

CONTENIDO DE FENOLES SOLUBLES E INSOLUBLES EN LAS ESTRUCTURAS DEL GRANO DE MAÍZ Y SU RELACIÓN CON PROPIEDADES FÍSICAS

CONTENT OF SOLUBLE AND INSOLUBLE PHENOLS IN THE STRUCTURES OF CORN GRAIN AND THEIR RELATIONSHIP WITH PHYSICAL PROPERTIES

M. Luisa **Cabrera-Soto**¹, Yolanda **Salinas-Moreno**^{2*}, Gustavo A. **Velázquez-Cardelas**², Edgar **Espinosa Trujillo**²

¹Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, Estado de México. ²Programa de Maíz. Instituto Nacional de Investigaciones forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 56230. Chapingo, Estado de México (yolysamx@yahoo.com).

RESUMEN

El estudio de los compuestos fenólicos es importante por las funciones de algunos de ellos en los mecanismos de defensa de la planta contra el ataque de patógenos, así como por sus propiedades antioxidantes, antimutagénicas y anticancerígenas. Los objetivos de este trabajo fueron determinar el contenido de fenoles solubles (FS) e insolubles (FI) en el pericarpio, endospermo y germen del grano de maíz (*Zea mays*) y su correlación con las propiedades físicas del grano. Se trabajó con dos genotipos experimentales (HE y H-161) cultivados en diferentes localidades y tres maíces comerciales (Oso, Sable y Leopardo). Se analizaron los FS (libres, glucosilados y esterificados) y FI mediante el método de Folin-Ciocalteu. Las variables físicas del grano fueron: peso hectolítrico (PH), índice de flotación (IF), color de grano (CG) y peso de 100 granos (PCG). El contenido de FS fue más elevado en el germen, seguido del pericarpio y endospermo. Dentro de este tipo de fenoles, en las tres estructuras dominaron los fenoles libres. El mayor contenido de FI se presentó en el pericarpio, seguido del germen y endospermo. Existió diferencia estadística ($p \leq 0.01$) para el contenido de FS y FI, entre los maíces estudiados. El contenido de fenoles libres y esterificados del endospermo presentó correlación significativa ($p \leq 0.01$) con las variables relacionadas con la dureza del grano (PH e IF), en tanto que los FL del pericarpio mostraron una correlación positiva con el grado de cremosidad del grano. El PCG estuvo correlacionado positivamente ($p \leq 0.05$) con los FI del pericarpio y de manera negativa con los fenoles glucosilados del endospermo. Existe una concentración diferencial de fenoles entre las estructuras del grano y algunos de ellos como los fenoles esterificados están asociados con su dureza.

ABSTRACT

The study of phenolic compounds is important for the functions of some of them in plant defense mechanisms plant against pathogen attack and by its antioxidant, antimutagenic and anticarcinogenic properties. The objectives of this study were to determine soluble phenol content (FS) and insoluble (FI) in the pericarp, endosperm and germ of the corn grain (*Zea mays*) and its correlation with the physical properties of the grain. This work was done with two experimental genotypes (H and H-161) grown in different locations and three commercial maizes (Oso, Sable and Leopardo). The FS were analyzed (free, glycosylated and esterified) as well as FI using the method of Folin-Ciocalteu. The physical variables of the grain were: hectolitic weight (PH), flotation index (FI), grain color (CG) and weight of 100 grains (PCG). The content of FS was higher in the germ, followed by the pericarp and endosperm. Within this type of phenols, free phenols prevailed in the three structures. The highest content of FI was found in the pericarp, followed by the germ and endosperm. There was statistical difference ($p \leq 0.01$) for the content of FS and FI among the maize types studied. The free and esterified phenol content of the endosperm showed a significant correlation ($p \leq 0.01$) with the variables related to the grain hardness (PH and IF), while the pericarp FL showed a positive correlation with the degree of creaminess of the grain. The PCG was positively correlated ($p \leq 0.05$) with the pericarp FI and negatively with the endosperm glycosylated phenols. There is a differential concentration of phenols among the grain structures, and some of them, like the esterified phenols are associated with their hardness.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: Julio, 2008. Aprobado: Mayo, 2009.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 43: 827-839. 2009.

Key words: *Zea mays*, color, phenolic compounds, hardness, grain.

Palabras clave: *Zea mays*, color, compuestos fenólicos, dureza, grano.

INTRODUCCIÓN

Los fenoles son compuestos químicos ampliamente distribuidos en las plantas como producto de su metabolismo secundario, algunos de los cuales son indispensables para su funcionamiento y otros son útiles en los mecanismos de defensa bajo situaciones de tensión (Kim *et al.*, 2003) y contra el ataque de organismos patógenos (Bakan *et al.*, 2003). También se vincula el consumo de estos fitoquímicos con beneficios a la salud, debido a sus propiedades antioxidantes (Gallardo *et al.*, 2006) y anticancerígenas (Zhaohui y Moghadasian, 2008).

En cereales los fenoles se agrupan en solubles e insolubles o ligados. En el primer grupo están los fenoles libres, glucosilados y esterificados que se ubican en mayor cantidad en las capas periféricas de los granos (pericarpio, testa y células de aleurona), mientras que su concentración es menor en el endospermo (Yu *et al.*, 2001). El maíz (*Zea mays*) contiene más fenoles totales y mayor poder antioxidante que cereales como trigo, arroz y avena (Adom y Liu, 2002). El principal fenol es el ácido ferúlico, que representa alrededor de 85 % de los fenoles totales y se concentra en el pericarpio del grano en forma libre o esterificado a las heteroxilanas que constituyen la hemicelulosa de la pared celular (De la Parra *et al.*, 2007).

