



CONTROL DE CALIDAD DE MAÍZ MORADO (ZEA MAYS L. -POACEAE-, RAZA "CULLI"): ESTUDIO FARMACOBOTÁNICO, ANÁLISIS DE ANTOCIANOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Blga. \$andra Juliana Carmona Córdova

Director de tesis: Dr. Rafael Alejandro Ricco Co-director de tesis: Dra. Beatriz Graciela Varela Cátedra de Farmacobotánica

Buenos Aires, Agosto 2016

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ORIGEN E HISTORIA DE ZEA MAYS "MAÍZ" L.

- El maíz es una planta de origen americano. Fue cultivada en América precolombina por las civilizaciones Azteca, Maya e Inca, siendo su principal fuente alimenticia.
- Se estima que su domesticación data de hace unos 7000 años.
- La hipótesis más aceptada sobre el origen del maíz postula que este se habría originado en México, siendo el "teosinte" (nombre común del genero Zea) el antecesor silvestre del maíz.



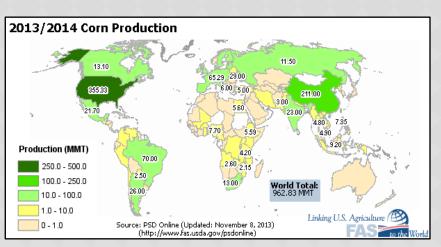


Fotografía comparativa entre el teosinte y el maíz

- Las tribus indígenas de América Central y México llevaron esta planta a otras regiones de América Latina y al Caribe, después a Estados Unidos de América y Canadá.
- Luego de la conquista de América, fue introducido a Europa a través de España, posteriormente fue llevado a Asia y África por comerciantes.
- Actualmente es el cereal de mayor producción en el mundo.



Distribución del cultivo del Maíz en América Precolombina



Producción del maíz en la actualidad

EL MAÍZ MORADO

1.2. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Subfamilia: Panicoideae

Tribu: Maydeae

Género: Zea

Especie: Zea mays L.

Raza: "Culli"



1.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

 Granos: cada uno de los granos se encuentra en un cáliz cascareo (gluma), dispuestos en el marlo en hileras dobles. Presentan intensa coloración violeta del pericarpio.



 Marlo: provee el soporte para los granos, presenta una intensa coloración violeta y consistencia bastante dura.





1.4. HÁBITAT

- El "maíz morado" crece entre los 500 a 4000 m.s.n.m., en suelos profundos que no acumulen mucha humedad, ya que afecta la acumulación de pigmentos en la mazorca. Puede adaptarse a distintos climas y zonas geográficas.
- A pesar de ser originario de las regiones altiplánicas del Perú, Bolivia y Argentina, es cultivado en distintas partes del mundo, como China, Brasil y México entre otros países europeos.

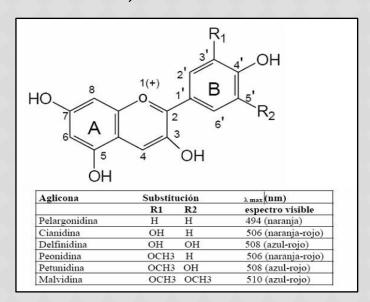
1.5. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MAÍZ MORADO (ZEA MAYS L.)

MAIZ MORADO * (100 gr)	
Energía	355 Kcal/1487 Kj
Agua	11,4 gr
Proteínas	7,30 g
Grasa total	3,4 g
Carbohidratos totales	76,2 g
Carbohidratos disponibles	76,2 g
Fibra cruda	1,8 g
Cenizas	1,7 g
Calcio	12 mg
Fósforo	328 mg
Hierro	0,20 mg
Retinol	8,00 ug
Tiamina B1	0,38 mg
Riboflavina B2	0,22 mg
Niacina B3	2,84 mg
Vit. C	2,10 mg

Tabla N°1: Composición nutricional del "maíz morado"

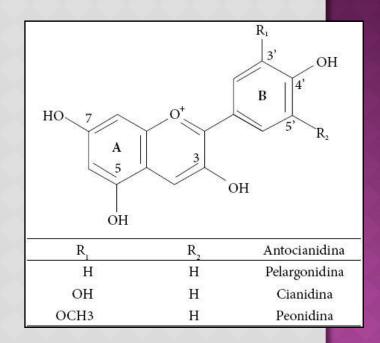
Antocianos o Antocianinas

- Son los pigmentos hidrosolubles, de naturaleza fenólica más importantes. Su espectro de colores va desde el naranja-rojizo hasta el azul-violáceo, con el aumento del pH.
- Otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos.
- El núcleo de la antocianidina es una estructura de 15 de carbonos (C5-C3-C5) de dos anillos aromáticos (anillos A y B) unidas por un tercer anillo (anillo C).
- Sus funciones en los órganos vegetales son la de amortiguar el daño por radiación UV y la captación de radicales libres actuando como agentes antioxidantes, entre otros.



Antocianos del "maíz morado"

- Son los principales compuestos presentes en el "maíz morado".
- Se encuentran en el tallo, vaina, hojas e inflorescencias; en las brácteas y en el mazorca (marlo y grano).
- En el "maíz morado" se han caracterizado las siguientes antocianinas:cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido,peonidina-3-glucósido y sus respectivos homólogos malonados.



Otros polifenoles presentes en el "maíz morado"

- > Flavonoides: compuestos fenólicos polihidroxilados, con una estructura C6-C3-C6.
- > Se clasifican según la estructura del anillo C3 e incluyen a las flavonas, los flavonoles, las flavanonas, las catequinas, las antocianidinas y las isoflavonas, entre otros.

