mora (2016) en una variante de preparación de esta bebida que indica que además de remojar el maíz también se ocupa olote para potenciar el color en la bebida final, el cual es retirado después de esta etapa y antes de la molienda del grano, solo se ocupa el agua de remojo para la preparación. También, el olote se utiliza para realizar algunas artesanías de la misma forma las hojas de totemoxtle (Avendaño, 2023).

Además, Beristain-González et al. (2023) han propuesto una línea de productos a base de olote morado con alto contenido de antocianinas y potencial antioxidante, incluyendo té, cápsulas y fibra. Aplicó un proceso de esterilización al olote por medio de luz UV sin embargo es preciso aplicar la onda de radiación necesaria para incrementar el grado de esterilización en el olote.

Pérez-Sauñi (2014), elaboró un producto tipo mermelada sin contenido de fruto solo a base de antocianinas extraídas del olote de maíz morado usando agua ácida como disolvente además usó Stevia como edulcorante en dos concentraciones 1.5% y 2%, siendo la concentración de 2% de Stevia aceptada por un 88% en la prueba de aceptabilidad del producto.

Choquemamani-Vera & Jara-Juhuanca (2022), formularon una bebida nutracéutica utilizando una mezcla de camu camu (13%), quinua (17%) y olote de maíz morado (70%).

2.16. Sistemas de extracción acuosa en dos fases (ATPE o ATPS)

La extracción que utiliza sistemas bifásicos acuosos es una técnica ampliamente utilizada en biotecnología como método de recuperación, extracción, concentración y purificación de material biológico (Guerrero-Eraso, 2009; Espitia-Saloma et al., 2014; Xavier et al, 2017). Es un método alternativo para extraer compuestos de interés que comparados con los métodos convencionales su aplicación es sencilla, son selectos y biocompatibles, se ha demostrado la capacidad para reemplazar solventes orgánicos volátiles convencionales que su uso causa contaminación ambiental; sin embargo, algunos sistemas requieren tiempos largos de sedimentación (Raghavarao et al., 2003; Phong et al, 2018; Carranza-Gómez, 2021). Estas características han permitido su uso para la extracción y separación de biomoléculas lábiles como proteínas, enzimas, ácidos nucleicos, antocianinas, antibióticos, etc. (Raghavarao et al., 2003; Wang et al., 2010; Guo et al., 2012). La formación de dos fases inmiscibles se lleva a cabo cuando se mezclan dos polímeros o un polímero y una sal en agua. La distribución en equilibrio del compuesto de interés a extraer en el sistema no solo depende de las propiedades de superficie sino también de las propiedades fisicoquímicas de las dos fases (Guerrero-Eraso, 2009; Caldeira et al., 2019).

Los factores que se deben considerar para los sistemas acuosos bifásicos son los siguientes (Raghavarao et al., 2003; Caldeira et al., 2019).

- La naturaleza y concentración del polímero. La relación que existe entre el peso molecular del polímero y la concentración de este es importante debido a que cuanto mayor sea el peso molecular la concentración requerida para la formación de las fases será menor. Si la diferencia es mayor en el tamaño molecular entre dos polímeros será más asimétrico el binodio. Cuanto la diferencia hidrofóbica entre los componentes formadores de fases es mayor la tendencia hacia la formación de fases.
- Temperatura. A temperaturas bajas, los sistemas compuestos por polímero-polímero se separan en fases en concentraciones individuales relativamente bajas, para el sistema polímero-sal la formación de estas

fases requieren una concentración mayor del polímero, sin embargo, para realizar extracciones a escala industrial se deben realizar a temperatura ambiente por el cambio de la viscosidad que la temperatura puede modificar en el sistema.

- Tipo de sal y concentración.

El uso de los sistemas bifásicos acuosos en la industria se ve obstaculizado en gran medida por la alta complejidad del sistema combinada con un bajo nivel de educación y experiencia en sistemas de fase (Bensch et al., 2007). Es importante además de la producción, una vía económica y sencilla que permita la separación y purificación (Morilla et al., 2019; Leong et al., 2023).

La extracción específica de componentes se ha mencionado como característica importante de los sistemas de extracción bifásicos comparado con los sistemas convencionales, lo cual es deseado en la extracción de compuestos antocianos que la mayor parte sea extraída con su estructura pura y sean separados de demás componentes que puede afectar su conservación y uso (azúcar, ácidos orgánicos, aminoácidos y proteínas) (Wu et al., 2011; Chandrasekhar et al., 2012).

Cabe mencionar que los componentes utilizados en los sistemas bifásicos deben ser considerados según las características que permitan su recuperación al concentrar el extracto final y sean los residuos mínimos que queden en este. El sistema con sal y alcohol tiene más potencial de aplicación en la industria debido a las ventajas que posee el alcohol como lo es la baja viscosidad, menor costo y una fácil aplicación además de su rápida evaporación por uso de calor y su respetuosa interacción con el medio ambiente (Guo et al., 2013; Ma et al., 2013; Wu et al., 2014), siendo el etanol en comparación con el metanol, el 1-propanol y el 2-propanol el de mayor uso debido a su baja toxicidad, un punto de ebullición moderado y un costo más bajo lo que hace su uso accesible para producciones a gran escala (Tan et al., 2014). Su uso mejora el rendimiento de extracción de las biomoléculas de interés además mejora la pureza de estos en los extractos (Wu et al., 2011; Abdoulaye & Önal, 2023; Xi et al., 2023).

Simental-Martínez et al. (2014), evaluaron el uso de los sistemas de etanol-fosfato potásico para fraccionar compuestos de bajo peso molecular y la sal de polietilenglicol, la sal de acetato de 1-etil-3-metilimidazolio logró rendimientos de recuperación superiores al 75%.

Liu et al. (2013) demostraron que el uso del sistema de alcohol y fosfato monosódico (NaH_2PO_4) cuando la concentración de la sal o el contenido de etanol aumentó dio como resultado una mejor extracción de las flavonas de madreelva en la fase superior con más del 98% en las condiciones óptimas del sistema (pH 5,0, NaH_2PO_4 4,6 g y etanol 36% (v/v)).

Al usar un sistema compuesto por etanol-sal la formación de las fases es más rápida comparada con otros componentes, después de reposar el sistema durante 1 min, se forman las dos fases, una superior y una inferior (Xie et al., 2022).

2.17. Antocianinas

Las antocianinas son flavonoides pigmentados solubles en agua, cuya función en la estructura vegetal de las plantas sirven como agentes protectores a las plantas de la luz ultravioleta, disminuyendo el daño fotooxidativo, protegiendo a los cloroplastos del exceso de energía y disminuyendo las especies reactivas de oxígeno (Campanella et al., 2014), pueden ser atrayente o repelente, esto juega un papel importante en la reproducción vegetal para mantener la supervivencia de la especie, atraer insectos polinizadores o consumidores de los frutos ayuda en la distribución de semillas en el medio ambiente (Garzón, 2008). Las antocianinas de tonalidad azul evolucionaron hace 300-350 millones de años junto con las gimnospermas. Las antocianinas de color rojo son más antiguos, tanto como los musgos alrededor de 450 millones de años (Campanella et al., 2014).

Por todos los beneficios que aporta su consumo a la salud, las antocianinas pueden ser considerados el grupo de pigmentos vegetales más importantes (Kong et al., 2003). Estos pigmentos tienen propiedades bioactivas que pueden utilizarse en las industrias nutracéutica, alimentaria y textil (Giusti & Wrolstad,

2003; Mendoza-Mendoza et al., 2017). La Unión Europea regula el uso de las antocianinas como aditivo alimentario con el número E-163 (Jadhav et al., 2020). La variedad de colores que aporta en la aplicación en los alimentos y su origen natural incrementa la atención de los consumidores (Zhang et al., 2019). La tonalidad de la antocianina depende del número y posición de los grupos hidroxilo y metoxilo en la molécula ya que al incrementar la hidroxilación las tonalidades son azules y si se incrementan los metoxilaciones son de tonalidades rojas (Garzón, 2008; Mathias-Rettig & Ah-Hen, 2014).

Las antocianinas se encuentran en frutas, verduras, flores y gramíneas como el maíz morado, trigo y arroz (Zhang et al., 2019). Sin embargo, el costo de extracción y producción son los principales factores que interfieren en la aplicación de antocianinas en la industria alimentaria (Caldeira et al., 2022).

2.17.1. Estructura

Las antocianidinas constituyen las estructuras fundamentales de las antocianinas (Figura 11). Estas moléculas presentan un anillo aromático (A) enlazado a un anillo heterocíclico (C) que contiene oxígeno, el cual a su vez está conectado por un enlace carbono-carbono a otro anillo aromático (B). El nivel de hidroxilación y metilación en el anillo B de la molécula determina el tipo de antocianidina, esto es la aglicona de la antocianina (Aguilera-Otíz et al., 2011). Cuando dichas estructuras se enlazan a un componente de azúcar en su forma glicósida, se denominan antocianinas (Castañeda-Ovando et al., 2009).

Las antocianinas se clasifican con base en el número de azúcares presentes en su estructura, monoglucósidos (un azúcar), diglucósidos (dos azúcares) y triglucósidos (tres azúcares). Cuando la molécula de antocianinas está constituida únicamente por azúcares se denomina no acilada y, si está presente uno o varios radicales acilo, se denomina acilada (Aguilera-Otíz et al., 2011).

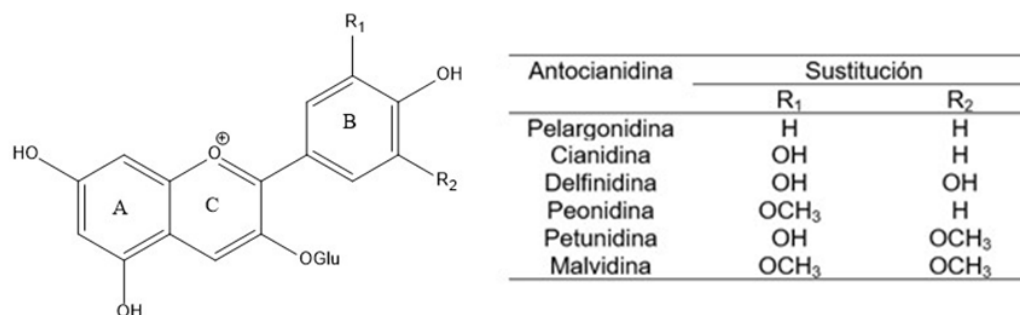


Figura 11. Estructura química de las antocianinas (Kuskoski et al., 2004; Özgür & Çimen, 2018; Jadhav et al., 2020).

Se ha identificado que el 90% de los más de 550 tipos de antocianinas presentes en la naturaleza se derivan de las antocianinas solo seis antocianidinas (Liu et al., 2021), las cuales son pelagornidina, delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvinidina (Aguilera-Otíz et al., 2011).

2.17.2. Biosíntesis

La ruta de la biosíntesis no es lineal, presenta ramas y rutas metabólicas alternativas (Figura 12) (Yan et al., 2021). En el proceso de biosíntesis de las antocianinas se da a través de la vía del fenilpropanoide (Del Valle-Leguizamón et al., 2005; Liu et al., 2021). El aminoácido aromático que entra es la fenilalanina. Se produce en la vía del shikimato (Chaves-Silva et al., 2018). Después se desamina por la fenilalanina amoniaco liasa (PAL) (Yan et al., 2021) el cual se lleva a cabo en el retículo endoplasmático (RE) (Park et al., 2015) a ácido cinámico. Ocurre una hidroxilación del ácido cinámico por el cinamato 4-hidroxilasa (C4H) a ácido 4-cúmarico. El ácido 4-cúmarico es activado por la 4-cinamato-CoA ligasa (4CL) a 4-cumaril CoA (Yan et al., 2021). El 4-cumaril CoA se condensa con tres moléculas de malonil-CoA para formar la chalcona (naringenina chalcona o tetrahydrochalcona) por la acción de la chalcona sintasa (CHS). La chalcona isomerasa (CHI) convierte a la chalcona en la flavanona naringenina. Es un flavonoide central intermediario (Chaves-Silva et al., 2018). La dihidrofavonol 4-reductasa (DFR) cataliza el hidroflavonol, lo cual permite la síntesis de antocianinas incoloras. Estas antocianinas son las estructuras básicas de los flavonoides y antocianinas (Yan et al., 2021). Los cuales son oxidados por

la antocianidina sintasa/leucoantocianidina dioxigenasa. Se producen las antocianinas con pigmentos gracias a la acción de la antocianidina sintasa (ANS). Al agregarse a su estructura azúcares y otras fracciones, se vuelve más estable y soluble su estructura. Se almacenan en las vacuolas por el glutatión S-transferasa (GTS) (ANS/LDOX) (Chaves-Silva et al., 2018).

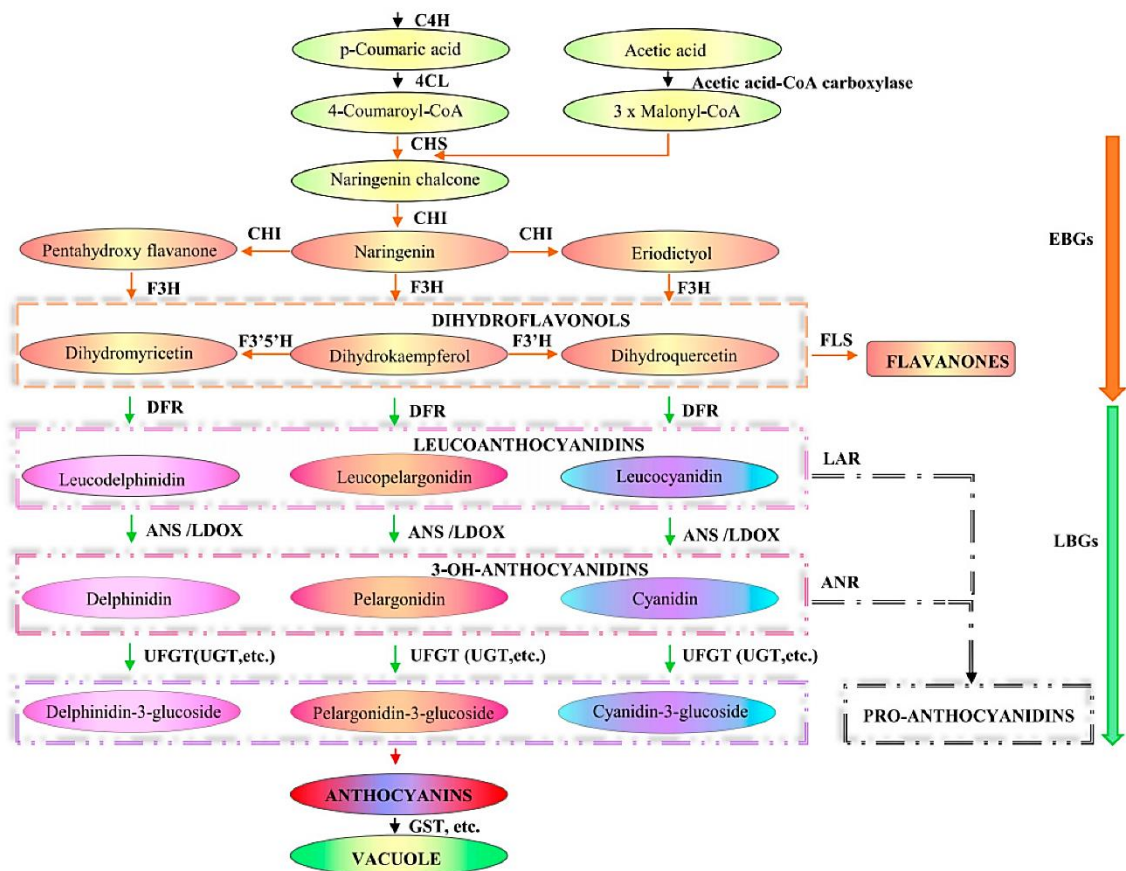


Figura 12. Ruta biosintética de las antocianinas (Yan et al., 2021).

2.17.3. Factores que afectan la estabilidad

Los factores que afectan la estabilidad de las antocianinas son pH (Figura 13), genética, la temperatura, luz, el estrés hídrico y oxígeno, además de considerar las condiciones en las que se realiza el proceso de extracción y almacenamiento previo a la extracción (Jing et al., 2007; Yang et al., 2008; Santos et al., 2012; Kapcum & Urivapongson, 2018; Hong et al., 2020; Peniche-Pavía & Tiessen, 2020; Cai et al., 2023). A continuación se discuten estos factores.

pH: cuando las antocianinas se encuentran a un pH de 1, la forma predominante es el catión flavilio, el cual es responsable de los tonos rojos y púrpuras. Cuando el pH va de 2 a 4, son las especies quinoidales de color azul. Entre pH de 5 y 6, se observan una pseudo base carbinólica y una chalcona. A pH mayor de 7, las antocianinas se descomponen según corresponda al grupo constituyente (Castañeda-Ovando et al., 2009).

Temperatura: la acción de las altas temperaturas acelera el proceso de degradación en las antocianinas. Se reduce su estabilidad y la retención de color (Enaru et al., 2021).

Luz: la exposición a luz ultravioleta incrementa la inestabilidad y degradación de las antocianinas (Enaru et al., 2021).

Oxígeno: El oxígeno puede aumentar la velocidad de degradación de las antocianinas a través de dos vías: mediante un proceso de oxidación directa o por la actividad de enzimas oxidativas (Patras et al., 2010).

Algunas de las estrategias que se han desarrollado para incrementar su estabilidad es la modificación de su estructura, este proceso se denomina acilación, la combinación de antocianinas con proteínas y polisacáridos que da como resultados complejos estables, la micro y nano encapsulación (Saini et al., 2024). La co-pigmentación es el resultado de las asociaciones moleculares con otros compuestos orgánicos incoloros o iones metálicos. Este cambio produce un incremento en la intensidad del color (Enaru et al., 2021).

Aunque ya se han estudiado técnicas que mejoran la estabilidad y almacenamiento de antocianinas no todas pueden llegar a ser de acceso en la industria debido al costo de su aplicación.

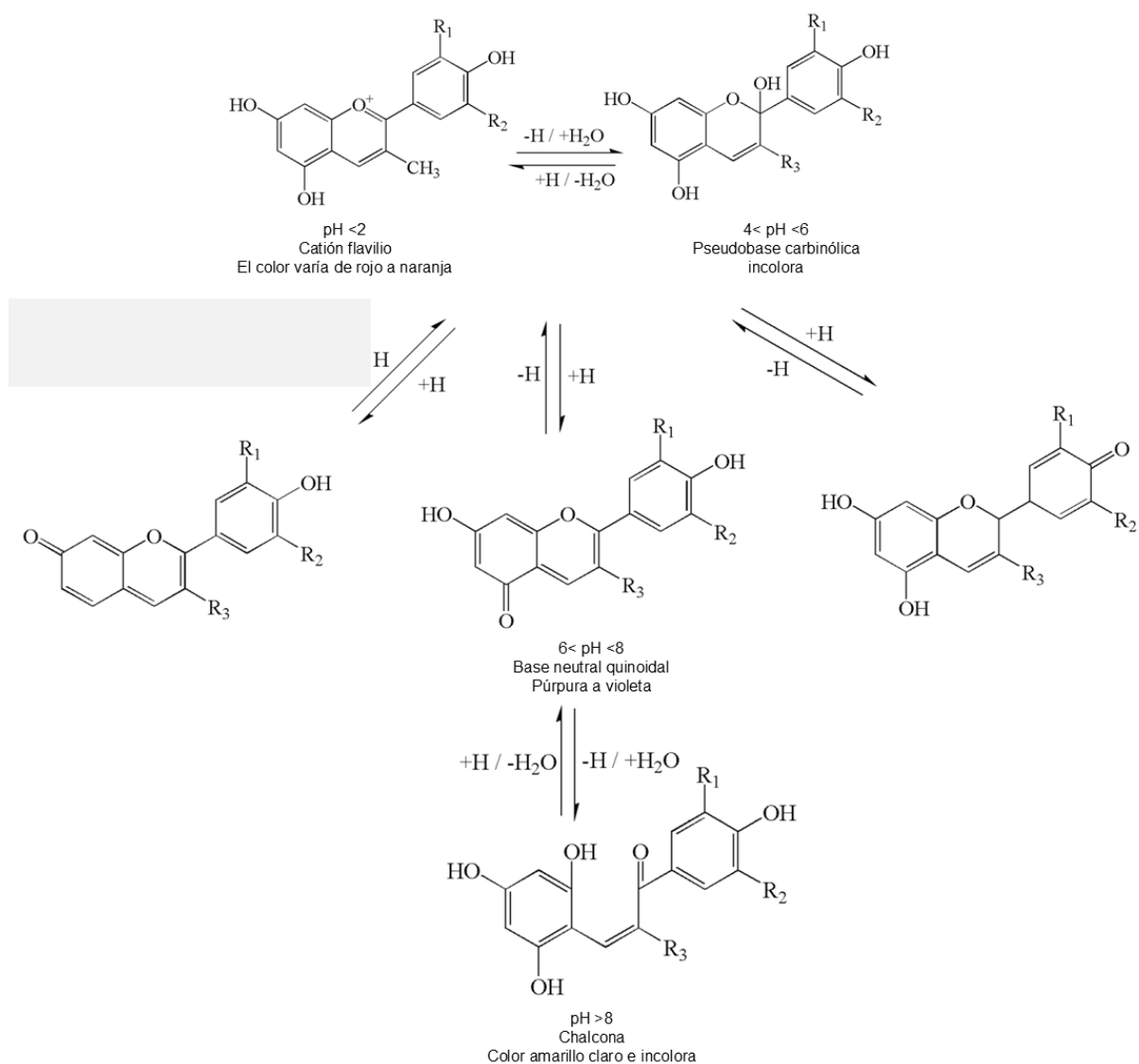


Figura 13. Comportamiento de las antocianinas a diferentes pH. Modificado de Liu et al. (2021).

2.18. Comercio de antocianinas

Fact.Mr. (2022), en su análisis de “Anthocyanin Market Outlook (2022–2032).”, ha estimado que el incremento en el mercado de antocianinas para el año 2032 será de USD 527.8 millones, lo cual representa un incremento de 4.3% en el mercado mundial (2022-2032). Es importante mencionar que este análisis incluye a más de 30 países en los cuales están EE. UU., Canadá, Reino Unido, Alemania y otros, siendo principalmente el mercado de aplicación la industria alimentaria

con aplicación en alimentos y bebidas el cual representa el 41.4%, la industria farmacéutica y productos para el cuidado personal. China, impulsa el mercado en productos ricos en antocianinas para el cuidado personal. Además, el uso de antocianinas en la elaboración de indicadores de calidad en los empaques inteligentes ha incrementado la demanda y puede considerarse como un impulso positivo para acelerar la aceptabilidad en otras aplicaciones (Saini et al., 2024).

2.19. Métodos de extracción

La extracción de antocianinas se ha realizado por métodos convencionales como lo es la maceración y con disolvente ácido metanólico, sin embargo, el uso de ultrasonidos incrementa la concentración final de antocianinas. Otros métodos de extracción es la extracción asistida por microondas, calentamiento óhmico, uso de disolventes supercríticos (Navarro et al., 2018), extracción asistida por ultrasonidos (Fernandez-Aulis et al., 2019) y altas presiones (200-600 MPa) combinando con el pH (Itthisoponkul et al., 2018).

2.20. Extracción de antocianinas con extracción acuosa en dos fases

El uso de ATPS empleados en la extracción de compuestos de interés, tiene un costo menor en los reactivos que los constituyen además del tiempo de extracción relativamente rápido y efectivo. Algunos sistemas aplicados se presentan en el Cuadro 6.

2.21. Aplicación de antocianinas de maíz

Las antocianinas de maíz se utilizan en la industria como colorantes naturales. La capacidad de proporcionar diferentes colores es muy valiosa. Esto incrementa las áreas de aplicación generando oportunidades en su uso. En el Cuadro 7, se enlistan algunas aplicaciones.

Cuadro 6. Sistemas acuosos bifásicos utilizados para extraer antocianinas de diferentes muestras.