Aunque hay trabajos sobre el contenido de fenoles en el grano entero de maíz (Sosulski *et al.*, 1982; Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006; De la Parra *et al.*, 2007), pocos cuantifican estos compuestos en las estructuras del grano, a pesar de que su presencia tiene relevancia con propiedades particulares: el contenido de fenoles en el germen del grano de maíz está asociado con la tolerancia a *Fusarium* spp (Bakan *et al.*, 2003); los fenoles del endospermo participan en el desarrollo del color grisáceo en masa y tortilla (Salinas *et al.*, 2007) y los del pericarpio se relacionan con la tolerancia a plagas de almacén (Arnason *et al.*, 1992; Sen *et al.*, 1994). Trabajos recientes relacionan la dureza del grano de maíz con el contenido de fenoles (Bily *et al.*, 2004; Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006), pero se desconoce si otras propiedades físicas del grano están asociadas con el contenido de estos compuestos.

Por tanto, el propósito de la presente investigación fue determinar el contenido de fenoles solubles

INTRODUCTION

Phenols are chemicals widely distributed in plants as product of their secondary metabolism, some of which are essential to its operation and others are useful in the mechanisms of defense under situations of stress (Kim *et al.*, 2003) and against the attack by pathogens (Bakan *et al.*, 2003). The consumption of these phytochemicals is also linked with health benefits because of their antioxidant (Garcia *et al.*, 2006) and anticarcinogenic properties (Zhaohui and Moghadasian, 2008).

Phenols in cereals fall into soluble and insoluble or linked. In the first group the free phenols, glycosylated and esterified are found and in greater amounts in the peripheral layers of grain (pericarp, testa and aleurone cells), while their concentration is lower in the endosperm (Yu *et al.*, 2001). Maize (*Zea mays*) contains more total phenols and a higher antioxidant power than cereals like wheat, rice and oats (Adom and Liu, 2002). The main phenol is ferulic acid, which represents about 85 % of total phenols and is concentrated in the grain pericarp in a free way or esterified to the heteroxilanas constituting the hemicellulose of the cell wall (De la Parra *et al.*, 2007).

Although there are studies on the content of phenols in the whole corn grain (Sosulski *et al.*, 1982; Del Well-Insfran *et al.*, 2006; De la Parra *et al.*, 2007), few quantify these compounds in the grain structures, although their presence is relevant for their particular properties: the content of phenols in the germ of the corn kernel is associated with tolerance to *Fusarium* spp. (Bakan *et al.*, 2003); the endosperm phenols participate in developing the gray color of the dough and tortilla. (Salinas *et al.* 2007) and those of the pericarp are related to tolerance to storage pests (Arnason *et al.*, 1992; Sen *et al.*, 1994). Recent studies associate the hardness of maize grain with the content of phenols (Bily *et al.*, 2004, Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006), but it is unknown whether other physical properties of the grain are associated with the content of these compounds. Therefore, the purpose of the present investigation was to determine the content of soluble and insoluble phenols in the pericarp, endosperm and germ, and its correlation with the physical properties of maize grain.

e insolubles en el pericarpio, endospermo y germen, y su correlación con las propiedades físicas del grano de maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

El estudio de los compuestos fenólicos en las estructuras del grano se efectuó con dos híbridos de maíz de grano blanco de cruza tri-lineal (HE y H-161) proporcionados por el Programa de Mejoramiento Genético de este cereal en el Campo Experimental del Valle de México del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CEVAMEX-INIFAP), cultivados durante el ciclo P-V 2006 en tres localidades y los híbridos Oso, Sable y Leopardo de la empresa Monsanto, cultivados a nivel comercialmente en los Valles Altos del estado de Zacatecas durante el ciclo P-V 2006.

Características físicas

El análisis de las características físicas del grano se realizó cuando las muestras tenían un 11 a 12 % de humedad: 1) peso hectolítrico (kg hL^{-1}) usando una balanza específica (Ohaus); 2) peso de 100 granos (g): se contaron manualmente cien semillas y se determinó su peso en un balanza semi-analítica; 3) índice de flotación (%): se colocaron 100 granos sanos en una solución de nitrato de sodio ajustada a una densidad de 1.2500 luego los granos se agitaron ligeramente y se contó el número que ascendió a la superficie, el cual se consideró como el índice de flotación o porcentaje de granos flotantes (Salinas *et al.*, 1992); 4) color de grano (% R) a 546 nm: se usó el colorímetro Agtron y un tamaño de muestra de 30 g. Además se determinaron los porcentajes de pedicelo, pericarpio, germen y endospermo. Los métodos usados fueron los descritos por Salinas y Vázquez (2006). Cada análisis se hizo por duplicado o triplicado.

Cuantificación de los compuestos fenólicos del grano

Además se pesaron 150 g de grano crudo de maíz en una balanza semianalítica (Sartorius, modelo BL610); se colocaron en un vaso de precipitados de 500 mL que contenía agua caliente (85 °C) y se dejaron reposar 15 min para facilitar la separación de las estructuras del grano. Con un bisturí se separaron el pericarpio, endospermo y germen; el pedicelo del grano se descartó. Las fracciones se molieron en un molino (IKA WERKE, Modelo MF 10 Basic) con una malla de 0.5 mm. El germen se desengrasó antes de su molienda usando un equipo Soxhlet y éter de petróleo como disolvente (12 h de extracción a 67 °C) para evitar la posible

MATERIALS AND METHODS

Genetic material

The study of phenolic compounds in grain structures was carried out with two maize hybrids of white tri-linear cross grain (HE and H-161) provided by the Program of Genetic Improvement of this cereal at the Valle de México Experimental Campus of the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CEVAMEX-INIFAP), grown in the P-V cycle 2006 in three locations, and hybrids Oso, Sable and Leopardo of the company Monsanto grown commercially at the Valles Altos of the state of Zacatecas during the P-V cycle 2006.