Flavonoides del "maíz morado"

Hesperidina

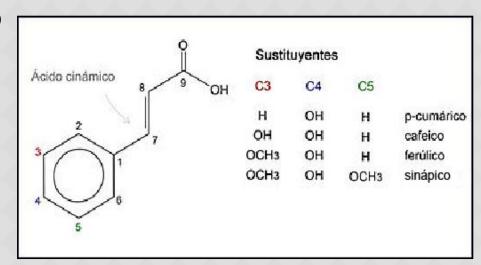
Quercetina

Otros polifenoles presentes en el "maíz morado"

- > Ácidos hidroxicinámicos: constituidos por un anillo aromático unido a una cadena lateral de tres átomos de carbono, derivan del aminoácido aromático fenilalanina.
- Los más comunes en la naturaleza son: ferúlico, sinápico, cafeico y p-cumárico.

Derivados hidroxicinámicos del "maíz morado"

- ácido p-cumárico
- > ácido cafeico
- > ácido ferúlico



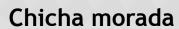
1.6. USOS DEL MAÍZ MORADO (ZEA MAYS L.)



Usos alimenticios



Api



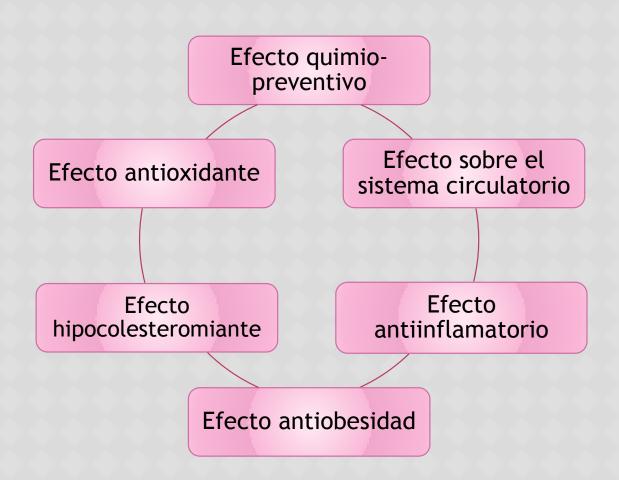


Mazamorra morada



Tortilla de maíz morado

Usos medicinales



Efecto quimiopreventivo

• Inhibición de la carcinogénesis por acción de la cianidina-3-glucósido (C-3-G) y la pelargodina-3-glucósido.

Efecto sobre el sist. circulatorio

 La C-3-G induce la expresión de la oxido nítrico sintasa endotelial (eNos), favoreciendo la regulación de la función vascular.

Efecto antiinflamatorio

 Bloquea los mecanismos proinflamatorios mediados por la IL-6 y IL-8

Efecto antiobesidad

 Regula los niveles de adiponectina, hormona que se encuentra disminuida en los casos de obesidad.

Efecto hipocolesteromiante

- Disminuye los niveles de colesterol total, triglicéridos, y disminución de formaciones aretomatosas.
- Aumenta el nivel de colesterol HDL.

Efecto antioxidante

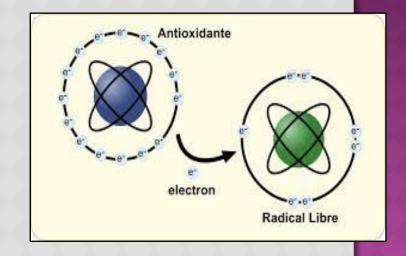
 Relacionado con los diversos compuestos polifenólicos que actúan frente a los radicales libres.

Usos etnomedicinales

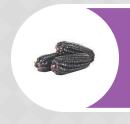
- En Cuba y Haití, los granos molidos son utilizados como cataplasmas para golpes, torceduras y fracturas.
- En Filipinas para el tratamiento de edemas en el embarazo.
- En Taiwán se utiliza para el tratamiento de la hepatitis.
- En Trinidad y Tobago, los granos son usadas como antidiarreicas, analgésicas, antisépticas y diuréticas.
- Otras alteraciones tratadas tales como dismenorrea y cólicos menstruales, para los cuales se toma infusión de estigmas de "maíz morado" y ramas de "Chenopodium ambrosioides".

1.8. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

- Es un mecanismo de defensa contra los agentes oxidantes (radical hidroxilo, radical peróxido, anión superóxido, oxígeno singulete, etc), causantes de enfermedades relacionadas al envejecimiento y al daño oxidativo de las células.
- El "maíz morado" es una buena fuente de antioxidantes naturales, tales como: vitaminas, antocianos y otros compuestos fenólicos.



2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN



2.1. OBJETIVO GENERAL



Estudio farmacobotánico



Análisis fitoquímico



Estudio de la actividad biológica

2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Establecer los parámetros farmacobotánicos para el control de calidad de muestras vegetales

Análisis de los polifenoles

Cuantificación de fenoles totales

Cuantificación de los antocianos

Obtención de perfil de antocianos

Determinar la actividad antioxidante

Presencia de antocianos como parámetro de control de calidad en productos industrializados

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL

Muestras vegetales



Muestras de "maíz morado"

Muestras industrializadas



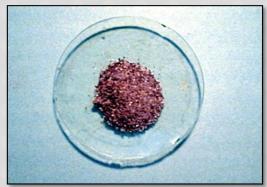
M°8: "Chicha morada"



M°9: Chips de "maíz morado"



M°10: Mezcla para preparar "mazamorra morada"



M°11 y 12: Mezclas para preparar "chicha morada"

3.2. ANALISIS FARMACOBOTÁNICO

- Análisis macroscópico:
 - Descripción de las muestras y determinación de materia extraña.
- Análisis microscópico:
 - Obtención de disociados leves y disociados fuertes.
 - Obtención de cortes histológicos.
- Test de viabilidad de semillas
 - Incubación con 2,3,5- trifenil tetrazolio a 37°C.

3.3. ANALISIS FITOQUÍMICO

5 gr de material + 50 ml de agua destilada



Ebullición x 30 min



Filtrado (Ext. Acuoso)



5 gr de material + 50 ml de etanol 50%



Extracción x 48 h a temp. amb.