Muestra	Composición del sistema	Condiciones de extracción	Observaciones	Referencia
arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i>) en madurez de consumo	Citrato trisódico (Na_3Cit) (17.73%), Polietilenglicol (PEG) 4000 (21.33%) y jugo como disolvente	Separación pasiva de 30 min. posterior centrifugación de 15 min.	Mayor concentración de antocianinas y menor concentración de azúcares en la fase superior.	Carranza-Gómez (2021)
<i>N. tangutorun</i>	Fosfato monosódico (NaH_2PO_4) (28%), etanol (26%) y agua desionizada (46%) como disolvente	Tiempo de extracción de 45 min a temperatura de 65 °C		Sang et al. (2018)
<i>L. ruthenicum</i>	agua desionizada (46%) como disolvente	Tiempo de extracción de 45 min a temperatura de 45.4 °C		
<i>Lycium ruthenicum</i> Murr	Etanol (25%) y sulfato de amonio (20%)	Tiempo de extracción de 33.7 min, temperatura de 25 °C, asistido por ultrasonidos (600 W), pH 3.98 y relación líquido - sólido de 50:1 p/p	Los rendimientos de antocianinas alcanzaron de 4.71 mg/g de muestra seca.	Qin et al. (2017)

Cuadro 6. Sistemas acuosos bifásicos utilizados para extraer antocianinas de diferentes muestras (continuación).

Muestra	Composición del sistema	Condiciones de extracción	Observaciones	Referencia
Batatas moradas	Etanol (25% p/p) y sulfato de amonio (22% p/p)	Metodología de superficie de respuesta (RSM), relación líquido-sólido 45:1 (mL/g), pH 3.3	Rendimiento óptimo de antocianinas de 90.02% y coeficiente de partición de 19.62%	Liu et al. (2013)
Camote morado	Etanol y sulfato de amonio	Metodología de superficie de respuesta (RSM), baño ultrasónico a 52.48 °C durante 48.19 min. y 1.60 g de muestra	Rendimiento de extracción de 191.09 mg/ L	Yin et al. (2017)
Morera (<i>Morus Atropurpurea</i> Roxb)	Etanol (30% p/p), sulfato de amonio (20% p/p), jugo de morera (10% p/p) y agua (40% p/p)	Temperatura de extracción de 35 °C, pH 4.5	Sistema de uso prometedor para la purificación de los pigmentos.	Wu et al. (2011)
Morera (<i>Morus Atropurpurea</i> Roxb)	Etanol (39% p/p), sulfato de amonio (13% p/p)	Metodología de superficie de respuesta (SRM), relación líquido-sólido de 45:1, asistido por microondas por un tiempo de 3 min., temperatura del microondas de 32 °C y potencia de 480 W	Obteniendo una recuperación de 86.35 ± 0.32% de antocianinas de morera.	Wang et al. (2024)

Cuadro 6. Sistemas acuosos bifásicos utilizados para extraer antocianinas de diferentes muestras (continuación).

Muestra	Composición del sistema	Condiciones de extracción	Observaciones	Referencia
Jugo de uva	Fosfato monosódico (NaH_2PO_4) (28% p/p), etanol (25% p/p), 1 mL de jugo de uva	Tiempo de extracción 60 min., temperatura de extracción 25 °C (298.15 K)	El 90% de las antocianinas presentes en el jugo permanecían en la fase superior y al aplicar una extracción continua dos veces podían eliminar más del 90% de los azúcares	Wu et al. (2014)
Col lombarda (<i>Brassica oleracea</i> L.)	Polietilenglicol (PEG) 4000 (14.8% p/p) y sulfato de magnesio (10.3% p/p)	Osmosis directa	Concentración de antocianinas presentes fue de 3123.45 mg/L y 43 °Brix	Jampani y Raghavarao (2015)
Col lombarda (<i>Brassica oleracea</i> L.)	Etanol (27% v/v), sulfato de amonio (22% v/v) y extracto de antocianinas (2.5% v/v)	pH 3	dieron un rendimiento de extracción del 83.7% para las antocianinas de la col lombarda.	Abdoulaye y Önal (2023)
Granada (orujos de granada).	Etanol (28 g/100) y sulfato de amonio	Ultrasonidos (27 min., 330 W), metodología de superficie de respuesta de diseño compuesto central (CCD-RSM) y algoritmo genético de red neuronal artificial (ANN-GA)	El contenido de antocianinas fue de 57.01 ± 1.36 mg/g PS de cianidina-3-O-glucósido	Yue et al. (2024)

Cuadro 6. Sistemas acuosos bifásicos utilizados para extraer antocianinas de diferentes muestras (continuación).

Muestra	Composición del sistema	Condiciones de extracción	Observaciones	Referencia
Hojas de <i>Peristrophe bivalvis</i> (L.) Merr. (Acanthaceae) <i>Syzygium cumini</i>	Cloruro de colina (HBA), butanodiol (BDO), etilenglicol (EG) y ácido láctico	Temperatura de extracción de 30 °C	obteniendo concentraciones de cianidin-3-glucósido de 10.52 ± 0.78 mg a 40 °C y 10.78 ± 0.84 mg	Meng et al. (2023)
	Etanol (32.5%) y sulfato de amonio (25%)		80% de las antocianinas recuperadas	Le et al. (2023)
	Etanol y sulfato de sodio	Extracto crudo	Rendimiento de la fase superior del 95.55%	Caldeira et al. (2022)
Daucus carota L	Sulfato de amonio (20%), extracto crudo (12%), Polietilenglicol 6000 (14%)	Metodología de superficie respuesta	Rendimiento de extracción del 94.17%	Li et al. (2021)
Açaí (fruta típica de la amazonia brasileña)	Etanol (28% p/p) y sulfato de amonio (17.5% p/p)		Obteniendo la fase superior rica en antocianinas y la fase inferior los azúcares	de Abreu Siqueira et al. (2023)
Frutos de <i>Rosa pimpinellifolia</i> L.	Etanol (26.85% p/p), sulfato de amonio (19.15% p/p)	Sistema asistido por microondas por 17.29 min a temperatura de 60 °C y 400 W, con una relación liquido-sólido de 40	Rendimiento de antocianinas de 1373.04 mg de equivalente de cianidina 3-glucósido/g de RPF seco	Odabaş y Koca (2021)
Jamun	polietilenglicol (PEG) 6000 (16% p/p) y sulfato de magnesio (10.9% p/p)		Dio como resultado una partición máxima de antocianinas en la fase superior de ~100,0 % y la fase inferior de 72.9 %	Chandrasekhar y Raghavarao (2015)

Cuadro 7. Aplicación de las antocianinas extraídas de la planta de maíz morado.

Muestra	Aplicación	Referencia
Zea mays L. var. ceratina (AZC)	Disminuir la muerte de células neuronales (SH-SY5Y) inducidas a toxicidad empleando dosis de peróxido de hidrógeno, obteniendo resultados positivos en la reducción de la muerte celular además de demostrar la importancia de la aplicación de las antocianinas como neuro protector.	Mairuae et al. (2024)
Olote de maíz morado	Obtención de un extracto rico en antocianinas aplicadas a un alimento extruido. La adición del extracto incremento en el alimento el contenido fenólico total además de las propiedades funcionales y la estabilidad física.	Rolandelli et al. (2023)
Olote de maíz morado	Película activa e inteligente, elaborada con almidón de papa, antocianinas de mazorcas de maíz morado y aceite esencial de molle. La película tuvo buenos resultados de inhibición para Escherichia coli.	Chavez-Marquez et al. (2023)
Hojas, olote y seda de maíz morado mexicano	Bebidas funcionales, infusiones, snack, tortillas y téis calientes obteniendo un total de 95 mg de antocianinas/ 300 g de alimentos a base de maíz morado y 750 mL en las bebidas.	Mendoza-Mendoza et al. (2023)
Olote de maíz morado ceroso	Hidrogel con serina y extracto de maíz morado con mayor capacidad permeable en la piel, incremento en la hidratación además de la producción de colágeno.	Kanpipit et al. (2023)

Cuadro 7. Aplicación de las antocianinas extraídas de la planta de maíz morado.

Muestra	Aplicación	Referencia
Olote de maíz morado	Obtención de un extracto por medio de irradiación asistido por infrarrojo (IR) para pigmentar nabos encurtidos. Obteniendo las condiciones óptimas de extracción por medio de superficie de respuesta a 63 °C durante 77 min.	Barba et al. (2022)
Polvo de extracto de maíz morado	Combinación de polvo del extracto de maíz morado y aceite de salvado de arroz negro para la conservación de la carne de res fresca en refrigeración, obteniendo hasta 5 días valores aceptables de recuento microbiano y valores del ácido tiobarbitúrico (TBARS) empleando combinaciones de 2%, 3% de polvo de extracto y 2% + 0.2% de aceite.	Purba et al. (2020)
Extracto de maíz morado	Aplicación del extracto de maíz morado y uña de gato en la elaboración de bebidas funcionales empleando Stevia y sacarosa.	Flores-Aguilar y Flores-Rivera (2018)
Maíz morado	Aplicación de zinc y alginato de sodio a antocianinas de maíz morado empleadas en una bebida. Esta combinación incremento la estabilidad de las antocianinas hasta por 12 semanas.	Luna-Vital et al. (2018)
Harina de maíz rojo oscuro y azul	Las condiciones de horneado de galletas presentan potencial para la liberación de compuestos fenólicos, sin embargo, es necesario realizar ajustes en el proceso de cocción debido a la pérdida de antocianinas e incluso la adición de ácido cítrico mejorar el contenido de compuestos fenólicos.	Žilić et al. (2016)

2.22. Uso de pigmentos en alimentos

Lo primero que percibe el consumidor de un alimento es su color, lo que influye en la aceptación o rechazo, es relacionado según la percepción del consumidor con la calidad del alimento (Sant'Anna et al., 2013). La mayoría de los alimentos incluye en su proceso colorantes azoicos. Los de mayor uso son amarillo (5 y 6), rojo (2, 4, y 40) y naranja (B). La ventaja de emplear colorantes sintéticos en la industria de los alimentos se da por la amplia gama de tonalidades además de la estabilidad, no presentan sabor o aroma en la matriz alimentaria de uso (Badui, 2006).

2.23. Literatura citada

- Ai, Y., & Jane, J. (2016). Macronutrients in corn and human nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3), 581–598. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12192>.
- de Abreu Siqueira, A. C., Leite, K. M., Braga, A. R. C., Ribeiro, P. R. V., Julião, G. Z., de Brito, E. S., da Silva Jr, I. J., & de Sant'Ana, H. B. (2023). Aqueous two-phase anthocyanins partitioning from açai – laboratory scale-up. *International Journal of Food Science & Technology*, 58(10), 5269–5274. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16633>.
- Abdoulaye, A., Önal, S. (2023). An aqueous-two phase extraction system for partitioning of anthocyanins from red cabbage. *Food Materials Research*, 3(1). <https://doi.org/10.48130/FMR-2023-0028>.
- Analuisa, I. A., Jimber-del Río, J. A. Fernández-Gallardo, J. A., & Vergara-Romero, A. (2023). La cadena de valor del maíz amarillo duro ecuatoriano. Retos y oportunidades. *Lecturas de Economía*, 98. <https://doi.org/10.17533/udea.le.n98a347315>.
- Antonio-Bautista, A., Arispe-Vázquez, J. L., Flores-Naveda, A., & Hernández-Juárez, A. (2022). Maíces nativos morados: una alternativa para la sociedad. *Agro-Divulgación*, 2(6). <https://doi.org/10.54767/ad.v2i6.105>.

- Aguilera-Otíz, M., Reza-Vargas, M. D. C., Chew-Madinaveita, R. G., & Meza-Velázquez, J. A. (2011). propiedades funcionales de las antocianinas. *BIOtecnia*, 13(2), 16. <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.81>.
- Aguilar-Hernández, Ángel D., Salinas Moreno, Y., Ramírez-Díaz, J. L., Alemán-de la Torre, I., Bautista-Ramírez, E., & Flores-López, H. E. (2019). *Antocianinas y color en grano y olote de maíz morado peruano cultivado en Jalisco, México. Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 10(5), 1071–1082. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i5.1828>.
- Avendaño-Rocha, G. R. (2023). Acercamiento etnográfico a la biodiversidad y semillas locales de maíz: Atole agrio en San Juan Ixtenco, Tlaxcala. (Tesis de Especialidad, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Pue. Consultada en <https://hdl.handle.net/20.500.12371/20305>).
- Barrera-Guzmán, L. A., Legaria-Solano, J. P., & Ortega-Paczka, R. (2020). Diversidad genética en poblaciones de razas mexicanas de maíz. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 43(1), 121–121. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.1.121>.
- Barba, F. J., Rajha, H. N., Debs, E., Abi-Khattar, A.-M., Khabbaz, S., Dar, B. N., Simirgiotis, M. J., Castagnini, J. M., Maroun, R. G., & Louka, N. (2022). Optimization of polyphenols' recovery from purple corn cobs assisted by infrared technology and use of extracted anthocyanins as a natural colorant in pickled turnip. *Molecules*, 27(16). <https://doi.org/10.3390/molecules27165222>
- Badui-Dergal, S. (2006). Química de los alimentos. Cuarta edición. editorial Pearson educación de México. SA de CV.
- Beristain-González, C., Corte-Rincón, L. J., Hernández-Blanca, S., & Miernau-Cupido, C. (2023). Desarrollo de una línea de productos con potencial efecto antioxidante a base de olote morado. (Universidad Iberoamericana de Puebla, Puebla, Pue.). Consultado el 8 de mayo de 2024, en <https://repositorio.iberopuebla.mx/handle/20.500.11777/5963>.

- Bensch, M., Selbach, B., & Hubbuch, J. (2007). High throughput screening techniques in downstream processing: Preparation, characterization and optimization of aqueous two-phase systems. *Chemical Engineering Science*, 62(7), 2011–2021. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2006.12.053>.
- Borja, M. J., & Caviedes, M. (2013). Evaluación de dos ciclos de producción de semilla en dos variedades de maíz morado (*Zea mays* L.) en Tumbaco—Pichincha. *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 5(2). <https://doi.org/10.18272/aci.v5i2.143>.
- Bolaños, A. G. B., & Tapia, D. A. S. (2019). La productividad agrícola más allá del rendimiento por hectárea: Análisis de los cultivos de arroz y maíz duro en Ecuador. *La Granja*, 29(1). <https://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.06>.
- Bonifaz-Delgado, LV, de la Rosa-Millán, J., & Guajardo-Flores, D. (2023). Comprehensive physical and chemical characterization of corncob and nopal fibers: exploring sustainable alternatives for high-value applications *acs. Food Science & Technology*, 3(12). <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsfoodscitech.3c00298>.
- Cai, T., Ge-Zhang, S., & Song, M. (2023). Anthocyanins in metabolites of purple corn. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1154535>.
- Caldeira, A. C. R., de Franca, W. F. L., Converti, A., Lima, W. J. N., Sampaio, F. C., & de FARIA, J. T. (2019). Liquid-liquid equilibria in aqueous two-phase ethanol/salt systems at different temperatures and their application to anthocyanins extraction. *Food Science and Technology*, 39, 711–717. Scopus. <https://doi.org/10.1590/fst.32218>.
- Caldeira A.C.R., Converti A., Naves-de Moraes M., Teles-de Faria J. (2022). Anthocyanin partition in aqueous two-phase systems based on isopropanol and sodium/ammonium sulfate. *Chemical Engineering and Technology*, 45(9), 1605-1613. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ceat.202100524>.

- Campanella, J. J., Smalley, J. V., & Dempsey, M. E. (2014). A phylogenetic examination of the primary anthocyanin production pathway of the Plantae. *Botanical Studies*, 55(1), 10. <https://doi.org/10.1186/1999-3110-55-10>.
- Carranza-Gomez, M. (2021). *Compuestos bioactivos y potencial pigmentante de extractos de Vaccinium corymbosum L. fraccionados con sistemas acuoso-bifásicos*. (Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco de Mora, Edo Méx.). Consultado en <https://hdl.handle.net/20.500.12098/1054>.
- Castellano-Hinojosa, A., Pérez-Tapia, V., Bedmar, E. J., & Santillana, N. (2018). Purple corn-associated rhizobacteria with potential for plant growth promotion. *Journal of Applied Microbiology*, 124(5), 1254–1264. <https://doi.org/10.1111/jam.13708>.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>.
- Castorina, G., Cappa, C., Negrini, N., Criscuoli, F., Casiraghi, M. C., Marti, A., Rollini, M., Consonni, G., & Erba, D. (2023). Characterization and nutritional valorization of agricultural waste corn cobs from Italian maize landraces through the growth of medicinal mushrooms. *Scientific Reports*, 13(1), 21148. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48252-9>.
- Carrera, R., Tayupanta, A., & Vela, G. (2023). Rescue of black corn as an ancestral Andean product applied in a macerate based on a traditional Ecuadorian drink. *Scientific Journal of Applied Social and Clinical Science*, 3(18), 2–7. <https://doi.org/10.22533/at.ed.2163182331079>.
- Chandrasekhar, J., Madhusudhan, M. C., & Raghavarao, K. S. M. S. (2012). Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption. *Food and Bioproducts Processing*, 90(4), 615–623. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.07.004>.
- Chavez-Marquez, E., Bernedo, M. S. B., de Jara, E. M., Quequezana-Bedregal,

- M. J., Gutierrez-Oppe, E. E., & Pessôa Filho, P. D. A. (2023). Development of intelligent and active potato starch filmes based on purple corn cob extract and molle essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125080>.
- CIBIOGEM. (2023). *Maíz*. Comisión Intersecretarial de Bioseguridad de los Organismos Genéticamente Modificados. <https://conahcyt.mx/cibiogem/index.php/maiz>.
- CIMMYT. (1995). Manejo de los ensayos e informes de los datos para el Programa de Ensayos Internacionales de Maíz, México DF, ISBN:970-648-045-5, 20 p.
- CONABIO. (2011). *Proyecto global de maíces nativos. Biodiversidad Mexicana*. Consultado el 8 de mayo de 2024 en <https://biodiversidad.gob.mx/diversidad/proyectoMaices>.
- CONABIO. (2012). *Análisis del contexto social y biocultural de las colectas de maíces nativos en México. Biodiversidad Mexicana*. Consultado el 8 de mayo de 2024 en https://www.biodiversidad.gob.mx/media/1/genes/files/analisis_socio_cultural_maices.pdf.
- COPAC A.C. (2019). *El maíz nativo de Ixtenco, Tlaxcala*. Consultado el 24 de mayo de 2024 en <https://www.copacpuebla.org.mx/index.php/4-noticias/ultinoticias/221-el-maiz-nativo-de-ixtenco-tlaxcala>.
- Choquemamani-Vera, J., & Jara-Jihuallanca, M. (2022). *Efecto del tratamiento térmico sobre la calidad nutritiva y sensorial de una bebida nutraceutica a base de quinua (Chenopodium quinua), maíz morado (Zea mays) y camu camu (Myrciaria dubia)*. (Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Puerto Maldonado, Perú). Consultado en <http://repositorio.unamad.edu.pe/handle/20.500.14070/856>.
- Chaves-Silva, S., Santos, A., Chalfun-Júnior, A., Zhao, J., Peres, L., & Benedito, V. (2018). Understanding the genetic regulation of anthocyanin biosynthesis

- in plants - Tools for breeding purple varieties of fruits and vegetables. *Phytochemistry*, 153, 11-27. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.05.013>.
- Chandrasekhar, J., & Raghavarao, K. S. M. S. (2015). Separation and concentration of anthocyanins from jamun: an integrated process. *Chemical Engineering Communications*, 202(10), 1368–1379. <https://doi.org/10.1080/00986445.2014.935351>.
- de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2002). LC–MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(9), 1003–1006. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1143>.
- Del Valle-Leguizamón, G., González-León, A., & Báez-Sañudo, R. (2005). Antocianinas en uva (*Vitis vinifera* L.) y su relación con el color. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28(4), 359. <https://doi.org/10.35196/rfm.2005.4.359>.
- Deepak, T., & Jayadeep, P. (2021). Prospects of maize (corn) wet milling by-products as a source of functional food ingredients and nutraceuticals. *Food Technology and Biotechnology*, 60(1), 109–120. <https://doi.org/10.17113/ftb.60.01.22.7340>.
- Díaz-García, A., Salvá-Ruíz, B., Bautista-Cruz, N., & Condezo-Hoyos, L. (2021). Optimization of a natural low-calorie antioxidant tea prepared from purple corn (*Zea mays* L.) cobs and stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.). *LWT*, 150, 111952. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111952>.
- Díaz Mora, D. (2016). *Valor social, económico y nutracéutico de los maíces nativos pigmentados en localidades de Puebla y Tlaxcala, su rescate y revalorización*. (Tesis de Maestría, Colegio de Posgraduados, Puebla, Pue.). Consultado en <http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/3754>.
- Elegbede, J. A., Ajayi, V. A., & Lateef, A. (2021). Microbial valorization of corncob: Novel route for biotechnological products for sustainable bioeconomy. *Environmental Technology & Innovation*, 24, 102073. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102073>.

- Espitia-Saloma, E., Vázquez-Villegas, P., Aguilar, O., & Rito-Palomares, M. (2014). Continuous aqueous two-phase systems devices for the recovery of biological products. *Food and Bioproducts Processing*, 92(2), 101-112. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.05.006>.
- Enaru, B., Dreţcanu, G., Pop, T., Stănilă, A., & Diaconeasa, Z. (2021). Anthocyanins: factors affecting their stability and degradation. *Antioxidants*, 10(12), 1967. <https://doi.org/10.3390/antiox10121967>.
- Fact.Mr. (2022). Anthocyanin Market Outlook (2022–2030). Fact.MR, 11140 Rockville Pike #400, Rockville, MD 20852, USA. 2022. Consultado el 15 de septiembre de 2024 en <https://www.factmr.com/report/2467/anthocyanin-market>.
- Fernandez-Aulis, F., Hernandez-Vazquez, L., Aguilar-Osorio, G., Arrieta-Baez, D., & Navarro-Ocana, A. (2019). Extraction and identification of anthocyanins in corn cob and corn husk from cacahuacintle maize. *Journal of Food Science*, 84(5), 954–962. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14589>.
- FIRA. (2024). *Panorama Agroalimentario: Maíz 2024*. FIRA. <https://www.fira.gob.mx/>.
- Flores-Aguilar, E., & Flores-Rivera, E. D. P. (2018). Stability of anthocyanin levels, total phenols and antioxidant activity of beverages obtained from purple corn (*Zea mays* L.) and cat's claw (*Uncaria tomentosa* sp). *Informacion Tecnologica*, 29(2), 175–184. Scopus. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000200017>.
- Hernández-García, Y. R. (2023). *Desarrollo de un ingrediente alimentario con fibra y antioxidantes a partir de olote y seda de maíz y determinación de su bioaccessibilidad gastrointestinal y efecto antiinflamatorio in vitro*. (Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Qro. Consultada en <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/9398>.
- García-Pastor, M. E. (2016). Contenido en antocianos y compuestos fenólicos en diferentes frutos frescos y deshidratados. (Tesis de Maestría, Universidad

Miguel Hernández de Elche, Orihuela). Consultada en <http://dspace.umh.es/handle/11000/2914>.

- Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 27–36.
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14(3), 217–225. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00221-8](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00221-8).
- Ginni, G., S, K., R, Y. K., Bhatia, S. K., S, A. K., M, R., Kumar, G., Pugazhendhi, A., Chi, N. T. L., & J, R. B. (2021). Valorization of agricultural residues: Different biorefinery routes. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105435. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105435>.
- González-Santos, R., Hernández-Sandoval, L., Hernández-Puente, K. N., & Ortega-Paczka, R. (2023). Distribución y caracterización ecogeográfica de maíces nativos de Querétaro, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 46(4), 341–341. <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.4.341>.
- Guerra, L. S., Cevallos-Cevallos, J. M., Weckx, S., & Ruales, J. (2022). Traditional fermented foods from Ecuador: a review with a focus on microbial diversity. *Foods*, 11(13). <https://doi.org/10.3390/foods11131854>.
- Guerrero-Herrera M D J, Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad (CONABIO). (2024). Conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México (Coahuila). Version 1.17. Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad. Occurrence dataset <https://doi.org/10.15468/likvrn> accessed via GBIF.org on 2024-09-29.
- Guerrero-Eraso, C. A. (2009). *Inhibición de la actividad enzimática de la polifenol oxidasa extraída del banano (cavendish valery) mediante sistemas bifásicos acuosos con isoespintanol y ácido ascórbico*. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/3342>.