Physical characteristics

The analysis of the physical characteristics of grain was performed when samples had an 11 to 12% humidity: 1) hectolitic weight (kg hL^{-1}) using a specific balance (Ohaus), 2) weight of 100 grains (g): one hundred seeds were counted manually and their weight recorded with a semi-analytical balance, 3) flotation index (%): 100 healthy grains were placed on a solution of sodium nitrate adjusted to a density of 1.2500; grains were slightly shaken and the number of those rising to the surface was counted, and considered as the flotation index or percentage of floating grains (Salinas *et al.*, 1992), 4) grain color (% R) at 546 nm: the Agtron colorimeter was used as well as a sample of 30 g. Also the percentages of pedicel, pericarp, germ and endosperm were determined. The methods used were those described by Salinas and Vasquez (2006). Each analysis was made in duplicate or triplicate.

Quantification of grain phenolic compounds

In addition, 150 g of raw corn grain were weighed in a semi-analytical balance (Sartorius, model BL610), placed in a 500 mL beaker containing hot water (85 °C) and left stand for 15 min to facilitate the separation of grain structures. By using a scalpel the pericarp, endosperm and germ were separated; the grain pedicel was discarded. The fractions were ground in a mill (IKA Werke, Model MF 10 Basic) with a 0.5 mm mesh. The germ was degreased before grinding using a Soxhlet equipment and oil ether as solvent (a 12 h extraction at 67 °C) to avoid the possible interference of the germ Vitamin E in the quantification of phenols by the Folin-Ciocalteu method (F-C) (Makkar, 2002). Flours were dehydrated for 12 h at 50 °C in an oven (Blue M) and stored in a desiccator until analysis.

The extraction of soluble phenols (glycosylated, esterified and free) was performed as described by Bakan *et al.* (2003), and

interferencia de la Vitamina E del germen en la cuantificación de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu (F-C) (Makkar, 2002). Las harinas se deshidrataron 12 h a 50 °C en una estufa (Blue M) y se almacenaron en un desecador hasta su análisis.

La extracción de fenoles solubles (glucosilados, esterificados y libres) se realizó según lo descrito por Bakan *et al.* (2003) y para los fenoles insolubles se usó la metodología de Assabgui *et al.* (1993); la cuantificación en todos los casos se hizo mediante el método de F-C. Para los fenoles solubles la extracción se hizo con 1.5 g de harina y 30 mL de metanol al 80 % por 60 min de agitación a temperatura ambiente. La mezcla se centrifugó a 1345 g por 10 min en una centrífuga (Hettich, modelo Universal 32). El sobrenadante se separó del sedimento y a este último se agregó metanol al 80 % para una segunda extracción. El sedimento de esta segunda extracción se guardó para analizar fenoles insolubles.

Los sobrenadantes se mezclaron y filtraron con papel Whatman No. 4. El filtrado se concentró en un rotavapor (Heidolph modelo Laborata 4010) a 40 °C, hasta un volumen de 15 mL, para después aforar con agua destilada a un volumen final de 20 mL. La solución se ajustó a pH 2 con HCl 2N y un potenciómetro (Beckman ϕ 45 pH meter). Se realizó una extracción líquido-líquido con acetato de etilo dos veces, juntando las fases orgánicas de cada caso, donde se encontraban los fenoles libres.

La fase acuosa se ajustó a un volumen de 20 mL con agua destilada y se dividió en dos volúmenes iguales. A uno de ellos se agregaron 10 mL de HCl 2N para extraer los fenoles glucosilados y al otro 10 mL de NaOH 2N para obtener los esterificados. La solución con HCl se conservó 1 h a 4 °C, mientras que la de NaOH se mantuvo 3 h en oscuridad a temperatura ambiente. Luego ambos extractos se ajustaron a pH 2 y se hicieron dos extracciones líquido-líquido con acetato de etilo para separar los fenoles en la fase orgánica, la cual se concentró a sequedad y el residuo se resuspendió en agua destilada aforando a 10 mL en un matraz volumétrico para su cuantificación mediante el método de F-C. El contenido de fenoles se expresó en función del ácido gálico (Sigma, MN, USA), con el cual se preparó una curva patrón.

El sedimento sin los fenoles solubles se hidrolizó con 30 mL de NaOH 2N por 3 h a 60 °C. Se ajustó el volumen a 100 mL con agua destilada y se dejó reposar 12 h a temperatura ambiente y en oscuridad. Se ajustó el pH a 2, seguido de extracciones líquido-líquido con acetato de etilo, juntando los extractos que se concentraron a sequedad en un rotavapor. El residuo se resuspendió en 10 mL de agua destilada para su cuantificación por F-C. Todos los análisis se realizaron por duplicado o triplicado.

Análisis estadístico de los datos

Se realizó un análisis de varianza con los datos del contenido de las cuatro clases de fenoles en pericarpio, germen y endospermo y de

for insoluble phenols the methodology of Assabgui *et al.* (1993) was used; quantification in all cases was done by using the F-C method. The extraction of soluble phenols was done with 1.5 g of flour and 30 mL of methanol at 80 %, shaking it for 60 min at room temperature. The mixture was centrifuged at 1345 g for 10 min in a centrifuge (Hettich, Universal model 32). The supernatant was separated from the sediment to which methanol at 80 % was added for a second extraction. The sediment from this second extraction was saved to analyze insoluble phenols.