Filtrado (Ext. Etanólico)



5 gr de material + 50 ml de metanol absoluto



Extracción x 48 h a temp. amb.



Filtrado (Ext. Metanólico)



Cuantificación de polifenoles

- Cuantificación de fenoles totales: método Folin-Ciocalteu.
- Cuantificación de antocianos: técnica de espectroscopia con pH diferencial.

Estudio de los antocianos

- Perfil de antocianos: TLC en silica gel y fase móvil de acetato de etilo-ácido acético-acido fórmico-agua (100:11:11:26).
- Identificación de las antocianidinas: TLC en celulosa y fase móvil ácido acético-ácido clorhídrico-agua "Forestal" (30:3:10).





Aislamiento y purificación



Determinación de los valores de Rf



Espectro UVvisible

Evaluación de la actividad antioxidante

Ensayo del DPPH

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis Farmacobotánico

- > Análisis macroscópico
 - Muestras Vegetales

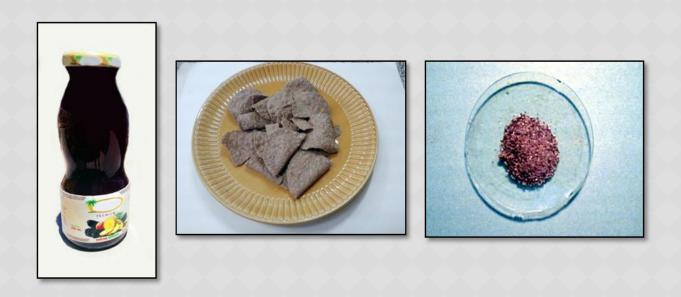


Choclo entero y granos de "maíz morado"



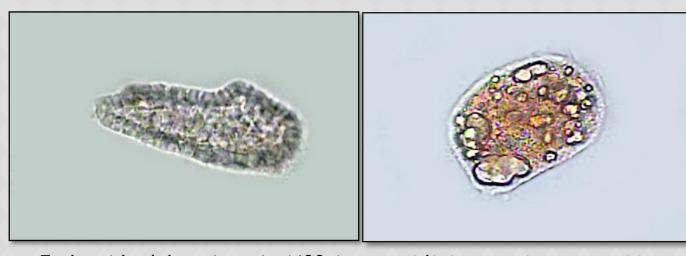
Grano de "maíz morado"

- > Análisis macroscópico
 - > Muestras industrializadas



Presentación de las muestras: líquido, "chips" y polvo.

- > Análisis microscópico
 - > Muestras Vegetales: Grano

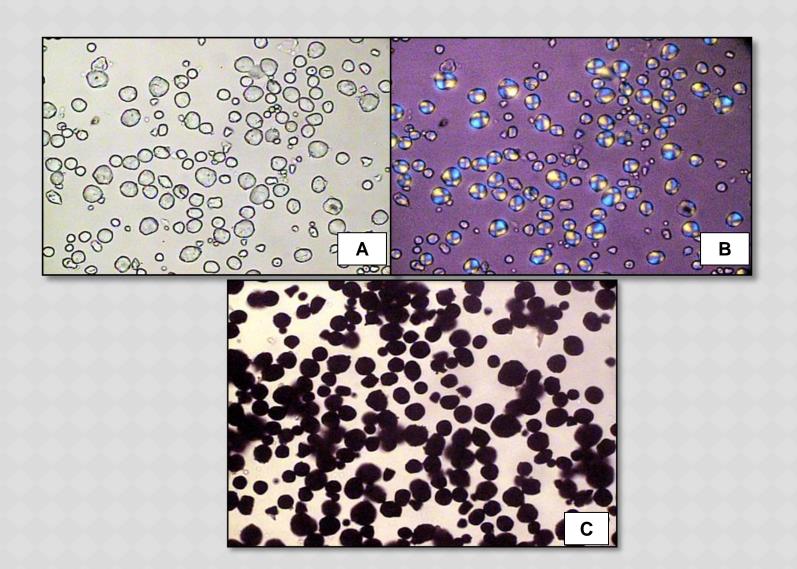


Esclereida del pericarpio (400x)

Célula con aleurona (400x)

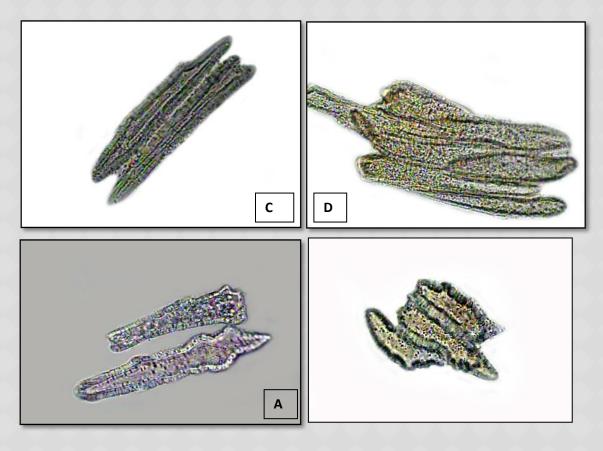


Tricomas eglandulares unicelulares (100x)