- Guo, Y. X., Han, J., Zhang, D. Y., Wang, L. H., & Zhou, L. L. (2012). An ammonium sulfate/ethanol aqueous two-phase system combined with ultrasonication for the separation and purification of lithospermic acid B from *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(4), 719–724. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.12.017>.
- Hernández, J. A. S. (2009). El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. *Universidad Autónoma de la Ciudad de México*, 1-30.
- Hong, H. T., Netzel, M. E., & O'Hare, T. J. (2020). Anthocyanin composition and changes during kernel development in purple-pericarp supersweet sweetcorn. *Food Chemistry*, 315, 126284. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126284>.
- InfoAgro. (2012). *Agricultura. El cultivo del maíz. 1a parte*. Consultado el 29 de septiembre de 2024 en <https://www.infoagro.com/herbaceos/cereales/maiz.htm>.
- Itthisoponkul, T., Naknan, P., Prompun, S., & Kasemwong, K. (2018). Evaluation of high pressure treatment for improvement of physicochemical and functional qualities in purple corncobs. *International Food Research Journal*, 25(1), 246-253. <https://www.proquest.com/scholarly-journals/evaluation-high-pressure-treatment-improvement/docview/2041570253/se-2>.
- Jadhav, R. V., Bhujbal, S. S., & Jadhav, R. V. (2020). A review on natural food colors. *Pharmaceutical Resonance*, 2(2), 12-20.
- Jampani, C., & Raghavarao, K. S. M. S. (2015). Process integration for purification and concentration of red cabbage (*Brassica oleracea* L.) anthocyanins. *Separation and Purification Technology*, 141, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.11.024>.
- Jiao, Y., Chen, H.-D., Han, H., & Chang, Y. (2022). Development and utilization of corn processing by-products: a review. *Foods*, 11(22), 3709. <https://doi.org/10.3390/foods11223709>.

- Jing, P., Noriega, V., Schwartz, S. J., & Giusti, M. M. (2007). Effects of growing conditions on purple corn cob (*zea mays* L.) anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8625–8629. <https://doi.org/10.1021/jf070755q>.
- Kapcum, C., & Uriyapongson, J. (2018). Effects of storage conditions on phytochemical and stability of purple corn cob extract powder. *Food Science and Technology*, 38, 301–305. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.23217>.
- Kanpipit, N., Nualkaew, N., & Thapphasaraphong, S. (2023). The potential of purple waxy corn cob (*zea mays* L.) extract loaded-sericin hydrogel for anti-hyperpigmentation, uv protection and anti-aging properties as topical product applications. *Pharmaceuticals*, 16(1). <https://doi.org/10.3390/ph16010035>.
- Koo, W. (2024). Maíz Morado Perú Exportación 2024 junio. *Agrodataperu*. <https://www.agrodataperu.com/2024/08/maiz-morado-peru-exportacion-2024-junio.html>.
- Kong, J., Chia, L., Goh, N., Chia, T., & Brouillard, R. (2003). Análisis y actividades biológicas de antocianinas. *Fitoquímica*, 64(5), 923–933.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., García-Parilla, M. C., Troncoso, A. M., & Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. *Food Science and Technology*, 24, 691–693. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612004000400036>.
- Lasso-García, C., German-Bermúdez, F. A., Vanden-Berghe, W., Gabriela Zurita-Benavides, M., & Orellana-Manzano, A. (2024). Fermented beverages among indigenous Latin American societies. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1390162>.
- Lee, T. H., Lee, C. H., Wong, S., Ong, P. Y., Hamdan, N., & Azmi, N. A. (2021). UPLC-orbitrap-MS/MS based characterization of phytochemical compounds from Malaysia purple corn (*Zea mays*). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 32, 101922. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101922>.

- Le, P. H., Dao, D. N., Huynh, T. Q., Tran, T. T. T., & Nguyen, V. (2023). Extraction and purification of anthocyanins from *Peristrophe bivalvis* (L.) Merr. Leaf (Acanthaceae) using aqueous two-phase systems. *Natural Product Research*, 37(1), 154–158. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1952203>.
- Leong, H. Y., Chang, C.-K., Aung, K. N. G., Lin, D.-Q., & Show, P. L. (2023). Chapter 3—Alcohol–salt interaction. In K. Chew, S. Chia, & P. Show (Eds.), *Principles of Multiple-Liquid Separation Systems* (pp. 45–62). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91728-5.00010-X>.
- Li, Z., Wu, Y., Zhang, J., Zhan, Y., & Chang, X. (2021). Optimization of extraction technology of anthocyanidins from *Daucus carota* L. by aqueous two-phase system based on response surface methodology. *Science and Technology of Food Industry*, 42(7), 195–200. Scopus. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020060219>.
- Liu, X., Mu, T., Sun, H., Zhang, M., & Chen, J. (2013). Optimisation of aqueous two-phase extraction of anthocyanins from purple sweet potatoes by response surface methodology. *Food Chemistry*, 141(3), 3034–3041. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.119>.
- Liu, H., Liu, Z., Wu, Y., Zheng, L., & Zhang, G. (2021). Regulatory mechanisms of anthocyanin biosynthesis in apple and pear. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16). <https://doi.org/10.3390/ijms22168441>.
- Lozano-Salas, L., Ortiz-Duarte, G., Romero-Ibarra, I. C., Canseco-Urbieto, A., Bravo-González, E., & León-Nataret, Y. A. (2025). Síntesis de nanocelulosa de olote de maíz mediante hidrólisis ácida. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*. <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icbi/article/view/11746>.
- Luna-Vital D, Cortez R, Ongkowijoyo P, Gonzalez-de Mejia E. (2018). Protection of color and chemical degradation of anthocyanin from purple corn (*Zea mays* L.) by zinc ions and alginate through chemical interaction in a beverage model. *Food Research International*, 105, 169–177.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.009>.

Martinez, E. L., & Fernandez, F. J. B. (2019). *Economics of Production, Marketing and Utilization*. 87–107. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00004-8>.

Ma, F.-Y., Gu, C.-B., Li, C.-Y., Luo, M., Wang, W., Zu, Y.-G., Li, J., & Fu, Y.-J. (2013). Microwave-assisted aqueous two-phase extraction of isoflavonoids from *Dalbergia odorifera* T. Chen leaves. *Separation and Purification Technology*, 115, 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.05.003>.

Mairuae, N., Palachai, N., & Noisa, P. (2024). An anthocyanin-rich extract from *Zea mays* L. var. Ceratina alleviates neuronal cell death caused by hydrogen peroxide-induced cytotoxicity in SH-SY5Y cells. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(1), 162. <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04458-6>.

Mathias-Rettig, K., & Ah-Hen, K. (2014). El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro Sur*, 42(2), 57–66. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2014.v42n2-07>.

Mayorga, G. A. C., Palma, G. B. A., Sandoval-Cañas, G. J., & Ordoñez-Araque, R. H. (2020). Ancestral fermented indigenous beverages from South America made from cassava (*Manihot esculenta*). *Food Science and Technology*, 41, 360–367. <https://doi.org/10.1590/fst.15220>.

Medina-Hoyos, A., Narro-León, L. A., Chávez-Cabrera, A., Medina-Hoyos, A., Narro-León, L. A., & Chávez-Cabrera, A. (2020). Cultivo de maíz morado (*Zea mays* L.) en zona altoandina de Perú: Adaptación e identificación de cultivares de alto rendimiento y contenido de antocianina. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 291–299. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.01>.

Mendoza-Mendoza, C. G., del Carmen Mendoza-Castillo, M., Delgado-Alvarado, A., Castillo-González, F., Kato-Yamakake, T. Á., & Cruz-Izquierdo, S. (2017). Antocianinas totales y parámetros de color en líneas de maíz morado.

Revista Fitotecnia Mexicana, 40(4), 471–479.

Meng, X., Nalatambi, S., Mahaindran, A., Tee, L. H., Chua, B. L., Oh, K. S., & Lam, W. H. (2023). Characterization of choline chloride-based deep eutectic solvent for anthocyanin extraction via aqueous two-phase system: Physicochemical properties and liquid–liquid equilibrium phase diagram. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, 18(6), e2990. <https://doi.org/10.1002/apj.2990>.

Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego Perú (MIDAGRI). (2021). *Análisis de mercado*. Unidad de inteligencia comercial. <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2690525/Analisis%20de%20Mercado%20-%20Maiz%20Morado%202015-2021.pdf.pdf>.

Monroy, Y. M., Rodrigues, R. A. F., Sartoratto, A., & Cabral, F. A. (2016). Extraction of bioactive compounds from cob and pericarp of purple corn (*Zea mays* L.) by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO₂, ethanol, and water as solvents. *The Journal of Supercritical Fluids*, 107, 250–259. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.09.020>.

Monge Garcia, M. G., Michalus, J. C., Maldonado, S., Valdiviezo, V., & Apolonides, N. (2023). Exploring new technology and innovation management strategies in the agricultural production units of cotopaxi province. *Bionatura* 2;8 (4) 100. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.04.100>.

Morilla, E. A., Taddia, A., Ozcariz Fermoselle, M. V., Postemsky, P. D., & Tubio, G. (2019). Evaluación de la extracción de *lacasa* de *Ganoderma lucidum* para su empleo en el procesamiento industrial de alimentos. Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/224173>.

Özgür, M. Ü., & Çimen, E. (2018). Ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from red rose petals and new spectrophotometric methods for the determination of total monomeric anthocyanins. *Journal of AOAC international*, 101(4), 967-980. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0307>.

- Odabaş, H. İ., & Koca, I. (2021). Simultaneous separation and preliminary purification of anthocyanins from *Rosa pimpinellifolia* L. fruits by microwave assisted aqueous two-phase extraction. *Food and Bioproducts Processing*, 125, 170–180. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.11.007>.
- Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C., & Tiwari, B. K. (2010). *Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. Trends in Food Science & Technology*, 21(1), 3–11. doi:10.1016/j.tifs.2009.07.004.
- Park, N. I., Xu, H., Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., & Park, S. U. (2015). Subcellular localization studies of three phenylalanine ammonia-lyases and cinnamate 4-hydroxylase from *Scutellaria Baicalensis* using GFP fusion proteins. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 15(2), 70–73. Scopus. <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2015.70.73>.
- Peniche-Pavía, H. A., & Tiessen, A. (2020). Anthocyanin profiling of maize grains using diesi-msqd reveals that cyanidin-based derivatives predominate in purple corn, whereas pelargonidin-based molecules occur in red-pink varieties from México. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(21), 5980–5994. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06336>.
- Pérez-Sauñi, H. F. (2014). *Utilización de la antocianina del maíz morado (Zea mays L.) y stevia (Stevia rebaudiana bertonii) en la elaboración de un producto tipo mermelada y su aceptabilidad*. (Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú). Consultado en <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/3857>.
- Pinedo-Taco, R., Rodríguez Soto, G., & Valverde Reyes, N. (2017). Niveles de fertilización en dos variedades de maíz morado (*Zea mays* L.) en la localidad de Canaán-Ayacucho. *Aporte Santiaguino*, pág. 39-50. <https://doi.org/10.32911/as.2017.v10.n1.181>.
- Phong, W. N., Show, P. L., Chow, Y. H., & Ling, T. C. (2018). Recovery of biotechnological products using aqueous two phase systems. *Journal of*

bioscience and bioengineering, 126(3), 273-281.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.03.005>.

- Purba, N. S., Uriyapongson, S., & Uriyapongson, J. (2020). Effect of purple corn cob extract powder and black rice bran oil on quality and shelf life of fresh beef. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 42(3), 645–651. Scopus.
- Qin, B., Liu, X., Cui, H., Ma, Y., Wang, Z., & Han, J. (2017). Aqueous two-phase assisted by ultrasound for the extraction of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 47(9), 881–888. <https://doi.org/10.1080/10826068.2017.1350980>.
- Ramos-Guerrero, F. G., López Flores, B. C., Ramos Gorbeña, J. C., & Silva Jaimes, M. I. (2021). Factors that affect the microbiological stability of chicha morada during its production on an industrial scale: a review. *Journal of Food Protection*, 84(12), 2151–2158. <https://doi.org/10.4315/JFP-21-190>.
- Raghavarao, K. S. M. S., Ranganathan, T. V., Srinivas, N. D., & Barhate, R. S. (2003). Aqueous two phase extraction—An environmentally benign technique. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 5(2), 136–141. <https://doi.org/10.1007/s10098-003-0193-z>.
- Rabanal-Atalaya, M., Medina-Hoyos, A. (2021). Análisis de antocianinas en el maíz morado (*Zea mays* L.) del Perú y sus propiedades antioxidantes. *Terra Latinoamericana*, 39, e808. <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.808>.
- Requis-Varillas, F. V. (2012). Manejo agronómico del maíz morado en los valles interandinos del Perú. Instituto Nacional de Innovación Agraria. Folleto;n. 1 - 2012. <https://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/151>.
- Rincon, F., Ruiz-Torres, N., & Castillo-Gonzalez, F. (2010). *Diversidad y Distribución de Maíces Nativos en Coahuila, México*.
- Rolandelli, G., Favre, L. C., Aguirre-Calvo, T. R., Farroni, A. E., Buera, M. del P., & dos Santos Ferreira, C. (2023). An optimized purple corn cob extract as an

- ingredient for the development of maize-based extrudates with novel characteristics. *Journal of Cereal Science*, 114, 103809. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103809>.
- Rodríguez, X. M., & Miranda, T. B. (2020). Proyectos de innovación tecnológica y su impacto en la productividad. *Revista Mapa*, 4(21). <https://revistamapa.org/index.php/es/article/view/259>.
- Rodríguez-Fernández, M.-M., Artieda-Ponce, P.-M., Chango-Cañaveral, P.-M., & Gaibor-Monar, F.-M. (2017). Gastronomy as a part of the ecuadorian identity: positioning on the internet and social networks. In F. C. Freire, X. Rúas Araújo, V. A. Martínez Fernández, & X. L. García (Eds.), *Media and Metamedia Management* (pp. 335–341). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-46068-0_44.
- Rosado-Ortega, A., & Villasante-Serrano, B. A. (2021). *Los herederos del maíz*. Instituto Nacional de los Pueblos Indígenas.
- Rodríguez-Pérez, G., García Ramírez, A., Reynaga Franco, F. de J., Mendivil Mendoza, J. E., Salazar Huerta, F. J., & Hidalgo Ramos, D. M. (2023). Physicochemical composition of improved purple corn (*Zea Mays* L.) grains in southern Sonora, as a functional alternative to human health. *LATAM Revista Latinoamericana De Ciencias Sociales Y Humanidades*, 4(1), 4327–4340. <https://doi.org/10.56712/latam.v4i1.567>.
- Saldaña, E., Rios-Mera, J., Arteaga, H., Saldaña, J., Samán, C. M., Selani, M. M., & Villanueva, N. D. M. (2018). How does starch affect the sensory characteristics of mazamorra morada? A study with a dessert widely consumed by Peruvians. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 12, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2018.01.002>.
- Salinas-Moreno, Y., Esquivel-Esquivel, G., Ramírez-Díaz, J. L., Torre, I. A. la, Bautista-Ramírez, E., & Santillán-Fernández, A. (2021). Selección de germoplasma de maíz morado (*zea mays* L.) con potencial para extracción de pigmentos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 44(3).

<https://doi.org/10.35196/rfm.2021.3.309>.

- Salinas-Moreno, Y., Salinas, C. G., Estrada, B. C., & Martínez, V. A. V. (2013). Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 36(3-A), 285–294.
- Sangermán-Jarquín, D. M., O-Olán, M. de la, Gámez-Vázquez, A. J., Navarro-Bravo, A., Ávila-Perches, M. Á., Schwentesius-Rindermann, R. (2018). Etnografía y prevalencia de maíces nativos en San Juan Ixtenco, Tlaxcala, con énfasis en maíz ajo (*Zea mays* var. *Tunicata* A. St. Hil.). *Revista fitotecnica mexicana*, 41(4), 451–459. <https://doi.org/10.35196/rfm.2018.4.451-459>.
- Santos, D. T., Veggi, P. C., & Meireles, M. A. A. (2012). Optimization and economic evaluation of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from jabuticaba skins. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 444–452. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.08.022>.
- SAGARPA. 2015. Avance de siembras y cosechas año agrícola 2015 riego + temporal. <http://www.siap.gob.mx/avance-de-siembras-y-cosechas-por-cultivo/>.
- Saini, R. K., Khan, M. I., Shang, X., Kumar, V., Kumari, V., Kesarwani, A., & Ko, E.-Y. (2024). Dietary sources, stabilization, health benefits, and industrial application of anthocyanins a review. *Foods*, 13(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/foods13081227>.
- Sang, J., Dang, K., Ma, Q., Li, B., Huang, Y., & Li, C. (2018). Partition behaviors of different polar anthocyanins in aqueous two-phase systems and extraction of anthocyanins from *Nitraria tangutorun* Bobr. and *Lycium ruthenicum* Murr. *Food Analytical Methods*, 11(4), 980–991. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1071-3>.
- Sant’Anna, V., Gurak, P. D., Ferreira Marczak, L. D., & Tessaro, I. C. (2013). Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. *Dyes and Pigments*, 98(3), 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.04.011>.

- Serna-Saldivar, S. O., & Perez-Carrillo, E. (2019). Food uses of whole corn and dry-milled fractions. 435–467. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00016-4>.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2019). Maíz grano. Recuperado el día 14 de septiembre de 2024 del sitio web: <https://www.gob.mx/siap/maiz-grano/>.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2023). Anuario estadístico de la producción agrícola. Recuperado el día 15 de septiembre de 2024 del sitio web: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>.
- SIPA. (2023). Sistema de Información Pública Agropecuaria, Cifras Superficie y producción. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Quito, Ecuador. Datos disponibles del año 2023. Consultado el 25 de septiembre de 2024 en <https://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/sipa-estadisticas/estadisticas-productivas>.
- Siyuan, S., Tong, L., & Liu, R. (2018). Corn phytochemicals and their health benefits. *Food Science and Human Wellness*, 7(3), 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.09.003>.
- Simental-Martínez, J., Montalvo-Hernández, B., Rito-Palomares, M., & Benavides, J. (2014). Application of aqueous two-phase systems for the recovery of bioactive low-molecular weight compounds. *Separation Science and Technology*, 49(12), 1872–1882. <https://doi.org/10.1080/01496395.2014.904878>.
- Sots, S. M., & Bnyiak, O. V. (2018). Use of corn grain in production of food products. *Grain Products and Mixed Fodder's*, 18(2). <https://doi.org/10.15673/gpmf.v18i2.969>.
- Soare, E., Chiurciu, I.-A., Bălan, A.-V., & David, L. (2018). World market research on maize. “Agriculture for Life, Life for Agriculture” Conference Proceedings, 1(1), 216–222. <https://doi.org/10.2478/alife-2018-0032>.

- Tan, Z., Wang, C., Yi, Y., Wang, H., Li, M., Zhou, W., Tan, S., & Li, F. (2014). Extraction and purification of chlorogenic acid from ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud) leaf using an ethanol/salt aqueous two-phase system. *Separation and Purification Technology*, 132, 396–400. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.05.048>.
- Ureta, C., González, E. J., Espinosa, A., Trueba, A., Piñeyro-Nelson, A., & Álvarez-Buylla, E. R. (2020). Maize yield in Mexico under climate change. *Agricultural Systems*, 177, 102697. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.102697>.
- Valdivieso, J. E. (2020). *Diseño de un proceso para la obtención de papel a partir de la celulosa extraída del olote de Maíz (Zea mays L var Ceratina)*. (Tesis de Licenciatura, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador). Consultado en <https://1library.co/document/zkw8jp1z-diseno-proceso-obtencion-partir-celulosa-extraida-maiz-ceratina.html>.
- Valladares, C. (2010). Taxonomía y Botánica de los Cultivos de Grano. *Universidad Nacional Autónoma de Honduras*, 3.
- Vásconez-Montúfar, G. H., Caicedo, L., Véliz Zamora, D. V., & Sánchez Mora, F. D. (2021). Producción de biomasa en cultivos de maíz: Zona central de la costa de Ecuador. *Revista de ciencias sociales*, 27(Extra-3), 417–431.
- Wang, Z., Liu, Y., Wang, K., Wang, Y., Wang, X., Liu, J., Xu, C., & Song, Y. (2024). Phenotyping the anthocyanin content of various organs in purple corn using a digital camera. *Agriculture*, 14(5). <https://doi.org/10.3390/agriculture14050744>.
- Wang, Y., Han, J., Xu, X., Hu, S., & Yan, Y. (2010). Partition behavior and partition mechanism of antibiotics in ethanol/2-propanol–ammonium sulfate aqueous two-phase systems. *Separation and Purification Technology*, 75(3), 352–357. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2010.09.004>.
- Wojcieszak, D., Przybył, J., Czajkowski, Ł., Majka, J., & Pawłowski, A. (2022). Effects of harvest maturity on the chemical and energetic properties of corn

- stover biomass combustion. *Materials*, 15(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/ma15082831>.
- Wu, X., Liang, L., Zou, Y., Zhao, T., Zhao, J., Li, F., & Yang, L. (2011). Aqueous two-phase extraction, identification and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.). *Food Chemistry*, 129(2), 443–453. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.097>.
- Wu, Y., Wang, Y., Zhang, W., Han, J., Liu, Y., Hu, Y., & Ni, L. (2014). Extraction and preliminary purification of anthocyanins from grape juice in aqueous two-phase system. *Separation and Purification Technology*, 124, 170–178. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.01.025>.
- Xavier, L., Freire, M. S., Vidal-Tato, I., & González-Álvarez, J. (2017). *Recovery of phenolic compounds from Eucalyptus globulus wood wastes using PEG/phosphate aqueous two-phase systems. Waste and biomass valorization*, 8, 443–452. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9579-0>.
- Xi, J., Zhou, X., Wang, Y., & Wei, S. (2023). Short-chain alcohol/salt-based aqueous two-phase system as a novel solvent for extraction of plant active ingredients: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 138, 74–84. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.06.001>.
- Xie, G., Shen, J., Luo, J., Li, D., Tao, Y., Song, C., & Han, Y. (2022). Simultaneous extraction and preliminary purification of polyphenols from grape pomace using an aqueous two-phase system exposed to ultrasound irradiation: Process characterization and simulation. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.993475>.
- Yang, R., Zhang, C., Feng, H. y Yang, W. (2006). A kinetic study of xylan solubility and degradation during corncob steaming. *Biosystems Engineering*, 93(4), 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2006.01.006>.
- Yang, Z., Fan, G., Gu, Z., Han, Y., & Chen, Z. (2008). Optimization extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob using tristimulus colorimetry. *European Food Research and Technology*, 227(2), 409–415.

<https://doi.org/10.1007/s00217-007-0735-4>.

Yan, H., Pei, X., Zhang, H., Li, X., Zhang, X., Zhao, M., Chiang, V. L., Sederoff, R. R., & Zhao, X. (2021). MYB-Mediated regulation of anthocyanin biosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6). <https://doi.org/10.3390/ijms22063103>.

Yin, Y., Jia, J., Wang, T., & Wang, C. (2017). Optimization of natural anthocyanin efficient extracting from purple sweet potato for silk fabric dyeing. *Journal of Cleaner Production*, 149, 673–679. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.02.134>.

Yue, Q., Tian, J., Dong, L., & Zhou, L. (2024). Comparison of an ultrasound-assisted aqueous two-phase system extraction of anthocyanins from pomegranate pomaces by utilizing the artificial neural network–genetic algorithm and response surface methodology models. *Foods*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/foods13020199>.

Zambrano-Mendoza, J. L., Velásquez-Carrera, J. S., Peñaherrera-Mafla, D. F., Sangoquiza-Caiza, C. A., Cartagena-Ayala, Y. E., Villacrés-Poveda, C. E., Garcés, S., Ortiz-Calle, R., León-Ruiz, J., Campaña, D., López-Guerrero, V. A., Asaquibay, C., Nieto-Beltrán, M., Sanmartín-Mesias, G. del R., Pintado, P., Yáñez G., C., & Racines-Jaramillo, M. R. (2021). *Guía para la producción sustentable de maíz en la Sierra ecuatoriana*. Quito, EC: INIAP-EESC, 2021. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5796>.