The supernatants were mixed and filtered with Whatman paper No. 4. The filtrate was concentrated in a rotary evaporator (Heidolph model Laborata 4010) at 40 °C until reaching a volume of 15 mL, being gauged then with distilled water to a final volume of 20 mL. The solution was adjusted to pH 2 with 2N HCl and a potentiometer (Beckman ϕ 45 pH meter). A liquid-liquid extraction with ethyl acetate was performed twice, joining the organic phases for each case, where free phenols were located.

The aqueous phase was adjusted to a volume of 20 mL with distilled water and divided into two equal volumes. Ten mL of HCl 2N were added to one of them to extract glycosylated phenols and 10 mL of 2N NaOH to the other one to obtain the esterified. The HCl solution was kept 1 h at 4 °C, while that of NaOH was kept 3 h in the dark at room temperature. Then both extracts were adjusted to pH 2 and two liquid-liquid extractions were made with ethyl acetate to separate the phenols in the organic phase, which was concentrated to dryness and the residue was re-suspended in distilled water and gauged at 10 mL in a volumetric flask for quantification by the F-C method.

The content of phenols was expressed in terms of gallic acid (Sigma, MN, USA), with which a standard curve was prepared. The sediment without soluble phenols was hydrolyzed with 30 mL of 2N NaOH for 3 h at 60 °C. Volume was adjusted to 100 mL with distilled water and left 12 h stand at room temperature and in darkness. The pH was adjusted to 2 followed by liquid-liquid extractions with ethyl acetate, gathering the extracts that were concentrated to dryness in a rotary evaporator. The residue was re-suspended in 10 mL of distilled water for its quantification by F-C. All analyses were performed in duplicate or triplicate.

Statistical analysis of data

A variance analysis was performed with the data of the content of four classes of phenols in the pericarp, germ and endosperm, and of the physical features of grain in both genotypes; the experimental design was completely randomized (Steel and Torrie, 1989). The comparison of means was done by using Tukey ($p \leq 0.05$). Also an analysis of simple linear correlation between variables was carried out. The analyses were performed using SAS version 8 (SAS, 1998).

las características físicas del grano en los dos genotipos; el diseño experimental fue completamente al azar (Steel y Torrie, 1989). La comparación de medias se hizo mediante Tukey ($p \leq 0.05$). También se hizo un análisis de correlación lineal simple entre las variables. Los análisis se realizaron usando SAS versión 8 (SAS, 1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de fenoles en las estructuras del grano

Fenoles solubles

Los fenoles solubles del grano de maíz están conformados por los fenoles libres (FL), los fenoles glucosilados (FG) y los fenoles esterificados (FE) dentro de este grupo están a los ácidos fenólicos, flavonoides y amidas fenólicas (Sen *et al.*, 1994). En el pericarpio los FL variaron entre 107.3 y 181.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS, los FG de 14.9 a 28.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ de MS, y los FE de 86.6 a 137.1 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS. Se observó diferencia estadística en el contenido de los fenoles solubles del pericarpio entre los maíces analizados. En los maíces experimentales se observó una tendencia hacia un mayor contenido de FL que en los comerciales (Cuadro 1).

La importancia de los fenoles del pericarpio en la tolerancia a plagas de almacén ha sido señalada por Sen *et al.* (1994), Bily *et al.* (2003) y García-Lara *et al.* (2004). La concentración de ácidos fenólicos libres (*trans*-ferúlico y *p*-cumárico) y diferulatos en esta estructura se ha relacionado con la tolerancia al ataque de *Sitophilus zeamais* (Motsch.) (García-Lara *et al.*, 2004), lo mismo que las amidas fenólicas que se encuentran predominantemente en el pericarpio y de las cuales se han identificado: feruloilputrescina, *p*-cumaroilputrescina, diferuloilputrescina y di *p*-cumaroilputrescina (Sen *et al.*, 1994).

La fracción de fenoles esterificados (FE) del grano de maíz está conformada principalmente por ácidos fenólicos que se encuentran unidos a moléculas de carbohidratos o amidas mediante enlaces éster (Arnason *et al.*, 1992).

El endospermo del grano de las muestras analizadas tuvo un menor contenido de los tres tipos de fenoles solubles, con relación a lo observado para el pericarpio. La variación de estos compuestos fue: para FL, de 45.3 a 94.2 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS; FG, de 12.0 a 20.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS; FE, de 49.0 a 80.6 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS. En el endospermo los fenoles se concentran en la capa

RESULTS AND DISCUSSION

Phenol content in grain structures

Soluble phenols

The soluble phenols of maize grains are made up of free phenols (FL), glycosylated phenols (FG) and esterified phenols (FE); the latter group includes phenolic acids, flavonoids and phenolic amides (Sen *et al.*, 1994). In the pericarp the FL ranged from 107.3 to 181.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS, FG from 14.9 to 28.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS, and FE from 86.6 to 137.1 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS. A statistical difference was observed in the soluble phenol content of the pericarp among the types of corn tested. In the experimental maize types there was a trend toward greater FL content than in commercials (Table 1).

The importance of pericarp phenols in their tolerance to storage pests has been reported by Sen *et al.* (1994), Bily *et al.* (2003) and García-Lara *et al.* (2004). The concentration of free phenolic acids (*trans*-ferulic and *p*-coumaric) and diferulatos in this structure has been related to tolerance to the attack by *Sitophilus zeamais* (Motsch.) (García-Lara *et al.*, 2004), as well as phenolic amides which are found predominantly in the pericarp and of which feruloilputrescina, *p*-cumaroilputrescina, and di diferuloilputrescina *p*-cumaroilputrescina have been identified (Sen *et al.*, 1994).