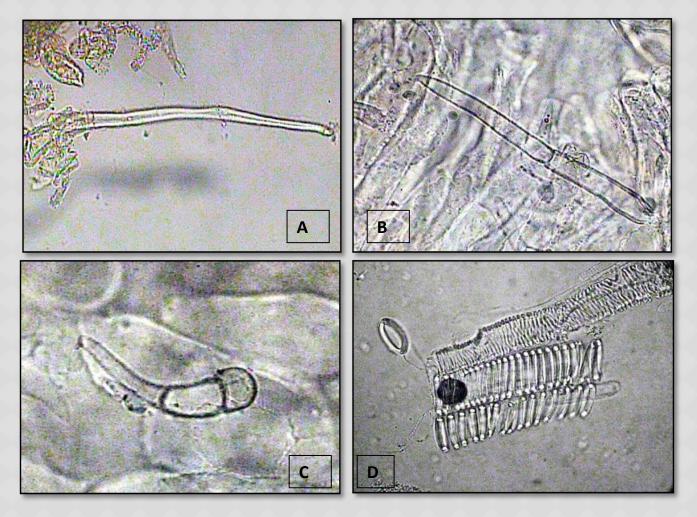


A: Granos de almidón en campo claro (400x). B: Granos de almidón bajo luz polarizada (400x) C: Reacción de lugol en granos de almidón (400x)

- > Análisis microscópico
 - > Muestras Vegetales: Marlo

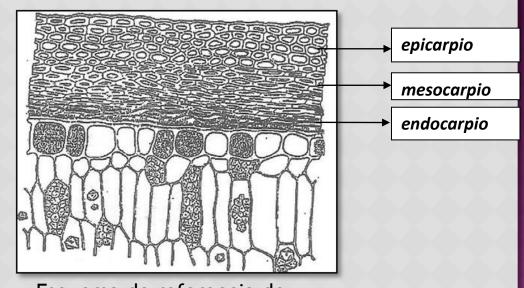


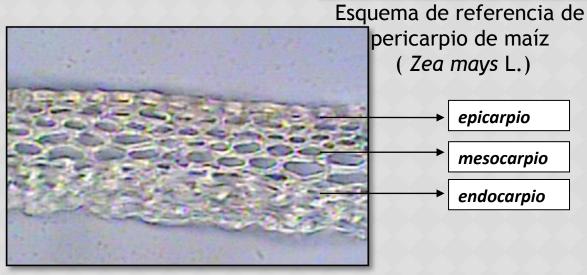
Esclereidas (400x)



A: Tricoma eglandular unicelular (200x), B: Tricoma eglandular bicelular (400x)
C: Tricoma eglandular tricelular (400x), D: Tráqueas anilladas (200x)

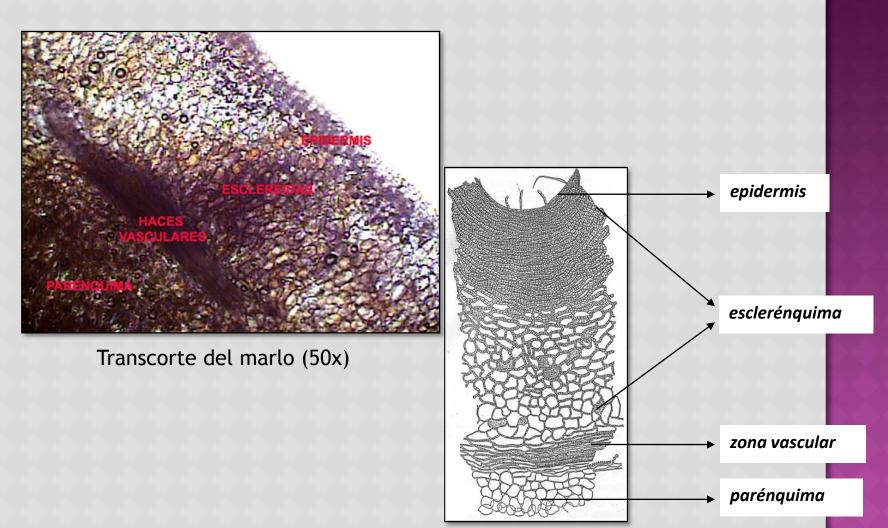
Transcorte del pericarpio del grano



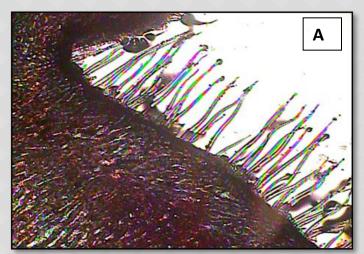


Pericarpio del grano de "maíz morado" (100x)

Transcorte del marlo

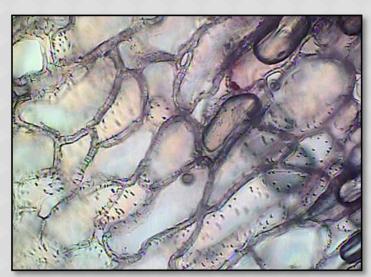


Esquema de referencia del transcorte del marlo de *Zea mays* L

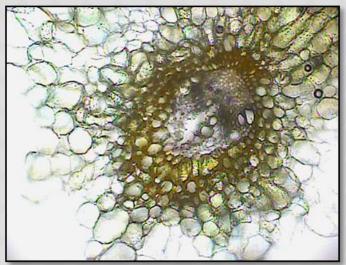




Tricomas de la epidermis. A: (50x); B: (400x)



Esclerénquima (400x)

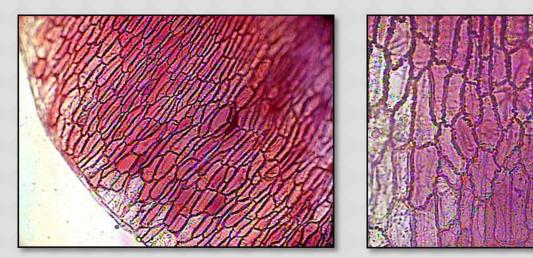


Células del parénquima y haz vascular (400x)