Zhang, J., Celli, G. B., & Brooks, M. S. (2019). In anthocyanins from natural sources: exploiting targeted delivery for improved health, ed. M. S. Brooks and G. B. Celli, The Royal Society of Chemistry, 2019, ch. 1, pp. 1-33. Consultado el 16 de septiembre de 2024 en <https://books.rsc.org/books/edited-volume/11/chapter/8318/Natural-Sources-of-Anthocyanins>.

Žilić, S., Kocadağlı, T., Vančetović, J., & Gökmen, V. (2016). *Effects of baking conditions and dough formulations on phenolic compound stability*,

antioxidant capacity and color of cookies made from anthocyanin-rich corn flour. LWT - Food Science and Technology, 65, 597–603.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.057>.

Zou, Y., Fu, J., Chen, Z., & Ren, L. (2021). The effect of microstructure on mechanical properties of corn cob. *Micron, 146, 103070.*
<https://doi.org/10.1016/j.micron.2021.103070>.

3. SEPARACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE OLOTE DE MAÍZ MORADO (*Zea mays* L.)

Resumen

Las variedades maíz (*Zea mays* L.) han crecido en importancia por su contenido de compuestos bioactivos, principalmente antocianinas. El olote es un subproducto de este cultivo y en algunas regiones es usado para elaborar artesanías. El objetivo fue evaluar el uso de extracción acuosa en dos fases (ATPE) basada en etanol, citrato de sodio y ácido cítrico para separar antocianinas, fenoles totales, flavonoides, proantocianidinas y azúcares totales de olote de maíz morado de la región de Juchitepec, México. Se trabajó con cuatro poblaciones de maíz morado: Negro de Ixtenco (P5), Negro de Ixtenco x Negro de Perú (P6), Azul x Negro de Ixtenco (colecta 7247B; P7) y Azul x Negro de Ixtenco (colecta 7246B; P8). Se evaluó el efecto de la temperatura (25, 40 y 55°C), tiempo de agitación (0, 15, 30, 45 y 60 min a 175 rpm) y tiempo de sonicación (0, 30 y 120 s) en el potencial de separación de compuestos mediante ATPE. Las mejores condiciones se obtuvieron con un sistema basado en 8.25% de citrato de sodio, 2.75% de ácido cítrico y 49.0% de etanol, temperatura de separación de 25 °C, aplicación de agitación a 175 rpm y 120 s de sonicación. Los resultados indicaron que las poblaciones P5 y P6 tuvieron mayor concentración (base seca) de antocianinas (1678.8 ± 6.1 y 1651.8 ± 11.7 mg ECy/100 g), fenoles (4678.1 ± 149.0 y 4740.1 ± 170.8 mg EAF/100 g), azúcares totales (10917.4 ± 140.7 y 8654.1 ± 64.6 mg EG/100 g) y flavonoides (5781.7 ± 81.8 y 6238.8 ± 119.6 mg EQ/100 g, respectivamente). Se obtuvieron fases superiores de los sistemas ATPE, a partir de las poblaciones P5 y P6, con contenido total de antocianinas de 0.26 ± 0.00 y 0.31 ± 0.00 mg ECy /mL, de fenoles de 3.91 ± 0.01 y 4.02 ± 0.02 mg EAF/mL, proantocianidinas de 42.49 ± 0.24 y 53.76 ± 0.60 mg EC/mL, de flavonoides de 6.55 ± 0.20 y 7.51 ± 0.30 mg EQ/mL y de azúcares totales de 10.26 ± 0.17 y 10.54 ± 0.03 mg EG/mL, respectivamente. Se realizaron pruebas de pigmentación en yogur y tamales dulces, con lo que se demostró que las antocianinas del olote de maíz pueden ser una alternativa para sustituir colorantes artificiales.

Palabras clave: *Zea mays* L., antocianinas, compuestos bioactivos, olote morado, sistemas acuosos bifásicos.

Tesis de Maestría en Ciencias, Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Abigail López Herrera.

Director de tesis: Dr. Salvador Valle Guadarrama.

SEPARATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM OLOTE OF PURPLE CORN (*Zea mays* L.)

Abstract

Corn (*Zea mays* L.) varieties have grown in importance due to their content of bioactive compounds, mainly anthocyanins. The olote is a byproduct of this crop and in some regions it is used to make handicrafts. The objective was to evaluate the use of aqueous two-phase extraction (ATPE) based on ethanol, sodium citrate, and citric acid to separate anthocyanins, total phenols, flavonoids, proanthocyanidins, and sugars from purple corn *olotes* from the Juchitepec, Mexico region. Four purple corn populations were used: Negro de Ixtenco (P5), Negro de Ixtenco x Negro de Perú (P6), Azul x Negro de Ixtenco (collection 7247B; P7), and Azul x Negro de Ixtenco (collection 7246B; P8). The effect of temperature (25, 40 and 55 °C), stirring time (0, 15, 30, 45 and 60 min at 175 rpm), and sonication time (0, 30 and 120 s) on the separation potential of compounds by ATPE was evaluated. The best conditions were obtained with a system based on 8.25% sodium citrate, 2.75% citric acid and 49.0% ethanol, separation temperature of 25 °C, application of stirring at 175 rpm, and 120 s of sonication. The results indicated that populations P5 and P6 had higher concentrations (dry basis) of anthocyanins (1678.8 ± 6.1 and 1651.8 ± 11.7 mg ECy/100 g), phenols (4678.1 ± 149.0 and 4740.1 ± 170.8 mg EAF/100 g), total sugars (10917.4 ± 140.7 and 8654.1 ± 64.6 mg EG/100 g), and flavonoids (5781.7 ± 81.8 and 6238.8 ± 119.6 mg EQ/100 g, respectively). Superior phases from the ATPE systems were obtained from populations P5 and P6, with total anthocyanin contents of 0.26 ± 0.00 and 0.31 ± 0.00 mg ECy/mL, phenols of 3.91 ± 0.01 and 4.02 ± 0.02 mg EAF/mL, proanthocyanidins of 42.49 ± 0.24 and 53.76 ± 0.60 mg EC/mL, flavonoids of 6.55 ± 0.20 and 7.51 ± 0.30 mg EQ/mL, and total sugars of 10.26 ± 0.17 and 10.54 ± 0.03 mg EG/mL, respectively. Pigmentation tests were carried out on yogurt and sweet tamales, which showed that anthocyanins from *olotes* can be an alternative to replace artificial colorings.

Key words: *Zea mays* L., anthocyanins, aqueous biphasic systems, bioactive compounds, purple *olotes*.

Master Science Thesis. Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo.

Author: Ingl. Abigail López Herrera

Thesis director: Salvador Valle Guadarrama, Dr.

3.1. Introducción

El maíz azul y morado ha adquirido gran interés por su alto contenido en antocianinas y propiedades bioactivas (Mendoza-Mendoza et al., 2023) y por las propiedades antioxidantes que estos compuestos exhiben, que pueden ser benéficas para la salud (Francavilla & Joye, 2020). Por ello, se ha enfatizado la importancia de preservar estas propiedades a través del control de las condiciones de proceso durante etapas de transformación, como la nixtamalización (Gutiérrez-Llanos et al., 2023). Por otro lado, la presencia de antocianinas no es exclusiva del grano en estas especies y, tras el procesamiento, quedan subproductos, tales como el olote o corazón de la mazorca de maíz, que comúnmente se destina al consumo animal. En efecto, el cultivo del maíz produce, después de la cosecha del grano, diferentes tipos de residuos agrícolas, entre ellos cáscara (8.4%), hojas (18.5%), tallos (57.8%) y olote (12.2%). El olote de maíz es un residuo que se produce después de la cosecha y la extracción de los granos, ya sea mediante una máquina o manualmente (Castorina et al., 2023). En virtud del alto contenido de compuestos bioactivos en esos residuos principalmente en olotes de color morado, presentan antioxidantes (antocianinas) (Castorina et al., 2023; Jing & Giusti, 2005), es factible el incremento de su valor agregado a través de su canalización a procesos de extracción que deriven en concentrados de antocianinas, que eventualmente se pueden usar en la fortificación de otras matrices alimenticias o en industrias de pigmentos o cosméticos (Colombo et al., 2021).

La forma tradicional de extraer antocianinas consiste en moler, secar o liofilizar el material vegetal, para después remojarlo en una mezcla de disolvente y agua con o sin ácido, bajo ciertas condiciones de temperatura (Monrad et al., 2010). Otros métodos de aplicación más reciente incluyen la extracción asistida con ultrasonido, la extracción con microondas, la extracción con enzimas y la extracción con fluidos supercríticos (Tena & Asuero, 2022; Zhang et al., 2022). En cualquier caso, el uso de antocianinas provenientes de diversas fuentes vegetales enfrenta dos problemas. Por un lado, con frecuencia hay alto contenido

de azúcares, principalmente glucosa y fructosa (Forney et al., 2012) o almidón, como puede ocurrir en el caso de maíz (Rojas-Molina et al., 2024). Por otro lado, está la necesidad de concentrar los compuestos para su uso como ingrediente en un alimento. Al final, el uso de técnicas tradicionales para resolver estos problemas requiere de un manejo a través de distintas etapas. De hecho, el aislamiento y purificación de antocianinas puede implicar la aplicación de métodos de separación complementarios tales como la extracción en fase sólida, la cromatografía de intercambio catiónico, la combinación de ambas, la extracción líquido-líquido, el uso de resinas de adsorción/desorción o el uso de cromatografía de líquidos de alta y media resolución (Ahmadiani et al., 2019; Pangestu et al., 2020; Zhang et al., 2022).

En forma alternativa, se ha demostrado que el uso de extracción acuosa en dos fases puede atender, tanto la reducción de azúcares (Sandate-Flores et al., 2020), como la concentración de los pigmentos naturales por procedimientos no térmicos (Rodríguez-Herrera et al., 2023) en una sola operación, lo que le confiere ventaja sobre otras opciones de separación. La extracción acuosa en dos fases se puede desarrollar con la mezcla de dos polímeros, la mezcla de un polímero y una sal (Raja et al., 2011) o bien la mezcla de un solvente orgánico y una sal (García-Cruz et al., 2021; Rodríguez-Salazar & Valle-Guadarrama, 2020), los cuales, en función de la concentración pueden formar dos fases inmiscibles que favorecen la separación de los compuestos. Durante el desarrollo del sistema es fundamental la presencia de los dos tipos de componente, pues la formación de fases depende de un mecanismo de exclusión salina o “*salting-out*” (Gomes et al., 2017). Si bien los sistemas polímero-sal constituyen la manera más común de implementar la técnica, el uso de solventes orgánicos ofrece una manera más directa eliminarlos al final mediante evaporación (García-Cruz et al., 2021), lo cual es una ventaja. En el caso de antocianinas, la técnica se ha usado con sistemas que han incluido sales como sulfato de amonio (Liu et al., 2013) o sulfato de magnesio (Jiménez-Velázquez et al., 2020). Pese a eso, el eventual uso de los extractos en matrices alimenticias obliga a considerar las concentraciones residuales de la sal usada y que éstas no sean tóxicas. En tal sentido, se ha

argumentado que el uso de citrato de sodio puede ser una alternativa factible de ser aprobada por los organismos correspondientes. Las antocianinas son estables en el rango de pH de 3.0 a 5.0, principalmente (Lee et al., 2005) y fuera de ese rango pueden experimentar degradación. A este respecto, Hernández-Rodríguez (2023) demostró que el uso de un sistema basado en acetona, citrato de sodio y ácido cítrico provee un medio adecuado para extraer antocianinas atendiendo el control de pH. Sin embargo, la presencia de cantidades residuales de acetona puede ser una desventaja para un potencial uso de los extractos en alimentos, lo que plantea la necesidad de explorar el uso de un solvente, tal como etanol, que no exhiba esos problemas. En tal contexto, el objetivo del trabajo fue evaluar las condiciones de operación de un procedimiento de extracción acuosa en dos fases para separar compuestos bioactivos del olote de maíz para incrementar el valor agregado de este subproducto.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Material vegetal

Se utilizaron 4 poblaciones (Cuadro 8) de olotes de maíz morado (*Zea mays* L.) colectadas en el municipio de Juchitepec, Estado de México (19°06'08"N y 98°52'45"O; 2,650 m sobre el nivel del mar). Se cosecharon en el mes de enero de 2024.

Cuadro 8. Identificación de las poblaciones utilizadas.

Código	Población
P5	Negro de Ixtenco
P6	Negro de Ixtenco x Negro de Perú
P7	Azul x Negro de Ixtenco (colecta 7247 B)
P8	Azul x Negro de Ixtenco (colecta 7246 B)

3.2.2. Molienda

Los olotes secos se molieron en un molino de martillos (FT-MM-02, JERSA, Méx.) y posteriormente el polvo obtenido se tamizó en un tamiz malla 40, con un tamaño de partícula aproximado de 425 micrómetros (μm) y se almacenó en oscuridad a 25 °C (temperatura ambiente). Después del análisis proximal fueron almacenados en un congelador (FC70D6BGX, Hisense, China).

3.2.3. Extracción convencional

Se utilizó como disolvente metanol (MeOH) al 80% (v/v) acidificado con 1% ácido trifluoroacético (TFA). Se pesaron 0.02 g de polvo de olote y se colocaron en tubos eppendorf® de 2 mL de capacidad, se agregaron 1.9 mL del disolvente y en seguida las muestras se sonicaron por 15 minutos en un baño Branson® (M1800H, USA), posteriormente se dejaron reposar en congelación por 105 min. y se centrifugaron a 2200×g por 10 min. El sobrenadante se recuperó y al residuo se le hizo una segunda extracción bajo las condiciones antes mencionadas. Los extractos de la primera y segunda extracción se juntaron y aforaron a 4 mL.

3.2.4. Color

El color se determinó en el polvo de olote de cada población experimental mediante un colorímetro Hunter Lab (Mini Scan XE Plus 45/0-L, USA). Los resultados se expresaron como luminosidad (L), croma (C) (Ecuación 1), ángulo de tono (H°) (Ecuación 2) y cambio de color (ΔE^*) (Ecuación 3) (McGuire, 1992).

$$C = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (\text{Ecuación 1})$$

$$H^\circ = \arctan \left(\frac{b}{a} \right) \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta a + \Delta b + \Delta L} \quad (\text{Ecuación 3})$$

3.2.5. Elaboración del diagrama de fases

Para la construcción del diagrama binodal se usó etanol, citrato de sodio (40%) y ácido cítrico (40%). Se utilizó el método titulación turbidimétrica descrito por Jiménez-Velázquez *et al.*, (2020). En un tubo Pyrex® de 70 mL se pesaron 3 g de la solución de citrato de sodio y 1 g de la solución de ácido cítrico. Se agregó gota a gota etanol grado 96 y se agitó en un Vortex Mixer (Cole-Parmer, USA), se registró el peso de cada gota agregada, se agitó y así consecutivamente hasta obtener una apariencia turbia. En este cambio, se agregó agua desionizada gota a gota y de igual forma registrando el peso del sistema; después de cierta cantidad agregada la solución se tornó transparente. Después se volvió a agregar gota a gota etanol grado 96 hasta llegar a la turbidez y luego agua desionizada hasta llegar a la transparencia. El proceso se repitió cuantas veces fue necesario y en todo el proceso se registró el peso del sistema al agregar las soluciones. Se realizó por triplicado.

Con los datos obtenidos se realizó un balance de materia. Después de realizar el balance de materia con los datos obtenidos de las tres repeticiones realizadas de la fase del punto de turbidez se graficaron y se ajustaron a la ecuación de Merchuk *et al.* (1998) Ecuación (4).

$$y = a * \exp(b * x^{0.5} - c * x^3) \quad \text{(Ecuación 4)}$$

Las concentraciones de los estados de turbidez se graficaron y se formó una curva binodal. se identificó los extremos A (1.8998, 60.3384) y B (30.2394, 24.6531), con estos valores se trazó una línea principal de operación. Esto en conjunto constituye el diagrama binodal de fases.

Relación de volumen: para cada punto equidistante en la línea de operación se calculó la relación de volumen (V_r) (Raja *et al.*, 2011) (Ecuación 5), V_{sup} indica la fase superior (mL) que es la fase etanólica y V_{inf} el volumen de la fase inferior (mL) que está compuesta por la combinación de las sales de citrato de sodio y ácido cítrico.

$$V_r = \frac{V_{sup}}{V_{inf}} \quad \text{(Ecuación 5)}$$

Rendimiento de extracción: después de evaluar la concentración de los compuestos bioactivos de interés se evaluó el rendimiento de extracción para la fase superior (Ecuación 6) e inferior (Ecuación 7).

$$R_s = \frac{C_s V_s}{C_s V_s + C_i V_i} * 100 \quad \text{(Ecuación 6)}$$

$$R_i = \frac{C_i V_i}{C_s V_s + C_i V_i} * 100 \quad \text{(Ecuación 7)}$$

3.2.6. Selección del punto de operación

Se identificaron cinco puntos equidistantes (C, D, E, F, G) en la línea principal del diagrama de binodal de fases para la formación de sistemas ATPE. Para cada punto se pesaron las cantidades requeridas de etanol y citrato de sodio – ácido cítrico para un sistema de 30 g, los reactivos se disolvieron con agua desionizada. Para la extracción se usaron 0.2 g de muestra, los cuales fueron agregados a los sistemas de ATPE, posteriormente se agitaron en un Vortex Mixer (Cole-Parmer, USA) por 1 min. Posteriormente se dejó reposar por 10 min. Cuando las fases se formaron, se midió el volumen de cada fase, pH y la concentración de antocianinas totales (ANT) en ambas fases.

3.2.7. Evaluación del efecto de la temperatura

El sistema de extracción acuosa en dos fases se preparó en las concentraciones elegidas en la etapa anterior y se repitió el procedimiento descrito en la misma, excepto que el tiempo de agitación en orbital a 175 rpm durante 1 h, se llevó a cabo a distintas temperaturas a 25°C, 40 °C y a 55 °C. el resto del procedimiento fue igual al realizado en la etapa anterior. Cuando las fases se formaron, se midió el volumen de cada fase, pH y la concentración de antocianinas totales (ANT) en ambas fases.

3.2.8. Tiempo de agitación previa a la extracción acuosa en dos fases

Se preparó el sistema de extracción acuosa en dos fases en las mejores concentraciones elegidas previamente. El sistema se trabajó bajo la mejor

temperatura identificada en la etapa anterior y se aplicó agitación en orbital a 175 rpm durante diferentes tiempos, que variarán de 0, 15, 30, 45 y 60 min. Cuando las fases se formaron y después del reposo de 10 min, se midió el volumen de cada fase, pH y la concentración de antocianinas totales (ANT) en ambas fases.

3.2.9. Extracción acuosa en dos fases auxiliada con ultrasonificación

Se preparó el sistema bajo las mejores condiciones encontradas en las etapas anteriores. Las unidades se sometieron a ultrasonificación en Baño Branson (M1800H, USA), con una frecuencia de onda constante (70 W, 40 kilohertzios (kHz) con tiempos de 0, 30 y 120 segundos. Posteriormente, se agitaron en orbital (ISHD16HD6, Ohahus, USA.) a 175 rpm.

3.2.10. Antocianinas totales (ANT)

Extracción convencional. La determinación se hizo por espectrofotometría. En una microplaca de 96 pozos previamente distribuida, se colocaron 200 μ L de extracto. La lectura de la microplaca se realizó a 530 nm en un espectrofotómetro (Epoch, Biotek instruments, Winooski, VT, USA). La cuantificación se basó en una curva estándar de cianidina. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de cianidina (ECy mg/ 100 g).

Extracción utilizando el sistema acuoso en dos fases. La determinación se realizó por espectrofotometría. Se siguió la misma metodología para la extracción convencional. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de cianidina por mL de extracto (mg ECy/mL).

3.2.11. Fenoles Solubles (FS)

Se empleó el método de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965) con algunas modificaciones. En el pozo de una microplaca se agregaron 25 μ L de extracto, 125 μ L de agua destilada, 20 μ L de la disolución del reactivo de Folin-Ciocalteu (0.2 N) y 30 μ L de carbonato de sodio al 20%. La mezcla se dejó reposar durante 30 minutos en oscuridad. La lectura se realizó a 760 nm en un espectrofotómetro (Epoch, Biotek instruments, Winooski, VT, USA). La cuantificación se basó en una curva estándar de ácido ferúlico. Los resultados se expresaron como mg

equivalentes de ácido ferúlico (mg EAF/100 g de muestra) y en mg equivalentes de ácido ferúlico por mL de extracto (mg EAF/mL de extracto), para el caso de la evaluación de los sistemas de extracción bifásicos.

3.2.12. Proantocianidinas (P)

Se utilizó el método de Kubola y Siriamornpun (2011) con algunas modificaciones. En tubos de ensayo, se colocaron 20 μ L de extracto, a los cuales se le agregaron 180 μ L de metanol grado HPLC, 1200 μ L de vainillina al 4% (en metanol HPLC) y 600 μ L de ácido clorhídrico concentrado. La mezcla se dejó reposar durante 30 minutos en oscuridad. La lectura se realizó a 500 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (DR 500 UV-Vis HACH, USA). Se construyó una curva de calibración de catequina con concentraciones de 500 a 4000 μ g/mL ($R^2=0.9921$). La concentración de proantocianidinas se calculó en mg equivalentes de catequina por 100 g de muestra (mg EC/100 g de muestra) y en mg equivalentes de catequina por mL de extracto (mg EC/mL de extracto) para el caso de la evaluación de los sistemas de extracción bifásicos.

3.2.13. Flavonoides totales (FT)

Se utilizó el método descrito por Samatha et al. (2012). En tubos de ensayo se colocaron 500 μ L de extracto, a los cuales se les agregaron 2000 μ L de agua destilada, 150 μ L de nitrito de sodio al 5 %, dejándose reposar durante 6 minutos. Después, se adicionaron 150 μ L de tricloruro de aluminio al 10 % y se dejó reposar 6 minutos más. Posteriormente, se agregaron 2000 μ L de hidróxido de sodio al 4 % y 200 μ L de agua destilada. La mezcla se dejó reposar durante 15 minutos en oscuridad, y se realizó la lectura a 510 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (DR 500 UV-Vis HACH, USA). Se construyó una curva de calibración de quercetina en concentraciones de 10 a 400 μ g/mL ($R^2=0.9942$). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de quercetina por 100 g de muestra (mg EQ/100 g de muestra) y en mg equivalentes de quercetina por mL de extracto (mg EQ/mL) para el caso de la evaluación de los sistemas de extracción bifásicos.

3.2.14. Azúcares totales (AT)

Se empleó el método descrito por DuBois et al. (1956) con algunas modificaciones propuestas por Safařík y Šantrůčková (1992). De cada fase se tomaron 100 µL, a los cuales se les agregaron 500 µL de fenol al 5% y 2500 µL de ácido sulfúrico concentrado. Se dejó reposar por 15 min y la lectura realizó a 490 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (DR 500 UV-vis HACH, USA). Se construyó una curva de calibración con glucosa, con concentraciones que oscilaron de 113.21 a 802.40 µg/mL ($R^2 = 0.9927$). Los resultados se expresaron como mg de glucosa por 100 g de muestra (mg EG/100 g de muestra) y en mg de glucosa por mL extracto (mg EG/mL de extracto) para el caso de la evaluación de los sistemas de extracción bifásicos.

3.2.15. Análisis proximal

Se determinó el contenido de humedad, proteína cruda, extracto etéreo, cenizas, fibra cruda y carbohidratos (AOAC, 2000).

3.2.16. Evaluación del pigmento

Yogur. El punto D del diagrama binodal de fases se preparó con un peso total de 250 g y 1.67 g de muestra. Se recuperó el etanol de la fase superior de un volumen inicial de 220 mL a un volumen final de 36 mL, en un rotavapor (Buchi R-300, Suiza) a 45°C, 121 revoluciones por minuto (rpm) a una presión de 70-71 milibar (mbar). Se usó yogur natural endulzado comercial (Lala S.A.B. de C.V., México) y se hicieron pequeños lotes con 5 gramos cada uno a los cuales se les adicionó una concentración de extracto conocida (0 - 2.3%), se mezcló para homogenizar y después se evaluó luminosidad (L), ángulo de tono (H°) y croma (C) usando un colorímetro Hunter Lab (Mini Scan XE Plus 45/0-L, USA). Los datos obtenidos se analizaron con el software Sigma Plot (SPSS, 2000) y se determinó para cada población la cantidad de extracto necesario para obtener un ángulo de tono (H°) constante.