The esterified phenolic fraction (FE) of the corn grain is comprised mostly of phenolic acids that are attached to carbohydrate molecules or amides by ester bonds (Arnason *et al.*, 1992).

The grain endosperm of the samples analyzed showed a lower content of the three types of soluble phenols in relation to that observed for the pericarp. The variation of these compounds was: for FL, from 45.3 to 94.2 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS; FG, from 12.0 to 20.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS, FE, from 49.0 to 80.6 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS. In the endosperm phenols are concentrated in the aleurone layer, with a smaller presence at the center of this structure (Sen *et al.*, 1994, Yu *et al.*, 2001).

Of the grain structures, the germ exhibited the highest content of soluble phenols: the FL were the highest, from 375.0 to 480.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS, then FE, from 105.1 to 202.2 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS, and FG, from 17.9 to 45.0 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS. The FL values in the germ of the studied samples were higher than what Bakan

Cuadro 1. Contenido de fenoles solubles en las estructuras del grano de las muestras analizadas.
Table 1. Content of soluble phenols in grain structures of the samples analyzed.

Material	Fenoles solubles en estructuras del grano de maíz								
	Pericarpio			Endospermo			Germen		
	FL	FG	FE	FL	FG	FE	FL	FG	FE
HE-SL	142.8 bc (± 13.9)	14.9 b (± 3.6)	135.9 a (± 19.8)	92.7 a (± 25.1)	20.7 a (± 7.1)	80.6 a (± 7.2)	468.0 ab (± 24.3)	26.0 bc (± 2.8)	174.7 ab (± 19.8)
HE-TCM	181.7 a (± 13.8)	15.3 b (± 0.3)	137.1 a (± 6.0)	94.2 a (± 20.9)	16.9 a (± 0.6)	71.2 ab (± 2.2)	423.1 bc (± 6.5)	36.8 ab (± 4.4)	202.2 a (± 9.6)
H-161 MI	141.6 bc (± 1.6)	24.2 ab (± 1.3)	86.6 b (± 5.0)	60.0 a (± 1.9)	17.4 a (± 1.5)	56.7 ab (± 11.1)	375.0 d (± 5.6)	20.4 c (± 1.0)	132.9 c (± 1.6)
H-161 SL	153.3 ab (± 0.9)	22.4 ab (± 5.2)	123.2 ab (± 1.5)	45.3 a (± 1.1)	17.1 a (± 0.9)	61.7 ab (± 7.2)	480.7 a (± 13.9)	27.2 bc (± 0.9)	181.4 a (± 2.8)
OSO	113.1 cd (± 2.1)	28.7 a (± 2.3)	133.9 a (± 1.5)	83.3 a (± 2.8)	12.0 a (± 0.1)	49.0 b (± 1.7)	438.9 ab (± 5.4)	45.0 a (± 2.0)	141.1 bc (± 10.4)
SABLE	107.3 d (± 2.2)	17.1 ab (± 0.4)	108.0 ab (± 12.2)	69.7 a (± 0.8)	18.3 a (± 0.2)	51.4 b (± 1.9)	376.1 cd (± 18.9)	17.9 c (± 1.2)	105.1 c (± 1.2)
LEOPARDO	136.9 bcd (± 5.8)	20.1 ab (± 2.0)	102.9 ab (± 0.6)	69.4 a (± 1.8)	19.3 a (± 0.8)	59.7 ab (± 1.8)	468.3 ab (± 16.1)	43.0 a (± 2.5)	174.1 ab (± 6.0)
DMS (p=0.05)	31.6	12.3	39.3	49.4	10.8	27.3	47.0	11.1	39.5

Los valores entre paréntesis representan la desviación estándar de la media de tres observaciones ♦ Values in parentheses represent the standard deviation of the mean of three observations.

Valores en una columna con letras diferentes, son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$) ♦ Values in a column with different letters are statistically different (Tukey, $p \leq 0.05$).

DMS: Diferencia mínima significativa ♦ DMS: Least significant difference.

de aleurona, con una menor presencia hacia el centro de esta estructura (Sen *et al.*, 1994; Yu *et al.*, 2001).

De las estructuras del grano, el germen presentó el mayor contenido de fenoles solubles: los FL fueron los más elevados, de 375.0 a 480.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS; luego los FE, de 105.1 a 202.2 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS; y los FG, de 17.9 a 45.0 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS. Los valores de FL en el germen de las muestras estudiadas fueron mayores a lo informado por Bakan *et al.* (2003), quienes indican un contenido de 13.49 $\mu\text{g g}^{-1}$ de MS. Estas diferencias se deben al método de cuantificación usado en cada caso y a su especificidad, ya que los autores mencionados utilizaron HPLC para cuantificar sólo una fracción de los FL, que fueron los ácidos fenólicos. En cambio en el presente trabajo se cuantificaron todos los fenoles del extracto por el método de F-C, lo que lleva a valores elevados, como lo muestran De la Parra *et al.* (2007) quienes encontraron un intervalo de 347 a 500 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS en grano entero de cinco genotipos, usando F-C. Los maíces con pigmentos tipo antociano (grano azul o negro) presentan valores aún más elevados, por la presencia de las antocianinas (Lopez-Martinez *et al.*, 2009).

et al. reported (2003); they suggest a content of 13.49 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS. These differences are due to the quantification method used in each case and its specificity, since the authors used HPLC to quantify only a fraction of the FL, which were the phenolic acids. However in this study all the phenols of the extract were quantified by the F-C method, which leads to higher values, as shown by De Parra *et al.* (2007) who found an interval of 347 to 500 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS in whole grain of five genotypes, using F-C. The maize of the anthocyanin pigment type (blue or black grain) showed even higher values because of the presence of anthocyanins (Lopez-Martinez *et al.*, 2009).