Transcorte de la gluma

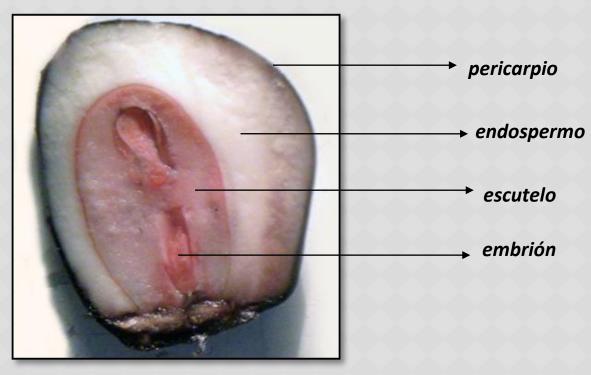


Gluma y porción de marlo (10x)



Células de la gluma (100x) y (400x)

Test de viabilidad de semillas



Corte transversal en grano de "maíz morado" (4x)

> Análisis microscópico

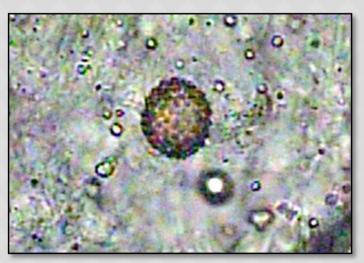
> Muestras industrializadas:

Muestra N°8: presentó restos de tejido parenquimatoso el cual no pudo determinarse que pertenezca a "maíz morado", ya este tejido es poco diferenciado.

Muestra N°9

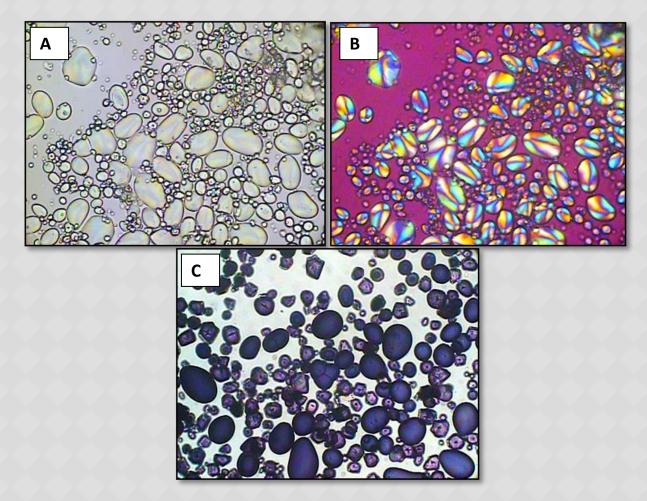


Células con aceite-Reacción de Sudan (400x)



Grano de polen (400x)

Muestra N°10



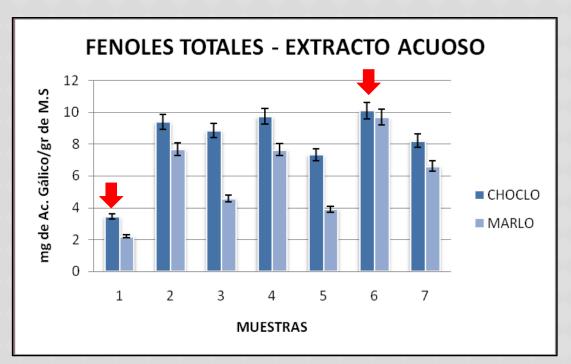
A: Granos de almidón de *Zea mays* y *Solanum tuberosum* bajo luz blanca.

B: Granos de almidón de *Zea mays* y *Solanum tuberosum* bajo luz polarizada (200x)

C: Reacción de Lugol en granos de almidón de *Zea mays* y *Solanum tuberosum* (400x)

Análisis Fitoquímico:

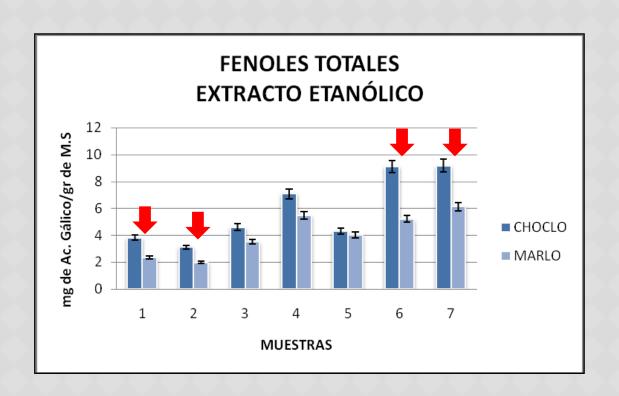
- Cuantificación de polifenoles
 - > Muestras Vegetales



Valores:

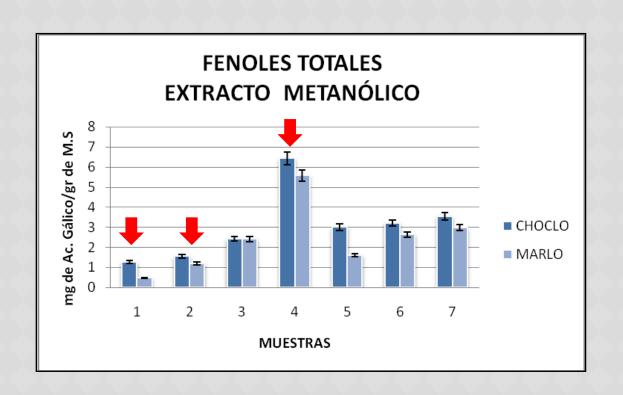
Choclo: 3,44 y 10,11 EAG. Prom. 8,16 ± 2,28 EAG. **Marlo:** 2,21 y 9,70 EAG. Prom. 6,05 ± 2,59 EAG.,

aporta el 74 % al total de FT.