Se prepararon lotes de 25 g de yogur a los cuales se les adicionó extracto definido de las poblaciones P5 y P6. Los lotes se almacenaron a 4 (± 2) °C y a 25 °C

(temperatura ambiente) durante 30 días se evaluó color en términos de L, H°, C en diferentes tiempos y pH.

Tamales. El punto D del diagrama binodal de fases se preparó con un peso total de 400 g y 2.7 g de muestra. Se recuperó el etanol de la fase superior de un volumen inicial de 310 mL a un volumen final de 66 mL, en un rotavapor (Buchi R-300, Suiza) a 45°C, 121 revoluciones por minuto (rpm) a una presión de 70-71 milibar (mbar). Se trabajó con harina nixtamalizada comercial marca San Blas®, materia grasa (Nutrioli, RA-GASA®), leche condensada (La lechera, Nestlé®), polvo para hornear (Royal, Mondelez®), bicarbonato de sodio (Promessa®) y leche (Valley foods®). Se preparó una formulación de masa para tamal con los ingredientes antes mencionados. La masa ya preparada se dividió en lotes de 22 g a los cuales se les adicionó una concentración de extracto conocida. Se mezcló para homogenizar y después se cocieron. Antes y después de cocidos se evaluó luminosidad (L), ángulo de tono (H°) y croma (C) usando un colorímetro Hunter Lab (Mini Scan XE Plus 45/0-L, USA). Los datos obtenidos se analizaron con el software Sigma Plot (SPSS, 2000) y se determinó para cada población la cantidad de extracto necesario para obtener un ángulo de tono (H°) constante.

Se prepararon lotes de 20 g de masa para la curva de pigmentación, a los cuales se les adicionó extracto definido de las poblaciones P5 y P6. Se evaluó color en términos de L, H°, C y cambio de color antes y después de cocidos.

3.2.17. Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar para el análisis de los datos y pruebas de comparación de medias de tratamiento con el estadístico de Tukey, con un nivel de significancia de 0.05. Los datos se analizaron usando el paquete estadístico R Core Team (2023).

3.3. Resultados y discusión

3.3.1. Caracterización del material vegetal

De las cuatro poblaciones de estudio, solo dos poblaciones presentaron mayor concentración de antocianinas. La población P5 y P6 (Cuadro 9) estadísticamente diferentes a las poblaciones P7 y P8. Las poblaciones P7 y P8 comparten la misma genealogía, pero diferente colecta por lo cual su concentración de antocianinas es similar.

Los resultados obtenidos para las poblaciones P5 y P6 son superiores a los reportados por Mendoza-Mendoza et al. (2020) para los grupos y la población III-43 (1.3765 g/100 g) raza Cacahuacintle con olote morado, I-34 (1.1022 g/100 g) y I-13 (0.1004 g/100 g) olote de maíz morado, así como para TB/KND//PF10 (1176.5 mg CGE/g 100 DW), TB/KND//PF3 (1455.4 mg CGE/g 100 DW) (Khamphasan et al., 2018) y, a la variedad KND (18.39 mg/ 100 g de extracto) (Ratha et al., 2023). También son superiores a las concentraciones de antocianinas en el olote de Canta (13.359 mg/g), La Joya (14.751 mg/g), y al rango reportado para olote morado de 6.17 a 6.54 mg/g (Monroy et al., 2016). Sin embargo, son inferiores a los valores obtenidos para la muestra PM 581 (20.595 mg/g) (Quispe-Jacobo et al., 2011), y TB/KND/PF14 (1733.3 mg CGE/g 100 DW) y TB/KND//PF8 (2022.1 mg CGE/g 100 DW) (Khamphasan et al., 2018), así como para el olote morado (34 g/100 g) (de Pascual-Teresa et al., 2002). No obstante, los valores obtenidos para P5 y P6 son similares a los reportados para TB/KND//PF15 (1654.4 mg CGE/g 100 DW) TB/KND/PF16 (1677.8 mg CGE/g 100 DW) (Khamphasan et al., 2018).

El contenido de antocianinas en los olotes peruanos canteño (2.8 mg/g), MM (3.8 mg/g) e INIA-601 (3 mg/g) son inferiores a las poblaciones analizadas. Estas variedades fueron cultivadas en cinco localidades diferentes, lo cual influye en el desarrollo de la planta y por ende en el contenido de antocianinas total (Atalaya & Hoyos, 2022), ya que dos de estas variedades al ser cultivadas en una región diferente, en Cajamarca, Perú; la concentración obtenida de antocianinas fue casi

del doble. Teniendo concentraciones para INIa-601 de 7.9 mg/g y 7.2 mg/g para MM (Rabanal-Atalaya & Medina-Hoyos, 2022).

La extracción empleando metanol 80% + 1% de TFA mejora el proceso de extracción de antocianinas comparado con otros solventes como lo es agua, etanol acidificado y agua purificada acidificada, tal como lo reporta Jeong et al., (2015) al usar agua destilada y un tiempo de extracción total de 24 horas obtuvo 24.6 mg/g de cianidina, si bien la concentración total es superior a la que presentan las muestras P5 y P6. Las concentraciones de las poblaciones P5 y P5 poblaciones se obtuvieron al realizar una doble extracción lo que da un total de 4 horas que, comparado con el tiempo reportado por el autor, es menor.

Es importante mencionar el limitante de extraer antocianinas con estos solventes que causan daños a la salud al ser ingeridos o al ser mal purificado el extracto y queden residuos de estos.

Cuadro 9. Composición fitoquímica de la harina del olote de maíz morado, cultivado en Juchitepec, Estado de México en el ciclo P-V, 2023.

Población	Antocianinas (mg ECy)	Fenoles solubles (mg EAF)	Flavonoides (mg EQ)	Azúcares totales (mg EG)
P5	1678.2 ± 6.1 a	4678.1 ± 149.0 a	5781.7 ± 81.8 b	10917.4 ± 140.7 a
P6	1651.8 ± 11.7 a	4740.1 ± 170.8 a	6238.8 ± 119.6 a	8654.1 ± 64.6 b
P7	748.7 ± 59.8 b	2743.7 ± 156.9 b	3135.1 ± 23.3 c	5231.9 ± 81.5 c
P8	818.3 ± 15.1 b	2767.2 ± 152.7 b	3196.7 ± 54.7 c	5267.0 ± 29.9 c

P5: Negro de Ixtenco, P6: Negro de Ixtenco x negro de Perú, P7: azul x negro de Ixtenco (colecta 7247 B) y P8: azul x Negro de Ixtenco (colecta 7246 B). Los datos están reportados como media ± desviación estándar, se realizaron por triplicado (n=3). En mg · 100 g⁻¹ de muestra base seca. Las letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas (Tukey, 0.05).

El contenido de fenoles solubles expresado como ácido ferúlico es mayor en las poblaciones P5 y P6 en comparación con las poblaciones P7 y P8. Sin embargo, la concentración de las cuatro poblaciones es superior a lo reportado para el extracto de olote de la variedad KND (0.96 mg/g de extracto) (Ratha et al., 2023) y para el maíz morado en los genotipos MMB (99.48 mg/100 g) y MPP (144.86 mg/100 g) (Rodríguez-Salinas et al., 2020). Los compuestos fenólicos en las poblaciones P7 y P8 son inferiores a los reportados para PM-581 (*Z. mays* L. cv. La Molina), que presenta concentraciones de 3240-3516 mg/100 g (Jing et al., 2007). Sin embargo, las poblaciones P5 y P6 registraron valores superiores a los de esta variedad.

La concentración de azúcares totales es mayor en la población P5 en comparación con las poblaciones P7 y P8, las cuales presentan una concentración similar entre sí. Además, estas concentraciones son inferiores a las reportadas por Gullón et al. (2020), quienes informaron un valor de 166.4 mg/g para el olote morado en condiciones óptimas de extracción pH 2.5, 300 min, 112.5 °C utilizando un procedimiento hidrotérmico. Sin embargo, el disolvente de extracción para las poblaciones fue Metanol 80% más 1% de ácido trifluoroacético (TFA) presentó un pH en el rango de 1 a 2, lo cual pudo intervenir en la ruptura de las estructuras de los carbohidratos presentes en la muestra. Se aplicó una segunda extracción, la muestra tuvo mayor interacción con el medio de extracción además se aplicó sonicación en un baño Branson® (M1800H, USA) durante 15 min y un tiempo de reposo de 145 min. Al emplear el método de azúcares totales propuesto por DuBois et al. (1956) con algunas modificaciones propuestas por Safařík y Šantrůčková (1992), todos los carbohidratos (oligosacáridos y polisacáridos) pueden ser cuantificados debido a la reacción ácida que producen monosacáridos (Córdoba et al., 2013). También, es preciso considerar la composición del olote, Córdoba et al. (2013) reportó el contenido de celulosa 45%, hemicelulosas 33.6% y lignina 15.8% (p-hidroxifenilo, guayacilo y siringilo). Entre estos compuestos se ha presentado un interés particular en los polisacáridos y los antioxidantes por el alto potencial para la obtención de compuestos bioactivos (Gullón et al., 2020).

La concentración de flavonoides equivalentes de quercetina varía entre las poblaciones, siendo la población P6 la que presenta mayor concentración, mientras que las poblaciones P7 y P8 tienen las concentraciones más bajas. Sin embargo, estas concentraciones son superiores a lo reportado por Gullón et al. (2020), con 22.8 mg RE/g (Equivalentes de rutin) para olote morado, y para el olote cultivado en tierras bajas (492 mg/100 g) y tierras altas (1160 mg/100 g) (Ranilla et al., 2021).

El olote residual de la cosecha de maíz morado cultivado en la región de Juchitepec, Estado de México presenta un alto contenido de compuestos bioactivos de interés que pueden ser aplicados en diversas industrias. Es preciso incrementar la valorización de estos residuos mediante la extracción de los compuestos antes analizados y aplicarlos en los productos alimenticios.

3.3.2. Color

Los valores obtenidos para el ángulo de tono (H°) en particular la población P5 presenta un valor menor comparado con la población P7, esto indica que P5 es más cercana a un tono rojo (Figura 14). Esto puede sugerir que esta población podría tener una concentración mayor de antocianinas. El resto de las poblaciones presentan valores más cercanos entre sí, lo cual al ser graficados puede apreciarse que tienden a un tono rojo-naranja. Sin embargo, como se puede apreciar en la Figura 14, el olote molido contiene pequeñas partículas no pigmentadas las cuales afectan la medición de color. Esto se debe a que, durante el proceso de la molienda, se integran componentes pigmentados y no pigmentados provenientes de las diferentes partes del olote (Figura 10).

Los valores de H° (Figura 14) para las poblaciones de estudio son superiores al valor mínimo reportado para las poblaciones de olote de Tepatitlán, Jalisco (11.34°) y de la Huerta, Jalisco (10.64°), pero inferiores al valor máximo observado que es 38.77° y 43.47° respectivamente, reportados por Aguilar-Hernández et al. (2019) para el olote de maíz peruano cultivado en Tepatitlán, Jalisco.

El valor de H° para la población P5 fue de $17.04^\circ \pm 4.07$ es inferior al reportado por Rodríguez-Salinas et al. (2020) para la harina de maíz morado con valores entre 19.63 y 87.05. Sin embargo, los valores de H° para el resto de las poblaciones (P6, P7, y P8, Figura 14) se encuentran dentro del intervalo antes mencionado.

En todas las poblaciones analizadas el ángulo de tono fue menor que lo reportado por Salinas-Moreno et al. (2012) para el maíz azul (80.3°), rojo claro (57.3°) y rojo magenta (45.9°) de Chiapas. La población P6 mostró un valor superior al reportado para el maíz peruano (11.87°) por Salinas-Moreno et al. (2005), mientras que la población P7 presentó un valor similar al reportado por Mendoza-Mendoza et al. (2017) para una de las líneas S_2 con color de grano azul oscuro (25.5°). Además, las poblaciones P5, P6 y P8 mostraron valores inferiores a los reportados en las líneas S_2 .

Los valores de C (Figura 14) de las poblaciones son similares entre sí, lo cual indicó que presentan el mismo nivel de intensidad o pureza. Según Salinas-Moreno et al. (2012) una tonalidad más oscura es asociado al mayor contenido de antocianinas. Las lecturas obtenidas para las poblaciones son mayores a las reportadas por Rodríguez-Salinas et al. (2020) para harina de maíz morado, donde el valor mínimo para el genotipo PCA es 7.18 y el valor máximo para PTE 8.33. También superan los valores reportados para las líneas S_2 de maíz morado de color morado intenso de San Juan de Ixtenco, Tlaxcala, que varían entre 3.1 y 3.2 (Mendoza-Mendoza et al., 2017). Sin embargo, los valores de C para las poblaciones P5, P6, P7 y P8 están por debajo de valor máximo reportado para las poblaciones de olote morado de origen peruano analizados por Aguilar-Hernández et al. (2019), que son 13.7 para la población de Tepatitlán, Jalisco y 14.98 para la población de la Huerta, Jalisco.

La población P6 presentó un valor para C superior al reportado para el maíz peruano (4.98) por Salinas-Moreno et al. (2005). Por otro lado, el valor de C para la población P7 es similar al reportado por Salinas-Moreno et al. (2012) para maíz azul (11.1) de Chiapas.

Las poblaciones P5 y P6 muestran un valor inferior de luminosidad al de las poblaciones P7 y P8. Es decir, las poblaciones con el valor menor presentan una tonalidad más oscura. La luminosidad va de 0 a 100, donde 0 representa el extremo más oscuro y 100 es el más claro. Para valores de L (Figura 14), las poblaciones presentan valores mayores que los reportados por Aguilar-Hernández et al. (2019) para olote de maíz morado cultivado en Tepatitlán, Jalisco (20.06%) y de la huerta, jalisco (24.66%). Sin embargo, los valores de L de las poblaciones P5, P6, P7 y P8 siguen siendo menores en comparación con los resultados reportados por Salinas-Moreno et al. (2012) en granos de maíz azul (47.9), rojo claro (51.4) y rojo magenta (38.5) de Chiapas, así como por Rodríguez-Salinas et al. (2020) para MPP (42.75) y superiores que los reportados para MLSA (25.13) ambos maíces morados. Los valores de las poblaciones P5, P6, P7 y P8 también son inferiores a los reportados por Moreira et al. (2015) para la harina de maíz morado, con valores de L de 53.80 y 54.49 para tamaños de partícula de 500 μm y 200 μm , respectivamente. Esto indica que el tamaño de partícula influye en el color. La población P6 presentó un valor mayor que el reportado para el maíz peruano (14.10) por Salinas-Moreno et al. (2005).

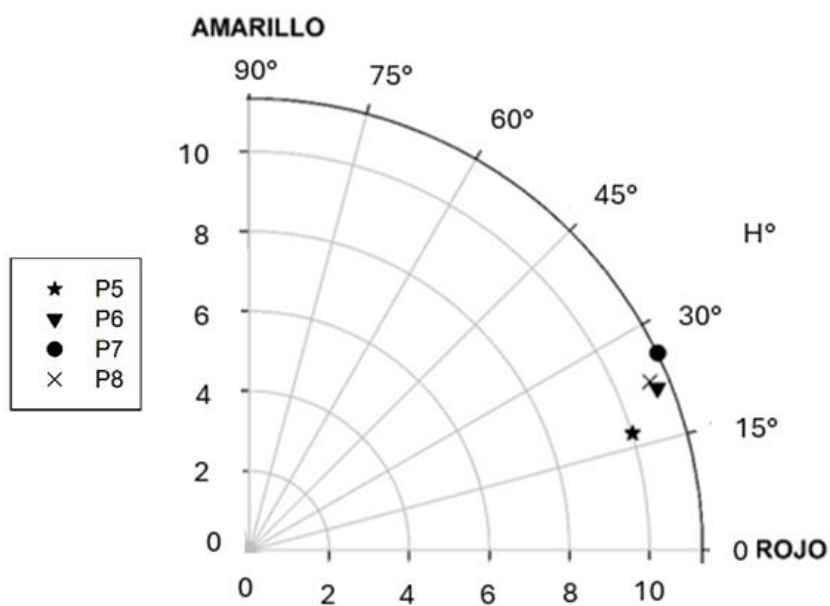
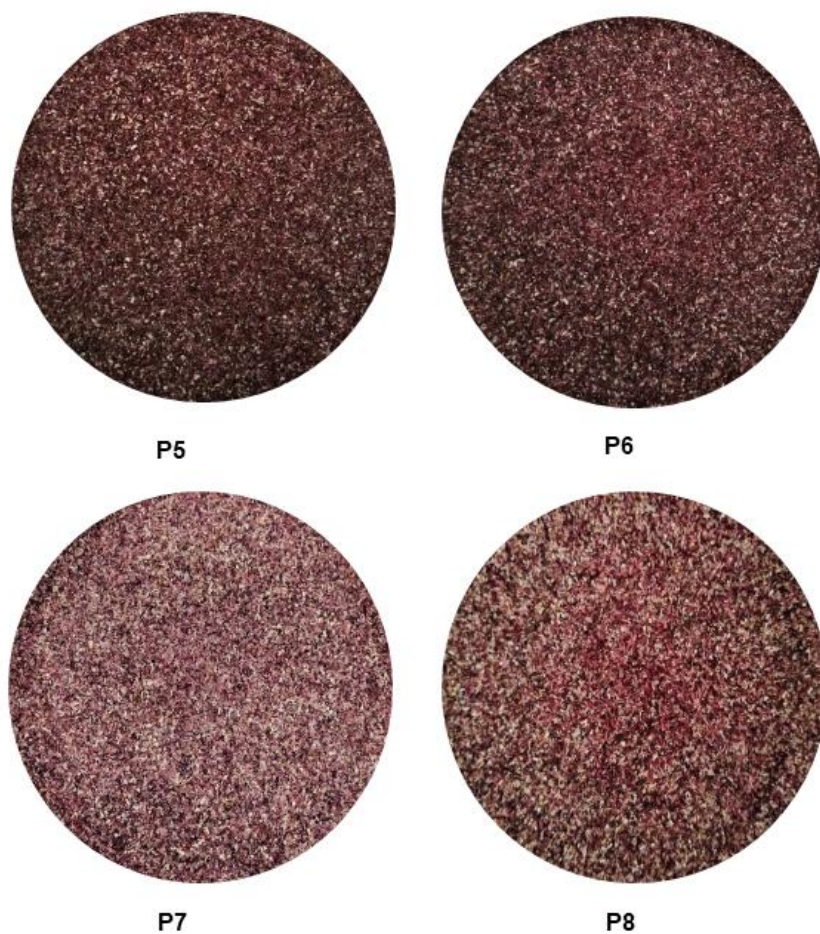


Figura 14. Representación en el plano de Croma x ángulo de tono del polvo de olote de cuatro poblaciones de maíz morado, cultivado en Juchitepec, Estado de México y su apariencia.

3.3.3. Análisis proximal del olote

El porcentaje de humedad fue igual para ambas poblaciones de estudio (Cuadro 10). Los resultados fueron menores al 9% reportado por Cardona et al. (2002), pero superior al reportado para la variedad INIA 615- Negro Canaán de 2.33% (Requis-Varillas, 2012).

El contenido de carbohidratos, levemente mayor fue presentado por la población P5, pero, en ambas poblaciones fue menor a los reportados por Rodríguez-Miranda et al. (2022) de 59.86% para el olote de maíz morado, 53.02% para el olote de maíz blanco y 62.40% para la variedad INIA 615- Negro Canaán (Requis-Varillas, 2012).

La población P5 contiene el porcentaje de cenizas (Cuadro 10) mayor. El contenido de cenizas obtenido en las muestras analizadas es menor al reportado por Pratheep et al. (2021) de 12.23% para el olote de maíz, pero, son superiores a los reportados para cada parte de olote sin pigmentar por Tkeda et al. (2018), siendo para la gluma de un 3.1%, 1.4% para el anillo leñoso y 2.4% para la médula. También son superiores a los reportados para algunas variedades de maíz nativo *Nal t'ee* 1.46%, *Xmejen nal* 1.63%, *T'siit bakal* 1.38%, *Xnuuk nal* 1.52% de Yucatán, México por Cázares-Sánchez et al. (2015) y en olote 2% (Córdoba et al., 2013).

El porcentaje de proteína cruda (Cuadro 10) en ambas poblaciones no presenta diferencia significativa. Sin embargo, los valores obtenidos son superiores al reportado para la variedad de olote INIA 615- Negro Canaán de 4.37% (Requis-Varillas, 2012). Takada et al. (2018) reportó un porcentaje de proteína para gluma de 2.3%, 2.1% para el anillo leñoso y 2.4% para la médula, siendo el análisis en un olote no pigmentado. En el polvo de olote morado ocupado durante la investigación hubo una mezcla de las tres partes. La gluma representa el 21.1%, el anillo leñoso el 77.5% y 1.4% la médula de la estructura total del olote (Takeda

et al., 2018) por lo cual, existen diferencias entre la composición de cada parte de la estructura del olote.

El porcentaje de extracto etéreo es estadísticamente igual en ambas poblaciones. Los valores de las poblaciones P5 y P6, son inferiores al reportado para el olote variedad INIA 615- Negro Canaán de 30.55 (Requis-Varillas, 2012) y para los grupos de maíz nativo *Nal t'eel* 3.94%, *Xmejen nal* 3.98%, *T'síit bakal* 3.95% y *Xnuuk nal* 3.89% y en la población de maíz A-1541 (morado) 4.26% y A-1501 (morado) 3.91% de Yucatán, México por Cázares-Sánchez et al. (2015). Pero superiores al reportado para olote 0.4% (Cardona et al., 2002).

Siendo la población P6 la que presenta mayor contenido de fibra cruda. Ambos valores son superiores al reportado por Cardona et al. (2002) de 32%.

Cuadro 10. Composición proximal de olote de maíz morado cultivado en la región de Juchitec, Estado de México.

Población	Humedad	Proteína cruda	Cenizas	Extracto etéreo	Fibra cruda	Carbohidratos
P5	7.13 b ± 0.03	7.48 a ± 0.16	4.70 a ± 0.00	0.72 a ± 0.09	36.59 a ± 2.82	43.38 a ± 2.56
P6	6.99 a ± 0.02	6.96 a ± 0.34	4.25 b ± 0.04	0.79 a ± 0.22	38.87 b ± 0.33	42.14 a ± 0.32

Comparación de medias (%) base seca. Las letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencias significativas (Tukey, 0.05).

3.3.4. Selección del material vegetal

Una característica importante en el material vegetal es que la medula y anillo leñoso, los cuales no están pigmentados como es el caso de la variedad estudiada por Yang & Zhai (2010), Hao et al. (2022) y Medina-Hoyos et al. (2020).

Sin embargo, con base en la extracción convencional se eligieron para las siguientes etapas, las poblaciones Negro de Ixtenco (P5) y Negro de Ixtenco x

Negro de Perú (P6), las cuales presentaron la mayor concentración de antocianinas, el cual es el compuesto de principal interés para la investigación.

La población nativa P5 se utilizó como población de referencia para aplicar los criterios de extracción empleando un sistema acuoso bifásico. Después de definir los criterios de extracción se aplicaron también a la población P6 y se evaluaron los resultados.

3.3.5. Elaboración del diagrama binodal de fases

La mezcla de citrato de sodio, ácido cítrico (3:1) y etanol permitieron la formación de sistemas bifásicos. En la Figura 15, se muestran los puntos de turbidez constituidos en la curva binodal ajustada ($R^2= 0.9974$).