The F-C method is widely used to measure phenols in plant tissues; however, the reducing substances may have different reactions to phenolic compounds such as sugars or ascorbic acid (Robbins, 2003; Ainsworth and Gillespie 2007). In the samples analyzed in this work, because of the polarity of the solvent used to extract FL (ethyl acetate), it is difficult for some very polar sugars to be present in the extract, unlike other phenols different to phenolic acids which

El método de F-C se usa ampliamente para medir fenoles en tejidos de plantas, sin embargo, puede haber reacciones con sustancias reductoras diferentes a los compuestos fenólicos, como azúcares o ácido ascórbico (Robbins, 2003; Ainsworth y Gillespie, 2007). En las muestras analizadas en el presente trabajo, por la polaridad del disolvente usado para extraer los FL (acetato de etilo), es difícil que algunos azúcares, muy polares estuviesen en el extracto, pero sí otros fenoles diferentes a ácidos fenólicos y que redujeron el reactivo de F-C. Así, será necesario determinar los compuestos fenólicos presentes en el extracto de FL de las estructuras del grano de maíz, además de las amidas fenólicas determinadas por Sen *et al.* (1994) y los ácidos fenólicos cuantificados por Bakan *et al.* (2003). El desengrasado realizado en el germen de las muestras previo a su análisis, favoreció la concentración de los demás constituyentes, entre ellos los fenoles, debido a que esta estructura contiene aproximadamente 35 % de aceite (Watson, 2003).

En las estructuras del grano los fenoles solubles más abundantes fueron los FL: el germen tuvo 3.1 veces más que el pericarpio y 5.9 veces más que el endospermo. Los FG se encontraron en menor cantidad. Una baja presencia de FG en el endospermo ha sido informada por Sen *et al.* (1994).

La variabilidad entre genotipos del contenido de los diferentes tipos de fenoles solubles en las estructuras del grano fue baja, no obstante que se observaron diferencias significativas. Los maíces usados en el estudio provienen del Instituto Público de Investigación (INIFAP) y privada (Monsanto) que produce semillas en México. Los maíces de INIFAP son genotipos desarrollados para las zonas de los Valles Altos del centro del país y que comparten germoplasma común, lo que podría explicar la poca variabilidad del contenido de fenoles en cada estructura del grano. Los maíces de Monsanto podrían estar en la misma situación, ya que son materiales desarrollados para condiciones de altura.

Cuando se analizan muestras contrastantes en color de grano y zonas de producción la variabilidad es mucho más elevada. Así, Lopez-Martinez *et al.* (2009) indican un intervalo de 330 a 6800 $\mu\text{g g}^{-1}$ de MS para FL en muestras de grano blanco, amarillo, rojo, morado y negro. Sin embargo, esta variabilidad se redujo entre muestras de un mismo color de grano, ya que para las rojas ($n=6$) el intervalo fue de 500 a 1230 $\mu\text{g g}^{-1}$ de MS.

reduced the F-C reagent. Thus, it will be necessary to determine the phenolic compounds present in the FL extract of the maize grain structures, in addition to phenolic amides determined by Sen *et al.* (1994) and phenolic acids quantified by Bakan *et al.* (2003). The degreasing made in the germ of the samples prior to analysis favored the concentration of other components including phenols, because this structure contains approximately 35 % oil (Watson, 2003).

In the grain structures the most abundant soluble phenols were FL: the germ had 3.1 times more than the pericarp and 5.9 times more than the endosperm. The FG were found in smaller amounts; a low presence of FG in the endosperm has been reported by Sen *et al.* (1994).

There was little variability among genotypes over the content of the different types of soluble phenols in the grain structures, and yet there were significant differences. The maize types used in the study came from the public research institute INIFAP and the private company Monsanto that produces seeds in México. The INIFAP corns are genotypes developed for areas of the Valles Altos of central México that have a common germplasm, which could explain the low variability of phenol content in each grain structure. Monsanto maize types could be in the same situation as they are products developed for high altitude conditions.

When analyzing samples of grain contrasting color and production areas, variability is much higher. Thus, Lopez-Martinez *et al.* (2009) indicate a range from 330 to 6800 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS for FL in samples of white, yellow, red, purple and black grain. However, this variability diminished among samples of the same grain color, since for the red ($n=6$) the range was from 500 to 1230 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS. By adding the FL, FG and FE for each grain structure the soluble phenol values were obtained and are shown in Table 2. The highest content was recorded in the germ, followed by the pericarp and endosperm. Similar results were reported by Bakan *et al.* (2003), who attributed to the high concentration of FS the null production of trichothecenes (mycotoxins) by strains of *F. graminearum* inoculated in sterilized and ground samples of this grain structure.

Insoluble phenols

The insoluble phenol content (FI) in the three grain structures was higher than any of the soluble

Sumando los FL, FG y FE para cada estructura del grano se obtuvieron los valores de fenoles solubles que se muestran en el Cuadro 2. El mayor contenido se presentó en el germen, seguido del pericarpio y endospermo. Resultados similares fueron informados por Bakan *et al.* (2003), quienes atribuyeron a la elevada concentración de FS del germen la nula producción de tricotecnos (micotoxinas) por razas de *F. graminearum* inoculadas en muestras esterilizadas y molidas de esta estructura del grano.