Choclo: 3,82 y 9,19 EAG. Prom. 5,90 \pm 2,55 EAG. **Marlo:** 2,36 y 6,14 EAG. Prom. 4,11 \pm 1,59 EAG.,

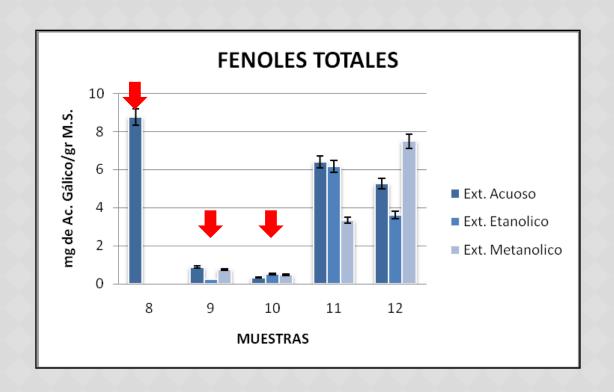
aporta el 70 % al total de FT.



Choclo: 1,27 y 6,42 EAG. Prom. 3,06 ± 1,71 EAG. **Marlo:** 0,47 y 5,58 EAG. Prom. 2,41 ± 1,65 EAG.,

aporta el 79 % al total de FT.

> Muestras Industrializadas

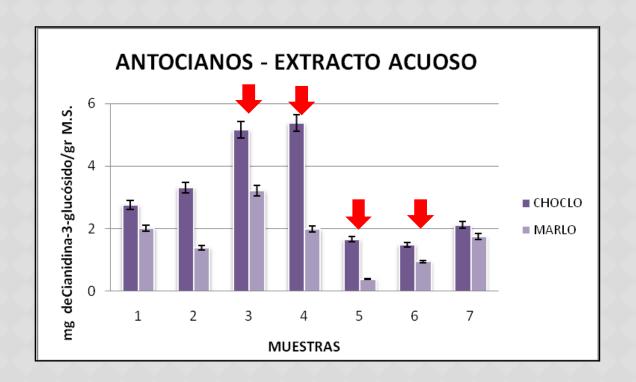


Valores:

Muestra N°8: 8,77 mg EAG./ml de extracto.

Ext. Acuoso: 0,32 y 6,40 EAG. Ext. Etanólico: 0,24 y 6,17 EAG. Ext. Metanólico: 0,47 y 7,50 EAG.

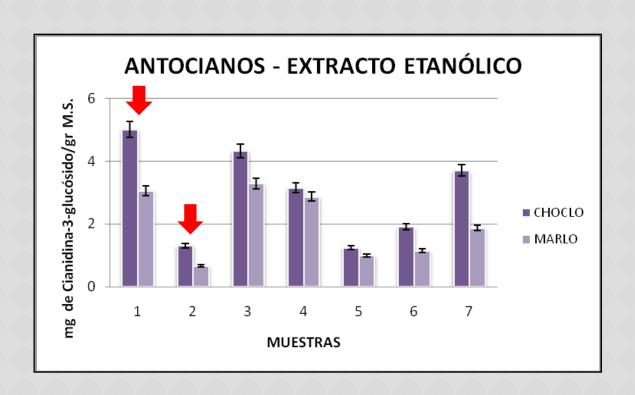
> Muestras Vegetales



Valores:

Choclo: 1,49 y 5,37 ECG. Prom. 3,12 ± 1,59 ECG. **Marlo**: 0.39 y 3,21 ECG. Prom. 1,67 ± 0,9 ECG,

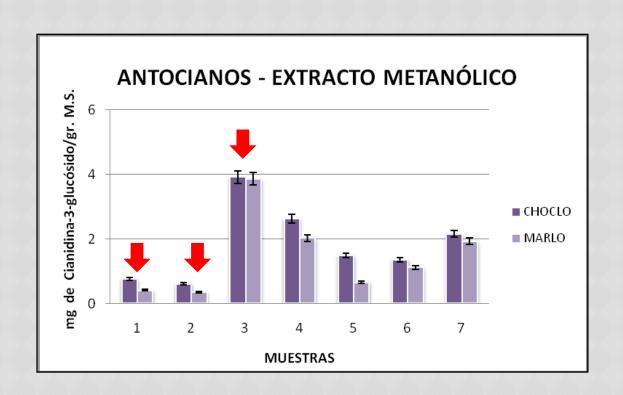
aporta 53% al total de Antoc.



Choclo: 1,25 y 5,02 ECG. Prom. 2,96 ± 1,50 ECG.

Marlo: 0,66 y 3,29 ECG. Prom. 1,98 ± 1,08 ECG.,

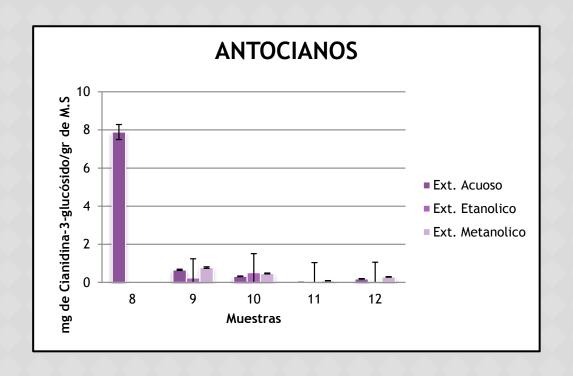
aporta 67% al total de Antoc.



Choclo: 0,61 y 3,92 ECG. Prom. de 1,85 ± 1,16 ECG. **Marlo**: 0,35 y 3,87 ECG. Prom. de 1,48 ± 1,25 ECG.,

aporta 80% al total de Antoc.