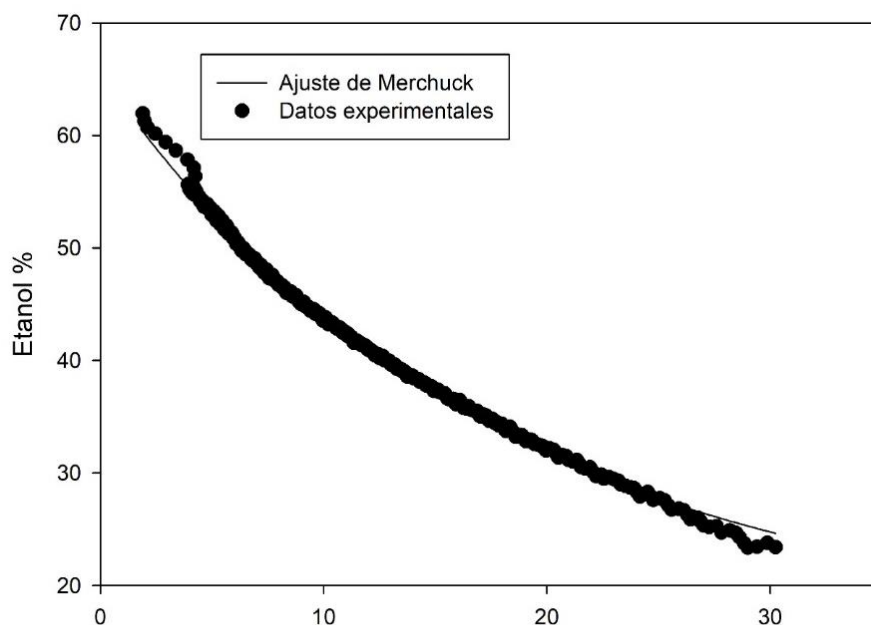


Figura 15. Diagrama de fase binodal ajustada, desarrollada a temperatura ambiente (25 °C).

3.3.6. Sistemas acuosos bifásicos

Con los datos del ajuste de la curva binodal, se obtuvo el valor $x: 1.90\%$ y $y: 60.34\%$ que corresponde al estado con menor porcentaje de citrato de sodio y ácido cítrico. También se obtuvo el valor de $x: 30.24\%$ y $y: 24.65\%$ que corresponde al mayor porcentaje de las sales (Figura 16). Después se procedió a trazar la línea

principal de operación y se ubicaron cinco puntos equidistantes con la composición descrita en el Cuadro 11, los cuales se procedió a evaluarlos. Cada punto presento una relación de volumen diferente (Figura 17C), debido a la ubicación de cada punto sobre la línea de operación principal y el porcentaje de los componentes que va cambiando conforme sea el desplazamiento en la línea de operación. Esto es, que la fase superior va disminuyendo mientras que la fase inferior que es el componente salino va aumentando.

Cuadro 11. Composición de los puntos equidistantes de la línea de operación A-B en un sistema bifásico a base de citrato de sodio, ácido cítrico y etanol.

Ubicación en la línea de operación	Citrato de sodio (%)	Ácido cítrico (%)	Etanol (%)
C	4.5	1.5	55.5
D	8.25	2.75	49
E	12	4	42.8
F	15.75	5.25	36.5
G	19.5	6.5	30

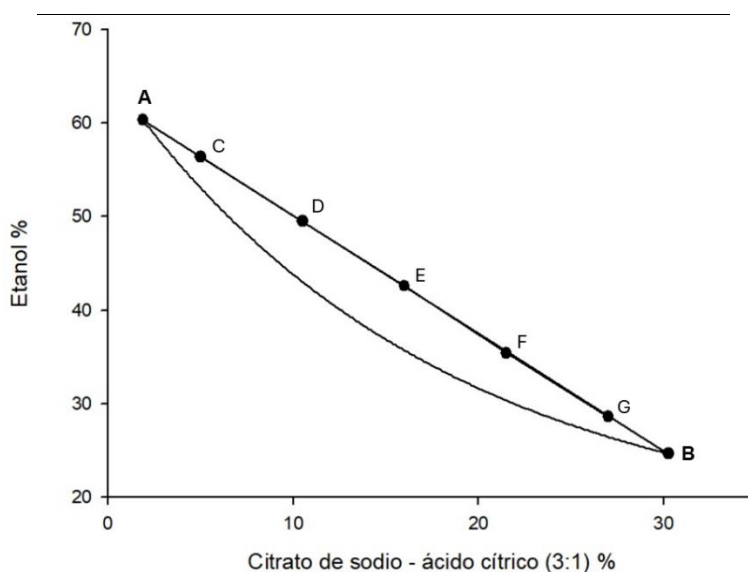


Figura 16. Puntos de operación en la línea principal del diagrama de fases. A y B son los máximos y mínimo de etanol y el conjunto de sales.

3.3.7. Selección del punto de operación

La concentración de ANT (Figura 17A) del punto C en la fase superior es mayor al resto de los puntos evaluados, a pesar de eso, la rápida cristalización de la fase salina en el punto limitó el análisis para cuantificar la concentración de ANT. El siguiente punto con mayor concentración de ANT es el F, sin embargo, en las fases inferiores de los puntos F y D, el punto F posee una mayor concentración de antocianinas. Teniendo el punto D, una menor concentración en la fase inferior comparada con el F. Esto es importante, debido a que la fase superior es la fase ideal para recuperar el compuesto de interés y tiene un volumen superior a la fase inferior del mismo punto. Además, el rendimiento de extracción es estadísticamente igual al del punto C (Figura 17B). El comportamiento del pH (Figura 17D) para la fase superior va disminuyendo conforme la concentración de agua desionizada y sales se incrementa. Caso opuesto, para la fase inferior el valor del pH se mantiene sin diferencias significativas. Esto se debe a la formación de una solución tampón entre las dos sales, donde el ácido cítrico posee la característica de donar tres protones y el citrato de sodio puede aceptar protones. Las propiedades que esta solución, incluye la fuerza iónica y una estabilidad térmica (19.85°C a 39.85°C) (Sun et al., 2017).

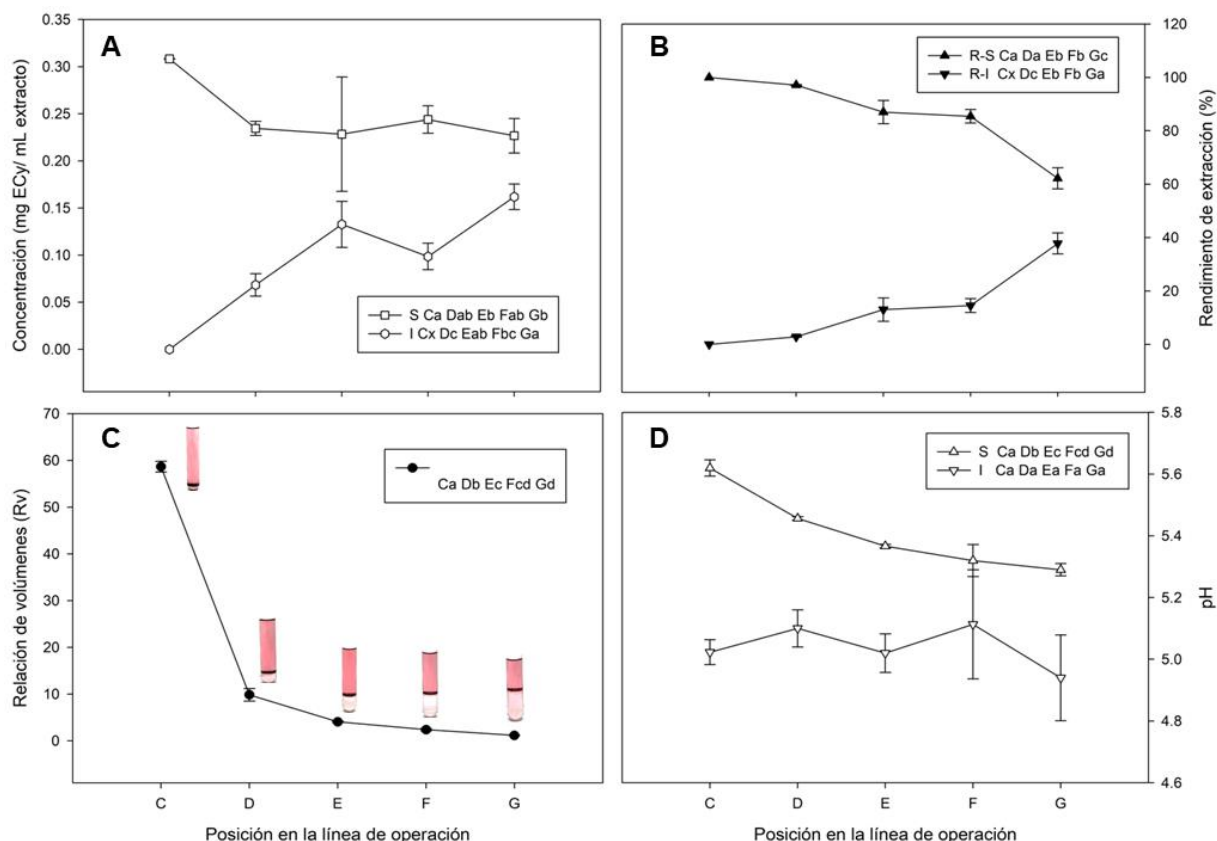


Figura 17. A: comparación de medias de la concentración de antocianinas en la fase superior e inferior de los puntos de trabajo en la línea de operación de la curva binodal. B: rendimiento de extracción de antocianinas de cada uno de los puntos en la línea de operación. C: relación de volúmenes. D: pH. Las letras mayúsculas dentro de los recuadros indican la posición en la línea de operación. Las letras minúsculas iguales en la misma fila indican que no hay diferencias significativas (Tukey, 0.05). Las barras de error representan desviación estándar.

3.3.8. Efecto de la temperatura

Los resultados indicaron que la concentración de ANT estadísticamente no es diferente entre las temperaturas evaluadas durante el tiempo de extracción. Para temperaturas menores se necesita mayor tiempo de extracción (Figura 18) para obtener un rendimiento mayor (Puértolas et al., 2013). Las temperaturas elevadas aplicadas en los procesos de extracción conducen a una mayor concentración de antocianinas, pero también provoca la degradación de las antocianinas con el tiempo (Xu & Chang, 2008). Ursu et al. (2020) reportaron que las antocianinas presentaron estabilidad al ser sometidas a temperaturas en un rango 80 a 120 °C, la degradación de las antocianinas presentó una disminución

máxima hasta del 83% a temperaturas de calentamiento superiores de calentamiento de 180 °C. Esto sugiere que las temperaturas altas aumentan el rendimiento de la extracción en un tiempo menor, se han registrado las temperaturas optimas alrededor de 60-100 °C lo cual varía dependiendo el método y solventes usados (Araptitsas & Turner, 2008; Liazid et al., 2011).

Sin embargo, considerando el efecto de la temperatura en la degradación de las antocianinas (Santos et al., 2012; Thuy et al., 2022) y el gasto energético que de llevar un sistema a escala industrial, se eligió la temperatura representativa del medio ambiente (25 °C), como la ideal a trabajar el sistema.

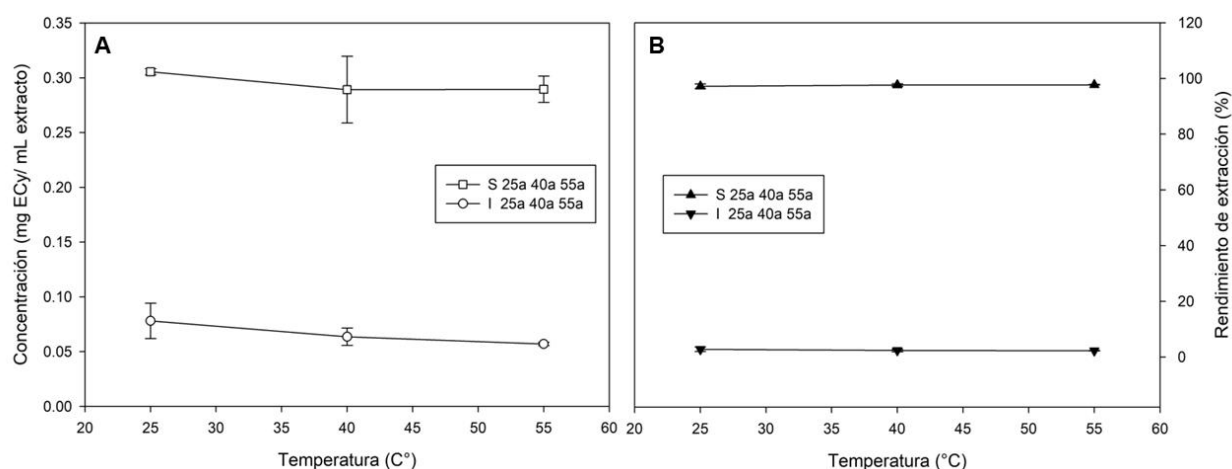


Figura 18. A: efecto de la temperatura de extracción en la concentración de antocianinas. B: rendimiento de extracción de la población P5. Las barras de error representan desviación estándar. S: fase superior. I- fase inferior. Las letras minúsculas iguales después de las temperaturas indicadas para cada fase indican que no hay diferencias significativas (Tukey, 0.05).

3.3.9. Tiempo de agitación previa a la extracción acuosa en dos fases

El tiempo de agitación (Figura 19) en la concentración de ANT si fue significativa. La mayor concentración de ATN se dio a los 60 minutos. Tal como lo menciona Puértolas et al. (2013), en procesos de extracción donde se tienen temperaturas menores el rendimiento va en función del tiempo.

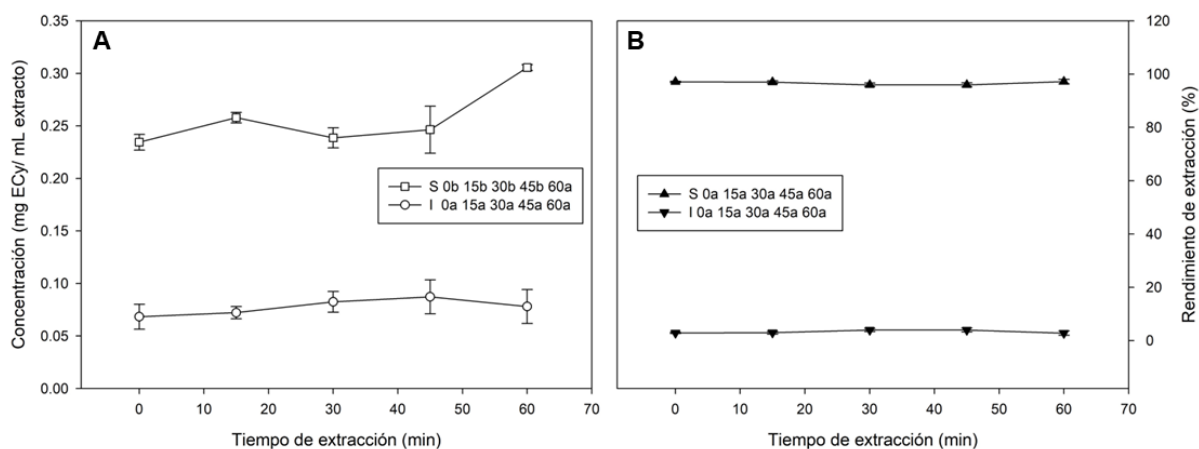


Figura 19. A: efecto del tiempo de agitación de los sistemas en el orbital en la concentración de antocianinas. B: rendimiento de extracción para cada temperatura evaluada. S: fase superior. I: fase inferior. Las letras minúsculas iguales para cada temperatura en la misma fase indican que no hay diferencias significativas (Tukey, 0.05).

3.3.10. Extracción acuosa en dos fases auxiliada con ultrasonicación

Para incrementar el rendimiento de extracción y disminuir el tiempo se ha optado por la combinación de métodos de extracción (Pereira et al., 2020). La aplicación en el proceso de extracción de ultrasonidos (Fernandez-Aulis et al., 2019), campo eléctrico pulsado (Puértolas et al., 2013), microondas (Thuy et al., 2022) alta presión hidrostática (Corrales et al., 2009) solo por mencionar algunos, puede incrementar la eficiencia del proceso. Por lo cual, los resultados de tiempo de sonicación si se tuvo efecto significativo en la concentración de ANT (Figura 20). En el tratamiento de 120 s se encontró la mayor concentración de ANT. Dicha concentración fue similar al tiempo de extracción agitando durante 60 minutos.

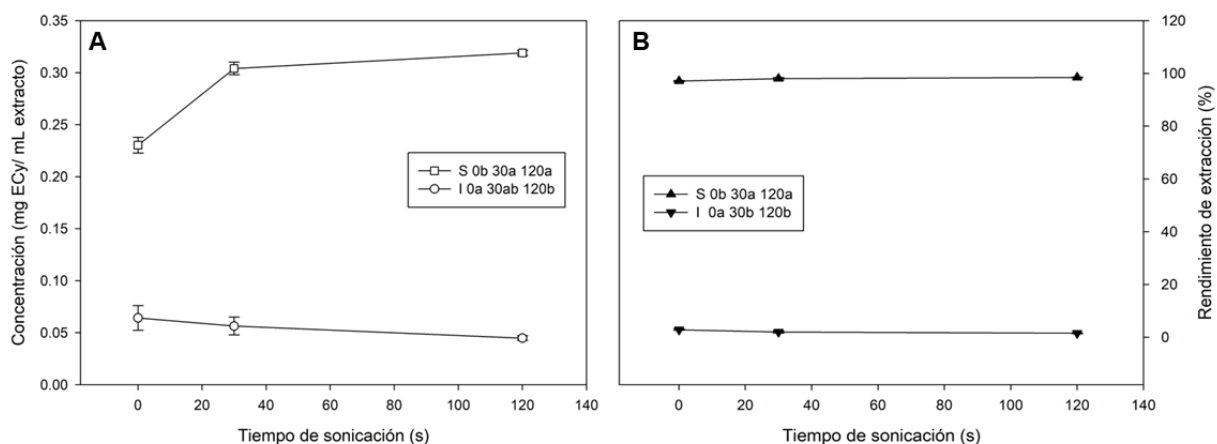


Figura 20. A: efecto de la sonicación de los sistemas en el orbital en la concentración de antocianinas. B: rendimiento de extracción de cada tiempo de sonicación. S: fase superior. I: fase inferior. Las letras minúsculas iguales en cada una de las fases indican que no hay diferencias significativas (Tukey, 0.05). Las barras de error representan desviación estándar.

3.3.11. Conclusión de condiciones de extracción

Considerando la concentración de ANT evaluados en los criterios de extracción se decidió trabajar con las poblaciones con mayor concentración de antocianinas, las cuales fueron P5 y P6. El punto de trabajo en la línea de operación principal fue el D. Además, una característica importante a mencionar es la precipitación rápida de la fase inferior que si bien no presenta mayor concentración de ANT que la fase superior este cambio complicó su análisis. Esto se debe a la pérdida de estabilidad del sistema cuando se tiene exceso de sal y etanol (Sang et al., 2018). Ooi et al. (2009), reportaron algo similar para un sistema formado por etanol y citrato de sodio, siendo un área de trabajo corto, lo cual puede deberse a la baja solubilidad del componente salino en etanol provocando un sistema poco estable.

La temperatura de trabajo ideal fue 25°C y si bien el tiempo de agitación fue significativo en el lapso de 60 minutos para acortar tiempos de extracción con el uso de sonicación, se trabajó sonicación durante 120 s, seguidos de 30 minutos de agitación a 175 rpm en el orbital y dando un tiempo de 10 minutos de reposo al sistema previo a la separación de fases. Posteriormente, se midió el volumen,

pH, fenoles solubles (FS), antocianinas totales (ANT), proantocianidinas (P), azúcares totales (AT) y flavonoides totales (FT) de cada fase.

3.3.12. Evaluación de compuestos bioactivos

Los criterios de extracción evaluados previamente y seleccionados en el sistema de extracción acuosa en dos fases para obtener la mayor concentración de antocianinas se aplicaron a las poblaciones previamente caracterizadas, para este estudio se trabajó con la población P5 y P6.

La concentración de antocianinas (Cuadro 12) extraídas en la fase superior fue estadísticamente diferente, en la población P6 se tuvo la mayor concentración además de un 97% de rendimiento de extracción, en tanto que la población P5 tuvo 96.41%. Estos rendimientos fueron superiores a lo reportado por Liu et al. (2013) en un sistema constituido por etanol y sulfato de amonio para extraer antocianinas de batatas dulces. Además, la concentración de antocianinas extraídas en los sistemas bifásicos de las poblaciones P5 y P6 fue superior a lo reportado en olote (0.005-0.008 mg/mL) cuando se utilizaron proporciones de 15, 20 y 30 mL/g volumen/peso (v/p) a 120°C (Gullón et al., 2020). El rendimiento de extracción de las poblaciones P5 y P6 exhibe el efecto positivo del uso de sonicación en el proceso de extracción, debido a que provoca el incremento de la concentración de antocianinas en la fase superior en un menor tiempo, en comparación a cuando solo se usó agitación, Gullón et al. (2020) al utilizar parámetros de extracción óptimos (120°C, 111 min a pH 2.5) obtuvo una concentración de 0.31 ± 0.08 mg/g de muestra de olote, lo cual es ligeramente mayor, no obstante, fue en un tiempo más prolongado.

La concentración de antocianinas en la fase inferior fue menor. Lo cual indica que la mayor parte de antocianinas migra a la fase superior, debido a su mayor afinidad con esta última. A medida que se avanza en la línea principal de operación (Figura 17C), el volumen de agua disminuye y se incrementa el volumen de etanol, esto genera un sistema más hidrofóbico (Mayolo-Deloisa et al., 2017). Las antocianinas experimentan un incremento en de hidrofobicidad y se desplazan a la fase etanólica (Hernández-Rodríguez, 2023).

Diversos estudios hechos en olote han reportado que las antocianinas presentes en el olote de maíz morado son cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido y sus contrapartes malonadas (de Pascual-Teresa et al., 2002; Yang & Zhai, 2010).

Similar al comportamiento de las antocianinas, el contenido de fenoles solubles expresado como ácido ferúlico en su mayoría migró a la fase superior del sistema, el rendimiento de extracción de dichos compuestos fue de 97.18% $\pm$ 0.03 y 97.38% $\pm$ 0.01 para la población P5 y P6 respectivamente. Además, Gullón et al. (2020) reportó una menor concentración de compuestos fenólicos comparado con los flavonoides totales, al aplicar diferentes relaciones de volumen/peso (15, 20 y 30 mL/g) de olote morado. La menor concentración de compuestos fenólicos fue en la relación 30 mL/g de 0.67 $\pm$ 0.01 y mayor de 1.09 $\pm$ 0.05 para 15 mL/g. este comportamiento también se pudo apreciar en la concentración de ambas poblaciones teniendo un efecto de dilución por el aumento de volumen de la fase superior. El pH del medio influye para extraer compuestos fenólicos (Gullón et al., 2020).

La concentración de proantocianidinas fue mayor en la fase superior del sistema, debido a su mayor afinidad, al igual que el resto de los polifenoles. Se tuvieron rendimientos de extracción de 99.12% $\pm$ 0.02 para la población P5 y 99.33% $\pm$ 0.02 para P6. Lo que indicó que estos compuestos migraron casi en su totalidad. En el cabello de maíz se ha reportado contenidos de proantocianidinas de 69.4 $\pm$ 6.6 mg equivalentes de leucocianidina /100 g a los 5 a 7 días después de emerger y a los 25 días de 0.25 $\pm$ 0.01 25 mg equivalentes de leucocianidina/100 g (Žilić et al., 2016), las poblaciones P5 y P6 obtuvieron una mayor concentración en la fase superior de proantocianidinas de olote de maíz morado que en el cabello de maíz morado. Pero fueron inferiores a la concentración reportado por Chen et al. (2017), quienes mencionan contenidos de proantocianidinas de 535.8 $\pm$ 24.9 mg equivalentes de catequina (EC)/g en pericarpio, en germen de 12.1 $\pm$ 0.9 mg EC/g, mientras que en grano completo de 134.9 mg EC/g. Las proantocianidinas son flavonoides oligoméricos y poliméricos, tienen efectos importantes en la

salud como lo son antiinflamatorios (Chen et al., 2017). Es indica que el olote de maíz puede ser una opción para la extracción de estos compuestos.

La concentración de los flavonoides fue mayor en la fase superior siendo significativo en la población P6. La presencia de estos compuestos en la fase inferior fue mínima para ambas poblaciones, y no hubo diferencia significativa en esta fase. Mello & Hubinger (2012), reportaron una concentración mayor de flavonoides (EQ) de propóleo verde brasileño en extractos etanólicos a diferentes pH (2, 3, 4.3, 6 y 8), siendo pH 2 a 4.3 las mejores condiciones de extracción por un lapso de 5 días. En olote morado Gullón et al. (2020) utilizaron 120°C de temperatura de extracción, agua acidificada con pH de 4.75 por 120 min, y reportaron una concentración máxima de 1.27 ± 0.04 mg de flavonoides /mL.