Fenoles insolubles

El contenido de fenoles insolubles (FI) en las tres estructuras del grano fue mayor que cualquiera de los fenoles solubles, o bien la suma de ellos. Lo anterior coincide con lo observado por Adom y Liu (2002) y De la Parra *et al.*, 2007, quienes señalaron que este tipo de fenoles domina en los cereales (Adom y Liu, 2002;).

Los FI en el pericarpio tuvieron un intervalo de 872.2 a 1037.8 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS en el endospermo fue 445.0 a 662.2 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS, y en el germen fue de 766.4 a 1092.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS (Figura 1). En promedio, el mayor contenido de FI se presentó en el pericarpio y el menor en el endospermo, resultado que coincide con el reportado por Arnason *et al.* (1992), Sen *et al.* (1994) y Bily *et al.* (2003).

Los FI de las estructuras del grano de maíz se encuentran ligados a los componentes de la pared celular. El ácido ferúlico, que es el fenol más abundante en esta fracción, forma conexiones entre los fragmentos de lignina a través de enlaces éter, y con las arabinosilanas por medio de enlaces éster. Este ácido también forma puentes diferúlico entre las heteroxilanas que constituyen la hemicelulosa de la pared celular, lo cual contribuiría a dar mayor resistencia a las paredes celulares del pericarpio y favorecía la tolerancia del grano a plagas de almacén (Bily *et al.*, 2003) y a algunos hongos como *Fusarium spp.*

Con la hidrólisis alcalina aplicada al residuo, los ácidos fenólicos esterificados a los polisacáridos de la pared celular del tejido y los diferulatos unidos a las heteroxilanas son liberados, y pueden por tanto reducir el reactivo de F-C. Del total de FI del germen y la fracción desgerminada del grano de maíz, un 74.5 % son ácidos fenólicos, principalmente ferúlico; el resto son diferulatos (Bakan *et al.* 2003). Para el germen, los valores obtenidos en las muestras por

phenols, or the sum of them. This coincides with the observations by Adom and Liu (2002) and De la Parra *et al.*, 2007, who noted that this type of phenols dominates in cereals.

The FI in the pericarp had a range of 872.2 to 1037.8 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS; in the endosperm of 445.0 to 662.2 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS, and the germ 766.4 to 1092.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS (Figure 1). On average, the highest content of FI was present in the pericarp and the lowest in the endosperm, as reported by Arnason *et al.* (1992), Sen *et al.* (1994) and Bily *et al.* (2003).

The FI of the corn grain structures are linked to cell wall components. Ferulic acid, which is the most abundant phenol in this fraction, forms connections between lignin fragments through ether linkages,

Cuadro 2. Contenido de fenoles solubles en el pericarpio, endospermo y germen de maíces cultivados en diferentes localidades.

Table 2. Soluble phenol content in the pericarp, endosperm and germ of corn grown in different locations.

Material	Fenoles solubles ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS)		
	Pericarpio	Endospermo	Germen
HE-SL	293.5	194.0	668.0
HE-TCM	334.0	182.0	662.0
H-161-MI	252.4	134.0	528.3
H-161-SL	298.9	124.1	689.2
OSO	275.7	144.3	625.0
SABLE	232.4	137.1	499.1
LEOPARDO	259.9	148.5	685.3

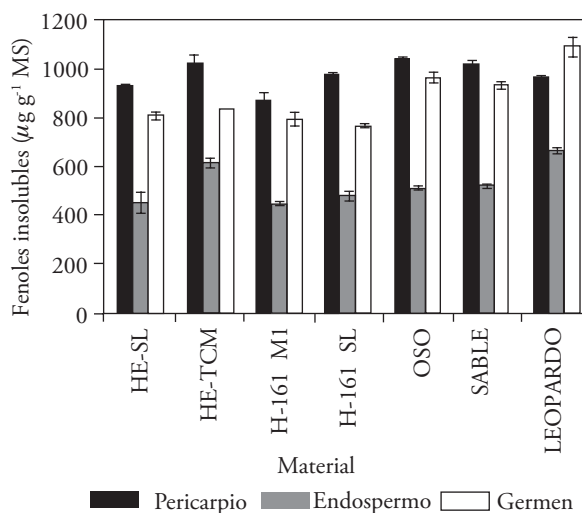


Figura 1. Contenido de fenoles insolubles en las fracciones del grano de maíz.

Figure 1. Insoluble phenol content in the corn grain fractions.

F-C son similares al valor informado por (Bakan *et al.*, 2003) para una muestra de maíz amarillo ($941.2 \mu\text{g g}^{-1}$ MS).

Los datos del contenido de los diferentes tipos de fenoles en las estructuras del grano de los maíces analizados y los del porcentaje relativo de cada estructura en el grano, se usaron para calcular el contenido de los fenoles en el grano, pero sin considerar la aportación del pedicelo, ya que esta estructura no se analizó. Por motivos de espacio, sólo se muestran los valores para una muestra de cada grupo de maíces (INIFAP y Monsanto). Expresados de esta manera, el contenido de FT para el maíz HE-TCM fue $905.24 \mu\text{g g}^{-1}$ MS, en tanto que en el híbrido Leopardo fue $922.5 \mu\text{g g}^{-1}$ MS (Figura 2). El valor informado por Bakan *et al.* (2003) es de $1088 \mu\text{g g}^{-1}$ de MS, en tanto que De la Parra *et al.* (2007) señalan un valor de $2858 \mu\text{g g}^{-1}$ de MS.