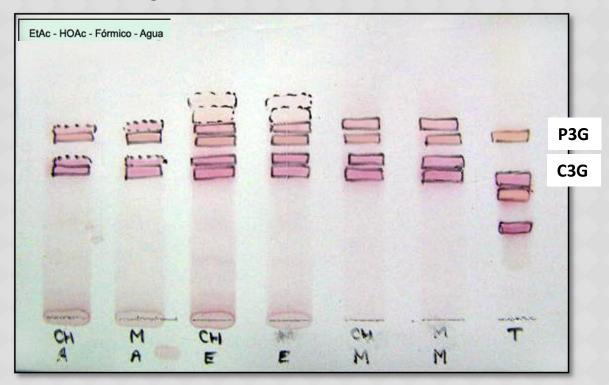
> Muestras Industrializadas



Valores:

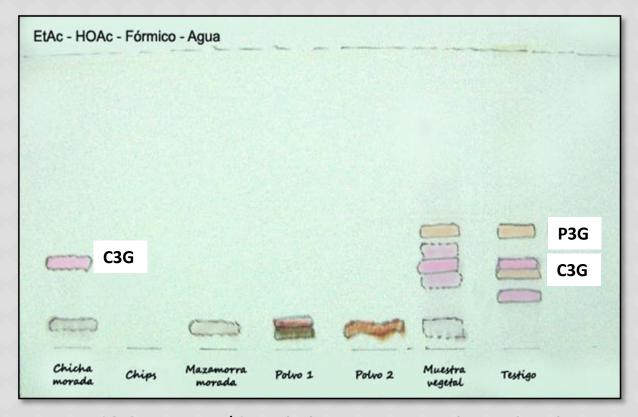
Muestras N°9 a N°12: no se detectan cantidades significativas.

- > Análisis Cualitativo de Polifenoles
 - Perfil Cromatográfico de Antocianos
 - Muestras vegetales



Perfil Cromatográfico de las muestras vegetales P3G: pelargonidina-3-glucósido, C3G: cianidina-3-glucósido

Muestras Industrializadas



Perfil Cromatográfico de las Muestras Industrializadas

- > Aislamiento e identificación de las antocianidinas
 - > Muestras vegetales

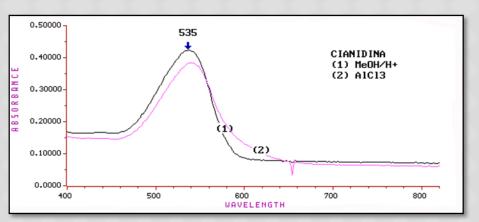


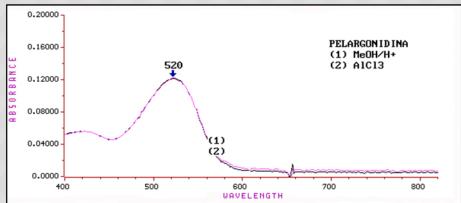
1: cianidina; 2: peonidina; 3: pelargonidina

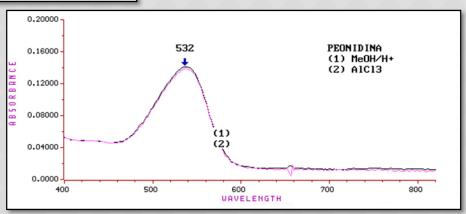
Perfil de antocianidinas: cianidina (47), peonidina (63) y pelargonidina (68)

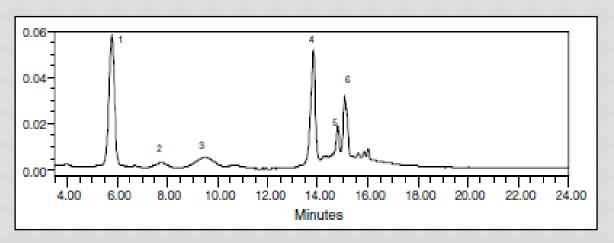
Elución de las antocianidinas

Espectros correspondientes a las antocianidinas de "maíz morado"

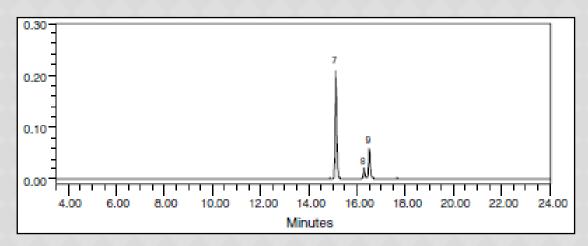






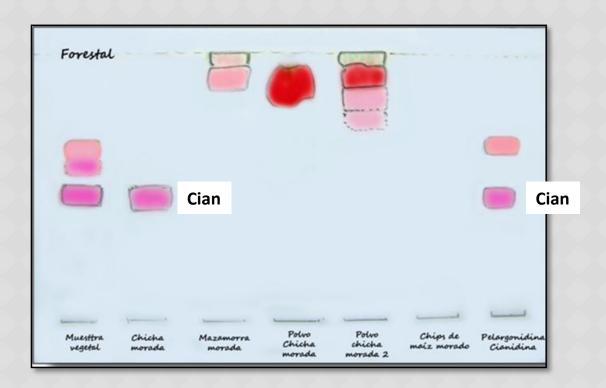


Espectros de antocianidinas "maíz morado" por HPLC (1: Cianidina-3-glucósido, 2: Pelargonidina-3-glucósido, 3: Peonidina-3-glucósido, 4-6: no identificados con los estándares disponibles.



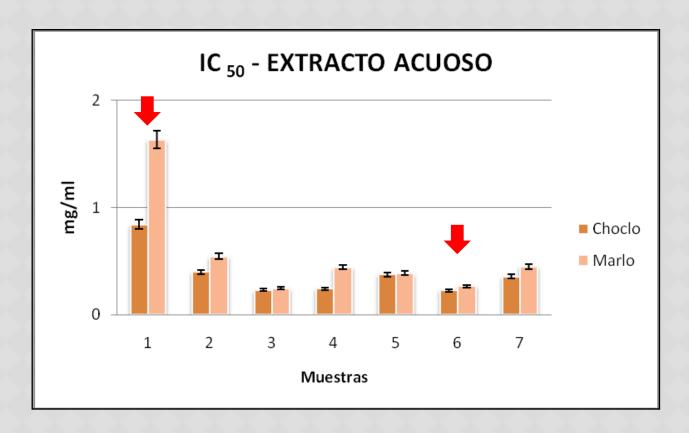
Espectros de antocianidinas por HPLC luego de la hidrólisis ácida. (7:Cianidina; 8: Pelargonidina; 9:Peonidina)

- Muestras industrializadas
- Solo la muestra N°8 presentó cianidina.
- Las demás muestras analizadas no presentaron antocianos.
- El color característico de los productos industrializados se debe al uso de colorantes artificiales.