Además de la composición del sistema, el pH juega un papel muy importante para la extracción y estabilidad de las antocianinas. En las concentraciones evaluadas se tuvo un pH de 5.44 ± 0.0 . Liu et al. (2013) tuvieron un pH de 3.3 al extraer antocianinas con etanol (25% p/p) y sulfato de amonio (22% p/p). Qin et al. (2017) encontraron que cuando el disolvente de extracción tiene pH 5, el rendimiento disminuye ligeramente, pero a pH 6, el rendimiento disminuye considerablemente. En un sistema compuesto por etanol y citrato de sodio con una concentración 24% y 26% respectivamente, se obtuvo un pH de 8.0 a 8.3 usando agua destilada (Ooi et al., 2009), no obstante, bajo dichas condiciones de pH las antocianinas sufren degradación, por lo que el uso de citrato de sodio y ácido cítrico en el sistema ayuda a tener condiciones aptas de pH ácido, lo que protege a las antocianinas de la degradación.

Respecto a los azúcares totales, presentaron un comportamiento similar al de los polifenoles, es decir, mostraron mayor afinidad por la fase superior (Cuadro 12), lo cual era de esperarse, pues el etanol es el disolvente más utilizado en la extracción de estos (Dien et al., 2019). A diferencia de Wu et al. (2014) quienes reportaron una eliminación de más del 90% de azúcares totales con el sistema de etanol y fosfato sodio monobásico después de la segunda extracción, el sistema de este estudio (Cuadro 12) obtuvo una migración de azúcares mayor en

la fase superior con un rendimiento de extracción de 95.85% en la población P5 y 96.05% para la población P6. El sistema empleado para la extracción de ambas poblaciones presenta un mayor porcentaje de etanol y un menor porcentaje de sal (Cuadro 11). Además, esta concentración de azúcares en la fase superior pudo darse por la proporción de volumen, debido a que la fase superior tuvo mayor volumen. Hernández-Rodríguez (2023) obtuvo un rendimiento mayor de azúcares totales según la ubicación del punto en la línea de operación, esto es, mientras mayor fue el volumen de la fase superior, mayor concentración de azúcares se tuvo.

Cuadro 12. Concentración de compuestos bioactivos extraídos por ATPE de dos poblaciones de olote de maíz morado, cosechados en Juchitepec, Estado de México.

Fase superior						
Población	Antocianinas (mg ECy/mL)	Fenoles solubles (mg EAF/mL)	Proantocianidinas (mg EC/mL)	Flavonoides (mg EQ/mL)	Azúcares totales (mg EG/mL)	
P5	0.26 ± 0.00 b	3.91 ± 0.01 b	42.49 ± 0.24 b	6.55 ± 0.20 b	10.26 ± 0.17 b	±
P6	0.31 ± 0.00 a	4.02 ± 0.02 a	53.76 ± 0.60 a	7.51 ± 0.30 a	10.54 ± 0.03 a	±
Fase inferior						
P5	0.08 ± 0.00 a	0.95 ± 0.01 a	3.17 ± 0.04 a	1.50 ± 0.02 a	3.72 ± 0.03 a	±
P6	0.08 ± 0.00 a	0.92 ± 0.00 b	3.08 ± 0.08 a	1.42 ± 0.05 a	3.68 ± 0.10 a	±

Las letras iguales en la misma columna respecto a las fases indican que no hay diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Además del volumen, en un tiempo de 30 min, pH de 4.75 a 105°C y pH 7 a 112.5°C, Gullón et al. (2020) obtuvieron oligosacáridos 16 y 20.5 mg azúcar/ g de olote de olote morado respectivamente empleando los criterios de extracción óptimos, pero en condiciones de pH 4.75, 120°C y 120 min obtuvo 4.13 mg

azúcar/ g de olote de olote morado relación líquido-sólido de 15 mL/g. Comparado con la concentración de azúcares totales obtenida en el sistema de extracción acuosa en dos fases aplicado en esta investigación, la concentración de azúcares de las poblaciones P5 y P6 pudo estar relacionado con el efecto de aplicar sonicación durante el proceso de extracción ya que no se aplicaron temperaturas altas de extracción como los reportados por los autores.

Los sistemas compuestos por etanol y sal presentan una alta polaridad y una baja viscosidad, a pesar de esto, presentan incompatibilidad con algunas proteínas (Ooi et al., 2009). Algunos sistemas de extracción necesitan de algún ajuste en los parámetros para potenciar la purificación y extracción final de los compuestos. Tal como lo hizo Gullón et al. (2020) mediante la metodología de superficie de respuesta, encontró los parámetros óptimos para la extracción. Después de aplicar los parámetros óptimos de extracción reportó una concentración de compuestos fenólicos totales de 13.8 ± 1.25 mg/g de muestra, 13.5 ± 1.78 mg/g de muestra para fenoles totales.

La mayoría de los compuestos de interés migraron a la fase superior, la cual además constituye la mayor concentración de antocianinas por lo cual fue considerado como el extracto y se dispuso de su uso.

3.3.13. Evaluación del pigmento

Yogur

El yogur natural utilizado para generar la curva de pigmentación (Figura 21) presentó parámetros de color iniciales de luminosidad 66.6%, C 7.0 y ángulo de tono 178.7 °. La concentración inicial de antocianinas de los extractos utilizados para los ensayos de pigmentación fue de 39.58 ± 0.04 y 40.42 ± 0.10 mg ECy/mL para las poblaciones P5 y P6, respectivamente. Cada unidad de 20 g de yogur, del lote correspondiente, ocupó 0.44 mg de extracto para la población P5 y 0.46 mg de extracto para la población P6.

La adición gradual de extracto a la muestra del yogur generó una disminución en la luminosidad (Figura 21A) y el ángulo de tono (Figura 21B), en tanto que en C los valores fueron incrementando (Figura 21C), lo cual indicó que, a mayor cantidad del extracto en la muestra, la tonalidad se va intensificando.

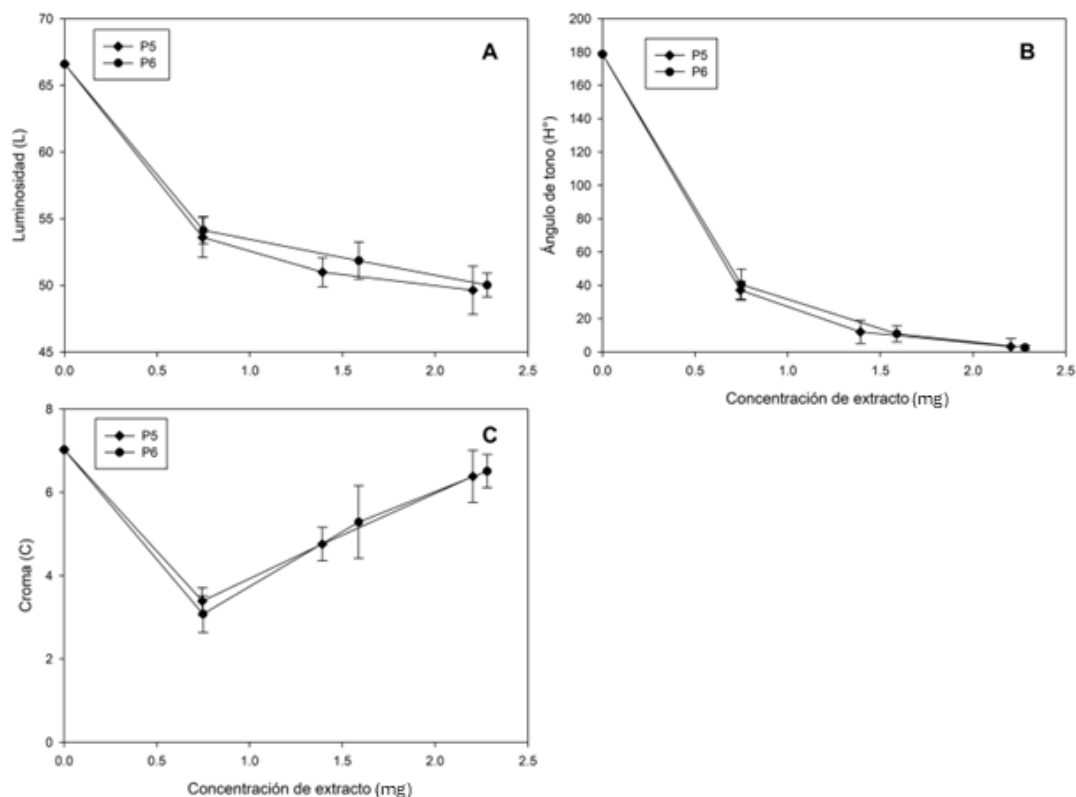


Figura 21. Ensayos de pigmentación en yogur de las poblaciones P5 y P6. A: luminosidad. B: ángulo de tono. C: índice de saturación. Las barras de error representan desviación estándar.

Visualmente el color de las muestras de yogur pigmentadas con extractos de antocianinas de olote fue similar al color de una de las marcas comerciales evaluadas (Figura 22), aunque en la medición objetiva del color se encontraron marcadas diferencias con todas las marcas evaluadas (cuadro 13).

La pureza del color del yogur pigmentado con antocianinas de olote morado fue menor al de las marcas comerciales (Cuadro 13), visualmente es menos vivo, teniendo una apariencia más diluida y con mezclas de tono rosa-lila-gris (Figura 22). La pureza del color en las marcas comerciales es más intensa, esto es por

el uso de colorantes más estables que el extracto obtenido. La adición mayor de extracto al yogur pudo incrementar esta pureza, pero, el sabor resultaría modificado.

Cuadro 13. Color en yogur comercial de sabor fresa y en yogur natural pigmentado con antocianinas extraídas de dos poblaciones de olote de maíz morado.

Marcas	L (%)	Croma	Hue (°)	pH
Lala Natural	66.6 ± 0.1 ab	7.0 ± 0.1 b	178.7 ± 0.0 a	4.0 ab
Lala	58.4 ± 0.0 d	11.5 ± 0.1 ab	22.0 ± 0.3 ab	4.0 ab
Danone	61.9 ± 0.1 cd	14.0 ± 0.0 ab	8.1 ± 0.2 b	4.2 ab
Alpura	59.9 ± 0.3 d	13.1 ± 0.3 ab	15.1 ± 1.1 ab	4.3 a
Nutrileche	64.4 ± 1.7 bc	17.5 ± 0.0 a	5.0 ± 0.3 b	4.1 ab
P5	67.4 ± 0.1 ab	7.4 ± 0.2 b	5.3 ± 0.6 b	4.0 b
P6	68.0 ± 0.1 a	7.6 ± 0.0 b	6.9 ± 0.4 b	4.0 ab

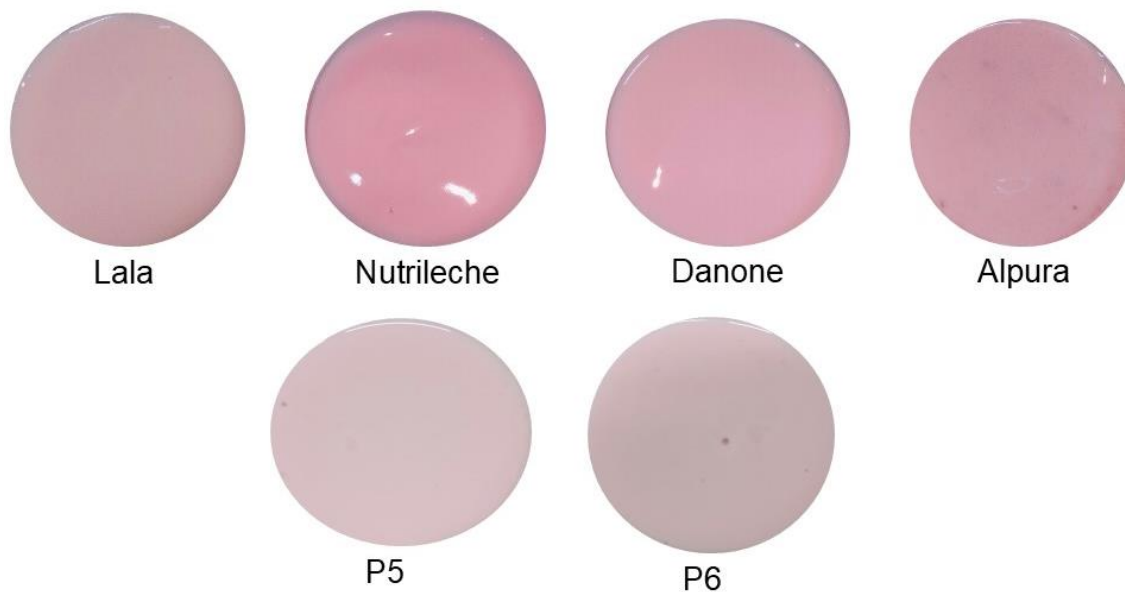


Figura 22. Yogur comercial de sabor fresa y las poblaciones P5 y P6 aplicadas.

En la evaluación de la estabilidad del color, la adición de extracto no generó cambios en el pH del yogur durante el periodo de almacenamiento (Figura 23B), sin embargo, el ángulo de tono (Figura 23D) indicó que la temperatura se debe considerar para la aplicación en esta matriz alimentaria, debido a que promueve la degradación de las antocianinas. A temperatura de refrigeración, el yogur presentó menor cambio de color que a temperatura ambiente. La luminosidad (Figura 23A) estuvo constante para ambas poblaciones durante el tiempo de análisis.

Wallace y Giusti (2008) reportaron una estabilidad de 104-125 días para yogur con antocianinas adicionadas con *B. boliviana*. El yogur contenía 20 mg equivalentes de cianidina-3-glucósido/ 100 g de yogur. Con la concentración empleada se obtuvo un yogur con valores de color similar al comercial en la región. Esto se debe a que las proteínas y grasas de la leche, pueden ser protectores de las antocianinas de la degradación cuando son expuestas al calor e incluso puede ser más resistente la peonidina-3-(6-malonilglucósido) (Jing & Giusti, 2005).

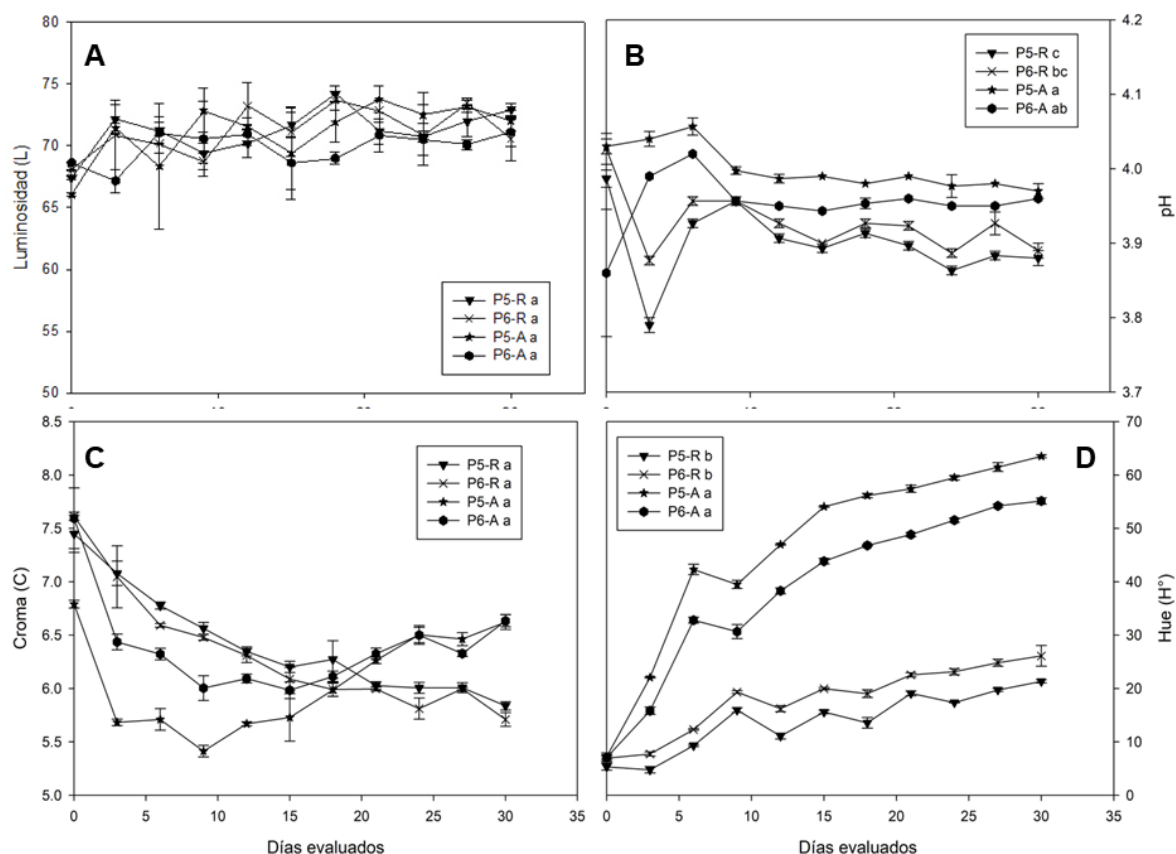


Figura 23. Comparación de las condiciones de almacenamiento de yogur pigmentado con antocianinas de las poblaciones P5 y P6 en los parámetros de color (A, C, D) y pH (B). R: temperatura de refrigeración. A: temperatura ambiente. Ambas condiciones con ausencia de luz. Las barras de error representan desviación estándar. Las letras entre paréntesis iguales indican que no hay diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Tamales

La masa utilizada para generar la curva de pigmentación (Figura 24) presentó valores en términos de luminosidad de 58.3%, C 16.5 y ángulo de tono 86.1°. La adición gradual de extracto a la porción de masa generó una disminución en el ángulo de tono y un crecimiento de C, lo cual indicó que, a mayor concentración del extracto, la tonalidad de la masa cambió de blanco-amarillo a rosa-morado. Sin embargo, al ser un extracto se consideró que la masa no estuviera demasiado hidratada para no generar problemas de manejo. Una masa excesivamente hidratada no tendrá las características ideales que caracterizan al producto final. La adición de un endulzante en la preparación de la masa incrementó el pH, esto

generó un ambiente alcalino, el cual no es el adecuado para mantener la estabilidad de las antocianinas (Castañeda-Ovando et al., 2009), además de las condiciones iniciales de la masa, ya que al ser un producto derivado de la nixtamalización con hidróxido de calcio el pH tiende a ser mayor. La concentración del extracto usado para la curva y la aplicación fue de 41.97 ± 0.21 y 38.60 ± 0.09 mg ECy/mL para las poblaciones P5 y P6 respectivamente. Para el ensayo de estabilidad, se utilizaron 2.68 mg de extracto de la población P5 y 3.13 mg de extracto de la población P6 para pigmentar 20 ± 1 g de masa para tamal dulce.

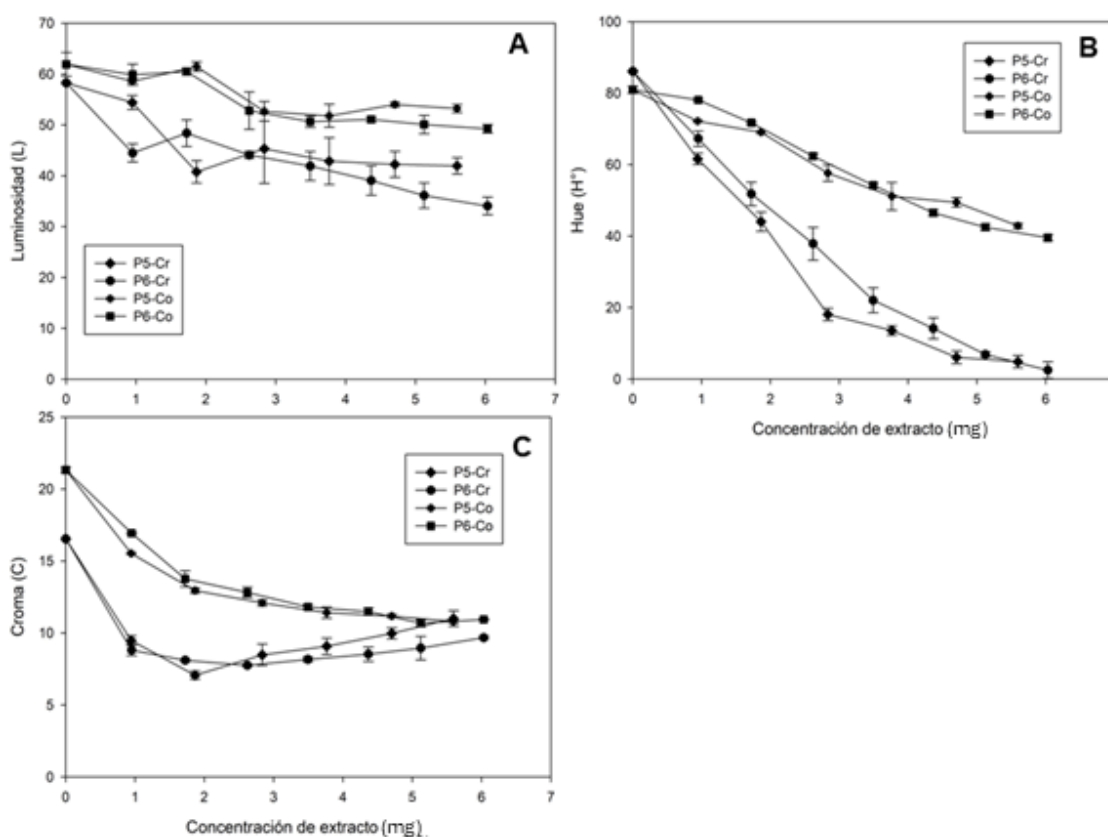


Figura 24. Curva de pigmentación de tamales con extractos de antocianinas de las poblaciones P5 y P6. A: luminosidad. B: ángulo de tono. C: croma. Cr: crudo. Co: cocido. Las barras de error representan desviación estándar.

El color de la masa antes de la cocción fue luminosidad 39.21 ± 3.52 , C 8.73 ± 0.47 y ángulo de tono 16.35 ± 0.41 para la población P5 y luminosidad 41.52 ± 3.92 , C 10.08 ± 0.065 y ángulo de tono 11.68 ± 2.17 para P6. El proceso de cocción disminuyó el color del producto (Figura 25), derivado de la degradación

de las antocianinas por la alta temperatura ($92 \pm 1^\circ\text{C}$) y el prolongado tiempo de procesamiento (70 min). Los tamales pigmentados con el extracto de la población P5 tuvieron un cambio de color de 14.29 ± 1.11 y de 11.42 ± 1.52 para P6 posterior a la cocción. Esto se debió a la temperatura de cocción que afecta la estabilidad de las antocianinas, las cuales disminuyen al ser oxidadas. A una exposición de mayor temperatura, la degradación de las antocianinas incrementa los parámetros de color (Figura 24, B y C) (Yang et al., 2008). Vernon-Carter et al. (2020) reportaron una pérdida de antocianinas hasta del 10% después del proceso de cocción de tortillas de harina nixtamalizado de maíz blanco con la adición de antocianinas. Esto indica que las antocianinas son más estables en periodos de tiempo cortos a altas temperaturas (Gullón et al., 2020).



Figura 25. Evolución del color en tamales (antes y después de ser cocinados) durante la elaboración de la curva de pigmentación con extractos de antocianinas de las poblaciones P5 y P6. En el costado izquierdo Cr: crudo y Co: cocido.

Los tamales dulces comercializados en la región de Texcoco de Mora, Estado de México presentan diversidad de color (Cuadro 14) (Figura 26). El color varió debido a la cantidad y marca de colorante (líquido o polvo: colorante vegetal rojo y gragea para tamal), usado para la elaboración de los tamales empleado por cada vendedor. Es importante mencionar que la mayoría de los vendedores que se dedican a la industria de los tamales tienen una formulación propia y diferente para preparar dicho producto. Esto implica que, aún si se usa harina de maíz nixtamalizado de venta comercial, los ingredientes y porciones agregadas suelen ser variados.