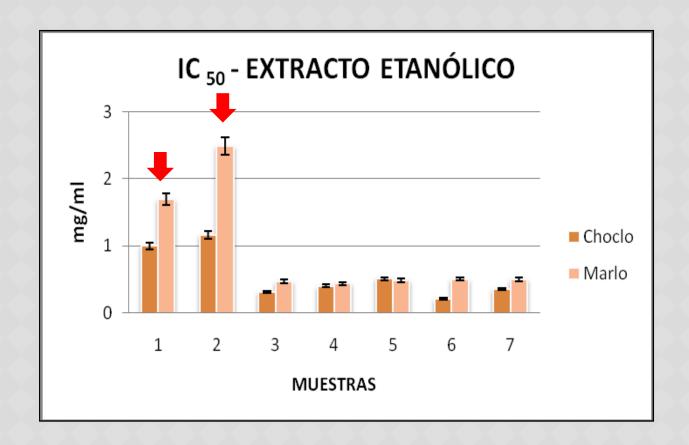


Capacidad Antioxidante

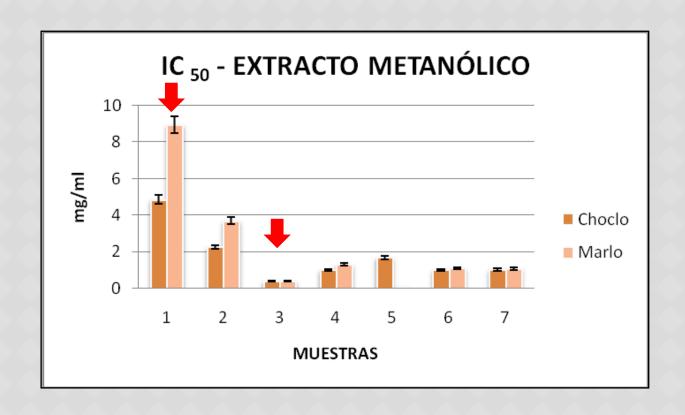
Muestras vegetales



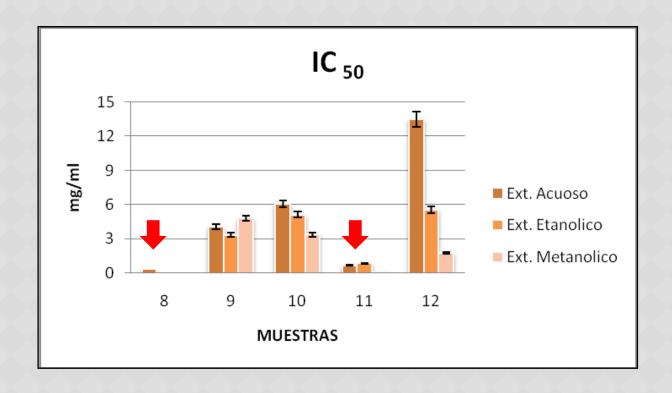
Muestras vegetales



Muestras vegetales



Muestras industrializadas



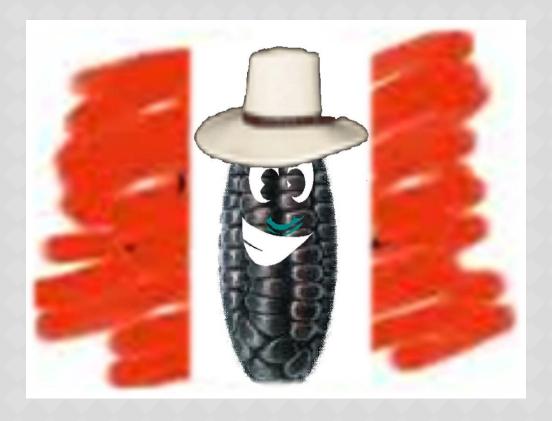
5. CONCLUSIONES

- El presente estudio se basó en el uso de técnicas de fácil y rápida realización, así como de bajo costo, las cuales son posibles de emplear en un laboratorio de baja complejidad.
- Estas técnicas permiten obtener información relevante, para la validación de distintos parámetros empleados en el análisis del control de calidad de muestras vegetales, extractos, micropulverizados y harina de "maíz morado".

- Se observó una gran variación en las concentraciones de los diferentes metabolitos analizados
- Las técnicas de disociado son de gran utilidad para el control de calidad de muestras de "maíz morado" y cobra especial importancia en el análisis de muestras industrializadas que lo adicionen en su composición.
- La presencia de los caracteres botánicos distintivos de Zea mays, como almidón y los diversos tricomas hallados (glandulares y eglandulares), pueden constituir una valiosa herramienta para el control de calidad de muestras comerciales.

- El presente estudio indica que tanto los extractos acuosos como etanólicos de "maíz morado" tienen importantes contenidos de polifenoles y actividad antioxidante.
- Los antocianos son los principales metabolitos de "maíz morado", correspondientes a glucósidos de cianidina, peonidina y pelargonidina, constituyéndose en compuestos útiles en el control de calidad de esta especie.

- En el análisis cuali-cuantitativo de antocianos en las muestras industrializadas, pudo observarse que sólo aquella proveniente de la cocción de la materia prima ("chicha morada"), presentó cianidina-3-glucósido.
- La determinación de la actividad antioxidante evidencia una relación compleja que incluye tanto al contenido de fenoles totales como al de antocianos, actuando ambos metabolitos en forma sinérgica.



GRACIAS!