A diferencia de cuando se utilizaron los extractos de antocianinas para pigmentar yogur, en caso de los tamales, se observaron marcadas diferencias en relación a los tamales pigmentados con los extractos versus los tamales comerciales (Figura 26), lo que pone en evidencia la estabilidad de los colorantes artificiales frente a condiciones extremas de procesamiento; sin embargo, los hábitos de consumo están cambiando y se prefieren alimentos más naturales, por lo que el desarrollo de productos en donde se reemplazan colorantes artificiales por pigmentos podría ser viable si va de la mano con la educación del consumidor, es decir, poner a su disposición información que le permita conocer las ventajas de consumir pigmentos naturales.

Cuadro 14. Color en tamales de dulce comerciales en Texcoco de Mora, Estado de México y tamales pigmentados con extracto de antocianinas de las poblaciones P5 y P6.

Ubicación		L	Croma	Hue°
U-1:	El	35.05 ± 0.98 b	39.54 ± 0.50 a	20.74 ± 0.72 c
cooperativo				
U-2:	Chapingo	34.28 ± 1.81 b	32.17 ± 0.87 ab	22.22 ± 0.51 bc
U-3:	Parque	48.61 ± 1.99 a	22.98 ± 1.35 bc	36.10 ± 1.24 abc
Texcoco				
u-4:	Autobuses	41.67 ± 5.37 ab	30.01 ± 1.55 ab	17.01 ± 0.83 c
Texcoco				
	P5	52.0 ± 2.5 a	11.9 ± 0.6 c	47.6 ± 0.9 a

P6	50.7 ± 1.8 a	12.0 ± 0.3 c	45.2 ± 1.8 ab
----	------------------	------------------	-------------------

P5: negro de Ixtenco. P6: negro de Ixtenco x negro de Perú.



Figura 26. Variedad de color en tamales comercializados (U-1 – U-4) y tamales pigmentados con extractos de antocianinas de las poblaciones P5 y P6. U-1: el Cooperativo, U-2: Chapingo, U-3: parque Texcoco y U-4: autobuses Texcoco. Co: cocido.

3.4. Conclusiones

El sistema bifásico basado en etanol (49 %), citrato de sodio (8.25 %) y ácido cítrico (2.75 %) generó las mejores condiciones de extracción y recuperación de antocianinas. Sin embargo, es necesario realizar modificaciones al sistema bifásico, como disminuir el pH en la fase constituida por etanol para incrementar la extracción de los compuestos de interés.

Emplear extractos de olote como sustitutos de colorantes químicos es una opción viable para dar valor agregado a este subproducto, aunque se debe considerar

el tipo de alimento a pigmentar y la cantidad de extracto a utilizar, ya que los extractos no deben modificar el sabor del alimento.

3.5. Literatura citada

AOAC. (2000). *Methods of Analysis*. 17va. Edición. Association of Official Analytical Chemists. Washington, USA.

Ahmadiani, N., Sigurdson, G. T., Robbins, R. J., Collins, T. M., & Giusti, M. M. (2019). Solid phase fractionation techniques for segregation of red cabbage anthocyanins with different colorimetric and stability properties. *Food Research International*, 120, 688–696. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.026>.

Aguilar-Hernández, Á. D., Salinas-Moreno, Y., Ramírez-Díaz, J. L., Alemán-de la Torre, I., Bautista-Ramírez, E., & Flores-López, H. E. (2019). Antocianinas y color en grano y olote de maíz morado peruano cultivado en Jalisco, México. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 10(5), 1071–1082. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i5.1828>.

Arapitsas, P., & Turner, C. (2008). Pressurized solvent extraction and monolithic column-HPLC/DAD analysis of anthocyanins in red cabbage. *Talanta*, 74 5, 1218-23. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.08.029>.

Cardona, M. G., Sorza, J. D., Posada, S. L., Carmona, J. C., Ayala, S. A., & Álvarez, O. L. (2002). Establecimiento de una base de datos para la elaboración de tablas de contenido nutricional de alimentos para animales. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 15(2), 240–246.

Castorina, G., Cappa, C., Negrini, N., Criscuoli, F., Casiraghi, M. C., Marti, A., Rollini, M., Consonni, G., & Erba, D. (2023). Characterization and nutritional valorization of agricultural waste corncobs from Italian maize landraces through the growth of medicinal mushrooms. *Scientific Reports*, 13(1), 21148. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-48252-9>.

- Cázares-Sánchez, E., Chávez-Servia, J. L., Salinas-Moreno, Y., Castillo-González, F., & Ramírez-Vallejo, P. (2015). Variación en la composición del grano entre poblaciones de maíz (*Zea mays* L.) nativas de Yucatán, México. *Agrociencia*, 49(1), 15–30.
- Chen, C., Somavat, P., Singh, V., & Gonzalez-De Mejia, E. (2017). Chemical characterization of proanthocyanidins in purple, blue, and red maize coproducts from different milling processes and their anti-inflammatory properties. *Industrial Crops and Products*, 109, 464–475. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.046>.
- Colombo, R., Ferron, L., & Papetti, A. (2021). Colored corn: an up-date on metabolites extraction, health implication, and potential use. *Molecules*, 26(1). <https://doi.org/10.3390/molecules26010199>.
- Córdoba, J. A., Salcedo, E., Rodríguez, R., Zamora, J. F., Manríquez, R., Contreras, H., Robledo, J., & Delgado, E. (2013). Caracterización y valoración química del olote: Degradación hidrotérmica bajo condiciones subcríticas. *Revista latinoamericana de química*, 41(3), 171–184.
- Corrales, M., García, A., Butz, P., & Tauscher, B. (2009). Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 415–421. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.003>.
- Dien, D. C., Mochizuki, T., & Yamakawa, T. (2019). Effect of various drought stresses and subsequent recovery on proline, total soluble sugar and starch metabolisms in Rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Plant Production Science*, 22(4), 530–545. <https://doi.org/10.1080/1343943X.2019.1647787>.
- DuBois, Michel., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, Fred. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.

- de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2002). LC–MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(9), 1003–1006. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1143>.
- Fernandez-Aulis, F., Hernandez-Vazquez, L., Aguilar-Osorio, G., Arrieta-Baez, D., & Navarro-Ocana, A. (2019). Extraction and identification of anthocyanins in corn cob and corn husk from cacahuacintle maize. *Journal of Food Science*, 84(5), 954–962. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14589>.
- Francavilla, A., & Joye, I. J. (2020). Anthocyanins in whole grain cereals and their potential effect on health. *Nutrients*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/nu12102922>.
- Forney, C. F., Kalt, W., Jordan, J. A., Vinqvist-Tymchuk, M. R., & Fillmore, S. A. E. (2012). Compositional changes in blueberry and cranberry fruit during ripening. *Acta Horticulturae*, (926), 331–337. doi:10.17660/actahortic.2012.926.46.
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Soto-Hernández, R. M., Guerra-Ramírez, D., Zuleta-Prada, H., Martínez-Damián, M. T., & Ramírez-Valencia, Y. D. (2021). Separation of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) betaxanthins, betacyanins, and soluble phenols through multistage aqueous two-phase systems. *Food and Bioprocess Technology*, 14(10), 1791–1804. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02676-1>.
- Gomes, J., Ferreira, S., Reinert, O., Gandol, R., Ayra, L., Santos, V., et al. (2017). Fluid phase equilibria evaluation of salting-out effect in the liquid e liquid equilibrium of aqueous two-phase systems composed of 2-propanol and na 2 so 4 / mgso 4 at different temperatures. *Fluid Phase Equilibria*, 450, 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2017.08.001>.
- Gutiérrez-Llanos, M., Alemán-de la Torre, I., Salinas-Moreno, Y., Santillán-Fernández, A., Ramírez-Díaz, J. L., Ledesma-Miramontes, A. (2023). Color y características nutraceuticas de tortillas de maíces (*Zea mays* L.) nativos

- preparadas con diferentes dosis de álcali y refrigeradas. *Revista fitotecnica mexicana*, 46(2), 115–126. <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.2.115>.
- Gullón, P., Eibes, G., Lorenzo, J. M., Pérez-Rodríguez, N., Lú-Chau, T. A., & Gullón, B. (2020). Green sustainable process to revalorize purple corn cobs within a biorefinery fotograma: Co-production of bioactive extracts. *Science of The Total Environment*, 709, 136236. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136236>.
- Hao, R., Zhang, H., Feng, Y., Yang, D., Zhao, Z., & Zhao, S. (2022). The effect of different solvents and acidifying reagents on the anthocyanin profiles and antioxidant capacity of purple corn. *Chemical Papers*, 76(8), 4691–4704. <https://doi.org/10.1007/s11696-022-02195-z>.
- Hernández-Rodríguez, G. (2023). *Proceso de fermentación y aprovechamiento de antocianinas de frutos de Ardisia compressa Kunt.* (Tesis Doctoral, Texcoco de Mora, México: Programa de Posgrado en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua, Universidad Autónoma Chapingo). Consultado en <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/52904754-122b-4288-92db-d2da34b64df6>.
- Jeong, J., Park, H.-J., Kim, B.-H., & Kim, S.-S. (2015). Effects of extraction time on the quality characteristics of purple corn cob extract. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 58(4), 339–344. <https://doi.org/10.3839/jabc.2015.053>.
- Jing, P., & Giusti, M. M. (2005). Characterization of anthocyanin-rich waste from purple corncobs (*Zea mays* L.) and its application to color milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8775–8781. <https://doi.org/10.1021/jf051247o>.
- Jing, P., Noriega, V., Schwartz, S. J., & Giusti, M. M. (2007). Effects of growing conditions on purple corncob (*Zea mays* L.) anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8625–8629. <https://doi.org/10.1021/jf070755q>.

- Jiménez-Velázquez, P., Valle-Guadarrama, S., Alia-Tejacal, I., Salinas-Moreno, Y., García-Cruz, L., Pérez-López, A., & Guerra-Ramírez, D. (2020). Separation of bioactive compounds from epicarp of 'Hass' avocado fruit through aqueous two-phase systems. *Food and Bioproducts Processing*, 123, 238–250. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.07.004>.
- Khamphan, P., Lomthaisong, K., Harakotr, B., Ketthaisong, D., Scott, M. P., Lertrat, K., & Suriharn, B. (2018). Genotypic variation in anthocyanins, phenolic compounds, and antioxidant activity in cob and husk of purple field corn. *Agronomy*, 8(11). <https://doi.org/10.3390/agronomy8110271>.
- Kubola, J. & Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry*, 127(3), 1138–1145. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.115>.
- Lee, J., Robert, W. D., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269–1278.
- Liu, X., Mu, T., Sun, H., Zhang, M., & Chen, J. (2013). Optimisation of aqueous two-phase extraction of anthocyanins from purple sweet potatoes by response surface methodology. *Food Chemistry*, 141(3), 3034–3041. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.119>.
- Liaqid, A., Guerrero, R. F., Cantos, E., Palma, M., & Barroso, C. G. (2011). Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins. *Food Chemistry*, 124(3), 1238–1243. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.053>.
- Mayolo-Deloisa, K., Benavides, J., & Rito-Palomares, M. (2017). General Concepts and Definitions of Aqueous Two-Phase Systems. In M. Rito-Palomares & J. Benavides (Eds.), *Aqueous Two-Phase Systems for Bioprocess Development for the Recovery of Biological Products* (pp. 1–

18). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-59309-8_1.

Medina-Hoyos, A., Narro-León, L. A., Chávez-Cabrera, A. (2020). Cultivo de maíz morado (*Zea mays* L.) en zona altoandina de Perú: Adaptación e identificación de cultivares de alto rendimiento y contenido de antocianina. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 291–299. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.01>.

Mendoza-Mendoza, C. G., Soto-Hernández, R. M., Mendoza-Castillo, M. del C., Delgado-Alvarado, A., & Sánchez-Ramírez, F. J. (2023). Foods and beverages made from Mexican Purple Corn: A means to increase anthocyanins' intake. *Functional Foods in Health and Disease*, 13(11), 632–647. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v13i11.1194>.

Mendoza-Mendoza, C. G., Mendoza-Castillo, M. D. C., Delgado-Alvarado, A., Sánchez-Ramírez, F. J., & Kato-Yamakake, T. Á. (2020). Anthocyanins content in the kernel and corncob of Mexican purple corn populations.

Mendoza-Mendoza, C. G., del Carmen Mendoza-Castillo, M., Delgado-Alvarado, A., Castillo-González, F., Kato-Yamakake, T. Á., & Cruz-Izquierdo, S. (2017). Antocianinas totales y parámetros de color en líneas de maíz morado. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 40(4), 471–479.

Merchuk, J. C., Andrews, B. A. & Asenjo, J. A. (1998). Aqueous two-phase systems for protein separation: Studies on phase inversion. (1998). *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 711(1–2), 285–293. [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(97\)00594-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(97)00594-X).

Mello, B. C. B. S., & Hubinger, M. D. (2012). Antioxidant activity and polyphenol contents in Brazilian green propolis extracts prepared with the use of ethanol and water as solvents in different pH values. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(12), 2510–2518. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03129.x>.

- Monrad, J. K., Howard, L. R., King, J. W., Srinivas, K., & Mauromoustakos, A. (2010). Subcritical solvent extraction of anthocyanins from dried red grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(5), 2862–2868. <https://doi.org/10.1021/jf904087n>.
- Moreira, R., Chenlo, F., Arufe, S., & Rubinos, S. N. (2015). Physicochemical characterization of white, yellow and purple maize flours and rheological characterization of their doughs. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 7954–7963. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1953-6>.
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *Hortscience*, 27(12), 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/hortsci.27.12.1254>.
- Ooi, C. W., Tey, B. T., Hii, S. L., Kamal, S. M. M., Lan, J. C. W., Ariff, A., & Ling, T. C. (2009). Purification of lipase derived from *Burkholderia pseudomallei* with alcohol/salt-based aqueous two-phase systems. *Process Biochemistry*, 44(10), 1083–1087. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.05.008>.
- Pangestu, N. P., Miyagusuku-Cruzado, G., & Giusti, M. M. (2020). Copigmentation with chlorogenic and ferulic acid affected color and anthocyanin stability in model beverages colored with *Sambucus peruviana*, *Sambucus nigra*, and *Daucus carota* during storage. *Foods*, 9(10), 1476. <https://doi.org/10.3390/foods9101476>.
- Pereira, R. N., Coelho, M. I., Genisheva, Z., Fernandes, J. M., Vicente, A. A., Pintado, M. E., & Teixeira, e J. A. (2020). Using Ohmic Heating effect on grape skins as a pretreatment for anthocyanins extraction. *Food and Bioproducts Processing*, 124, 320–328. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.09.009>.
- Pratheep, V. G., Priyanka, E. B., Thangavel, S., Gousanal, J. J., Antony, P. B., & Kavin, E. D. (2021). Investigation and analysis of corn cob, coir pith with wood plastic composites. *Materials Today: Proceedings*, 45, 549–555. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.02.288>.

- Puértolas, E., Cregenzán, O., Luengo, E., Álvarez, I., & Raso, J. (2013). Pulsed-electric-field-assisted extraction of anthocyanins from purple-fleshed potato. *Food chemistry*, 136 3-4, 1330-6. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.080>.
- Quispe-Jacobo, F., Arroyo-Condorena, K., & Gorriti-Gutiérrez, A. (2011). Características morfológicas y químicas de 3 cultivares de maíz morado (*Zea mays* L.) en Arequipa—Perú. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 77(3), 205–217.
- R Core Team (2023). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rabanal-Atalaya, M. R., & Medina-Hoyos, A. (2022). Estudio comparativo de las características agronómicas y químicas de tres cultivares de maíz morado en Perú. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(6). <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i6.3019>.
- Raja, S., Murty, V. R., Thivaharan, V., Rajasekar, V., & Ramesh, V. (2011). Aqueous two phase systems for the recovery of biomolecules – a review. *Science and Technology*, 1(1), 7–16. <https://doi.org/10.5923/j.scit.20110101.02>.
- Ranilla, L. G., Rios-Gonzales, B. A., Ramírez-Pinto, M. F., Fuentealba, C., Pedreschi, R., & Shetty, K. (2021). Primary and phenolic metabolites analyses, in vitro health-relevant bioactivity and physical characteristics of purple corn (*Zea mays* L.) grown at two andean geographical locations. *Metabolites*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/metabo11110722>.
- Ratha, J., Yongram, C., Panyatip, P., Powijitkul, P., Siriparu, P., Datham, S., Priprem, A., Srisongkram, T., & Puthongking, P. (2023). Polyphenol and tryptophan contents of purple corn (*Zea mays* L.) variety kno and butterfly pea (*Clitoria ternatea*) aqueous extracts: insights into phytochemical

- profiles with antioxidant activities and PCA analysis. *Plants*, 12. <https://doi.org/10.3390/plants12030603>.
- Requis-Varillas, F. V. (2012). Manejo agronómico del maíz morado en los valles interandinos del Perú. Instituto Nacional de Innovación Agraria. Folleto;n. 1 - 2012. <https://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/151>
- Rodríguez-Herrera, V. V., García-Cruz, L., & Valle-Guadarrama, S. (2023). Aqueous two-phase extraction: A non-thermal technique to separate and concentrate betalains from *Bougainvillea glabra* Choisy bracts. *Industrial Crops and Products*, 193, 116245. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116245>.
- Rodríguez-Salazar, N., & Valle-Guadarrama, S. (2020). Separation of phenolic compounds from roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyces with aqueous two-phase extraction based on sodium citrate and polyethylene glycol or acetone. *Separation Science and Technology (Philadelphia)*, 55(13), 2313–2324. <https://doi.org/10.1080/01496395.2019.1634730>.
- Rodríguez-Salinas, P. A., Zavala-García, F., Urías-Orona, V., Muy-Rangel, D., Heredia, J. B., & Niño-Medina, G. (2020). Chromatic, nutritional and nutraceutical properties of pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 45(1), 95–112. <https://doi.org/10.1007/s13369-019-04086-0>.
- Rojas-Molina, I., Nieves-Hernandez, M. G., Gutierrez-Cortez, E., Barrón-García, O. Y., Gaytán-Martínez, M., & Rodriguez-Garcia, M. E. (2024). Physicochemical changes in starch during the conversion of corn to tortilla in the traditional nixtamalization process associated with RS2. *Food Chemistry*, 439, 138088. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138088>.
- Rodríguez-Miranda, J., Carlos-Isidro, A., Martínez-Sánchez, C. E., Herman-Lara, E., Torruco-Uco, J. G., Santiago-Adame, R., & Hernández-Santos, B. (2022). Phytochemical screening, polyphenols content and antioxidant activity of by-products of two corn variety. *Emirates Journal of Food and*

Agriculture, 35(10), 806–814.
<https://doi.org/10.9755/ejfa.2022.v34.i10.2930>.

Safařík, I. V. O., & Šantrůčková, H. (1992). Direct determination of total soil carbohydrate content. *Plant and Soil*, 143(1), 109–114.
<https://doi.org/10.1007/BF00009135>.

Salinas–Moreno, Y, Salas–Sánchez, G, Rubio–Hernández, D., & Ramos–Lobato, N. (2005). Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels, *Journal of Chromatographic Science*, Volume 43:483–487,
<https://doi.org/10.1093/chromsci/43.9.483>.

Salinas-Moreno, Y., Cruz-Chávez, F. J., Díaz-Ortiz, S. A., & Castillo-González, F. (2012). Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. *Revista fitotecnica mexicana*, 35(1), 33–41.

Sandate-Flores, L., Rodríguez-Rodríguez, J., Velázquez, G., Mayolo-Deloisa, K., Rito-Palomares, M., Torres, J.A. & Parra-Saldívar, R. (2020). Low-sugar content betaxanthins extracts from yellow pitaya (*Stenocereus pruinosus*). *Food and Bioproducts Processing*, 121, 178–185.
<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.02.006>.

Samatha, T., Shyamsundarachary, R., Srinivas, P., & Swamy, N. R. (2012). Quantification of total phenolic and total flavonoid contents in extracts of *Oroxylum indicum* L. Kurz. *Asian J Pharm Clin Res*, 5(4), 177–179.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
<https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>.

Sun, X., Lu, H., & Wang, J. (2017). Recovery of citric acid from fermented liquid by bipolar membrane electrodialysis. *Journal of Cleaner Production*, 143, 250-256. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2016.12.118>.

- Takada, M., Niu, R., Minami, E., & Saka, S. (2018). Characterization of three tissue fractions in corn (*Zea mays*) cob. *Biomass and Bioenergy*, 115, 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.04.023>.
- Tena, N., & Asuero, A. G. (2022). Up-to-date analysis of the extraction methods for anthocyanins: principles of the techniques, optimization, technical progress, and industrial application. *Antioxidants*, 11(2), 286. <https://doi.org/10.3390/antiox11020286>.
- Thuy, N. M., Han, D. H. N., Minh, V. Q., & Tai, N. V. (2022). Effect of extraction methods and temperature preservation on total anthocyanins compounds of *Peristrophe bivalvis* L. Merr leaf. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 10(2), 146–153. <https://doi.org/10.7324/JABB.2022.100218>.
- Ursu, M. S., Aprodu, I., Milea, Ș. A., Enachi, E., Râpeanu, G., Bahrim, G. E., & Stănciuc, N. (2020). Thermal degradation kinetics of anthocyanins extracted from purple maize flour extract and the effect of heating on selected biological functionality. *Foods*, 9(11). <https://doi.org/10.3390/foods9111593>.
- Vernon-Carter, E. J., Alvarez-Ramirez, J., Bello-Perez, L. A., Gonzalez, M., Reyes, I., & Alvarez-Poblano, L. (2020). Supplementing white maize masa with anthocyanins: Effects on masa rheology and on the in vitro digestibility and hardness of tortillas. *Journal of Cereal Science*, 91, 102883. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102883>.
- Wallace, T. c., & Giusti, M. m. (2008). Determination of color, pigment, and phenolic stability in yogurt systems colored with nonacylated anthocyanins from *Berberis boliviana* L. as compared to other natural/synthetic colorants. *Journal of Food Science*, 73(4), C241–C248. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00706.x>.
- Xu, B., & Chang, S. K. C. (2008). Total phenolics, phenolic acids, isoflavones, and anthocyanins and antioxidant properties of yellow and black soybeans as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food*

- Chemistry*, 56(16), 7165–7175. <https://doi.org/10.1021/jf8012234>.
- Yang, Z., Han, Y., Gu, Z., Fan, G., & Chen, Z. (2008). Thermal degradation kinetics of aqueous anthocyanins and visual color of purple corn (*Zea mays* L.) cob. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 341-347. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2007.09.001>.
- Yang, Z., & Zhai, W. (2010). Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 169-176. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2009.08.012>.
- Zhang, X., Zhao, Y., Li, B., Guo, M., Lv, J., & Wei, Y. (2022). Comparison of three extraction methods for anthocyanins from perilla frutescens leaves. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 29, 100817. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100817>.
- Žilić, S., Janković, M., Basić, Z., Vančetović, J., & Maksimović, V. (2016). Antioxidant activity, phenolic profile, chlorophyll and mineral matter content of corn silk (*Zea mays* L): Comparison with medicinal herbs. *Journal of Cereal Science*, 69, 363–370. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.05.003>

4. CONCLUSIONES GENERALES

El proceso de molienda de las cuatro poblaciones iniciales empleando un molino tipo de martillos y tamiz malla No. 40, se obtuvieron partículas de todas las estructuras del olote, sin embargo, aún quedó un mínimo residuo por lo cual es necesario atender los métodos de reducción de muestra que sean más favorables.

Las poblaciones de estudio iniciales cosechadas en la región de Juchitepec, estado de México, fueron caracterizadas, obteniendo solo dos poblaciones con mayor concentración de antocianinas.

El sistema constituido por etanol, citrato de sodio y ácido cítrico permitió las condiciones necesarias para la extracción de compuestos bioactivos de interés. El uso de etanol es ideal por la recuperación de dichos compuestos que migran a la fase superior. Sin embargo, es necesario realizar ajustes al sistema bifásico, tales como disminuir el pH en la fase constituida por etanol para incrementar la extracción de los compuestos de interés. Además, es necesario realizar estudios HPLC para determinar el tipo de antocianina y pureza que se obtuvo en la fase etanólica del sistema.

También, se debe construir la matriz alimentaria bajo condiciones conocidas, con procedimientos que se realicen popularmente y que ya son aceptados por el consumidor, ya que incluso en la misma región se presentan variantes en la preparación.

Se debe asegurar la inocuidad del extracto con análisis microbiológicos y de presencia de aflatoxinas, además de estudiar el proceso metabólico y la tasa de liberación de una matriz alimentaria cuando es consumido.