La mayor proporción de los fenoles del grano de maíz se encuentra en forma insoluble o ligada (más del 70 %). Dentro de los fenoles solubles, los FG representan una fracción muy pequeña (< 3 %) por lo que en algunos trabajos (Adom y Liu, 2002; De la Parra *et al.* 2007) sólo se cuantifican los FL y los FE o conjugados.

Correlación entre contenido de fenoles y propiedades físicas del grano

Los resultados de las características físicas del grano en las muestras analizadas se muestran en el Cuadro 3: peso hectolítrico, 72.8 a 82.8 kg hL^{-1} ; el índice de flotación, 7 a 59 %; peso de cien semillas, 31.8 a 36.8 g; reflectancia para el color del grano, 54.5 a 65.5 %. El peso hectolítrico presentó el mayor número de correlaciones con los diferentes tipos de fenoles: una correlación positiva y altamente significativa ($p \leq 0.01$) entre esta variable y los FE del pericarpio; significativa ($p \leq 0.05$) con los FL; altamente significativa con los FE del endospermo; significativa con los FE del germen; la única correlación negativa fue con los FI del germen (Cuadro 4). El peso hectolítrico representa la densidad aparente del grano de maíz y está directamente relacionado con su dureza (Salinas *et al.*, 1992). La correlación positiva observada entre los FE de las tres estructuras del grano y el peso hectolítrico sugiere que este tipo de compuestos afecta la dureza del grano, es decir a mayor dureza hay mayor contenido. En la Figura 3 se presenta la

and with arabinoxylan through ester bonds. This acid also forms diferulato bridges between heteroxilanas which constitute the cell wall hemicellulose, which in turn would increase resistance of the pericarp cell walls and favor grain tolerance to storage pests (Bily *et al.*, 2003) and some fungi such as *Fusarium spp.*

With the alkaline hydrolysis applied to the residue, the phenolic acids esterified to the polysaccharides tissue cell wall and the diferulatos attached to the heteroxilanas are released, and can therefore reduce the F-C reagent. Of all the germ FI and degerminated fraction of the corn grain, 74.5 % are phenolic acids, mainly ferulic; the rest are diferulatos (Bakan *et al.* 2003). For the germ, the values obtained in the samples by F-C are similar to the value reported by Bakan *et al.* (2003) for a sample of yellow corn ($941.2 \mu\text{g g}^{-1}$ MS).

The content data of the different types of phenols in the structures of corn grain analyzed and the relative percentage of each structure in the grain were used to calculate the content of phenols in the grain, but without considering the contribution of the pedicel, as this structure was not analyzed. For reasons of space, only the values of one sample for each group of maize are shown (INIFAP and Monsanto). Expressed in this way, the FT content for maize HE-TCM was $905.24 \mu\text{g g}^{-1}$ MS, while in the hybrid Leopardo it was $922.5 \mu\text{g g}^{-1}$ MS (Figure 2). The value reported by Bakan *et al.* (2003) is of $1088 \mu\text{g g}^{-1}$ MS, whereas De la Parra *et al.* (2007) indicate a value of $2858 \mu\text{g g}^{-1}$ MS.

The largest proportion of corn grain phenols is found as insoluble or bound (more than 70 %). Among the soluble phenols FGs account for a very small fraction (<3 %), hence in some studies (Adom and Liu, 2002; De la Parra *et al.*, 2007) only the FL and FE or conjugated are quantified.

Correlation between phenol content and physical properties of grain

The results of the physical characteristics of grain in the samples analyzed are shown in Table 3: hectolitic weight, 72.8 to 82.8 kg hL^{-1} , flotation rate, 7 to 59 %, one-hundred seed weight, 31.8 to 36.8 g; reflectance to grain color, 54.5 to 65.5 %. The hectolitic weight had the highest number of correlations with the different types of phenols: a highly significant positive correlation ($p \leq 0.01$)

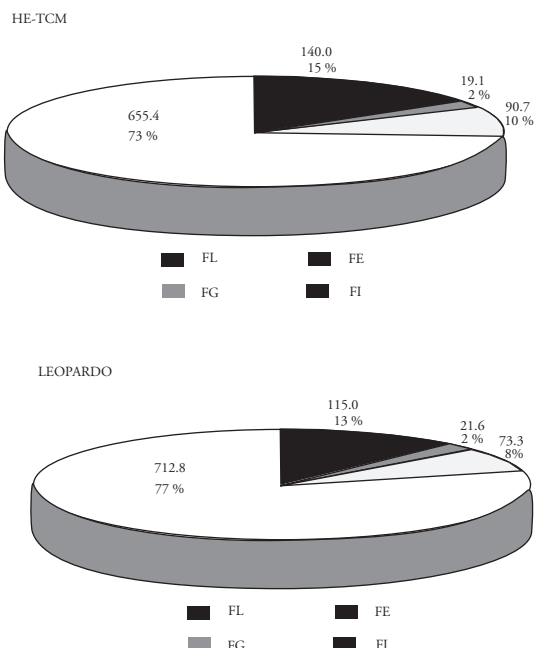


Figura 2. Contenido ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) de los diferentes tipos de fenoles en el grano de los maíces analizados y los respectivos porcentajes de cada fenol. FL: fenoles libres; FG: fenoles glucosilados; FE: fenoles esterificados; FI: fenoles insolubles.

Figure 2. Content ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) of the different types of phenols in the corn grain analyzed and the respective percentages of each phenol. FL: free phenols, FG: glycosylated phenols, FE: esterified phenols, FI: insoluble phenols.

regresión entre los FE del pericarpio (FEP) y endospermo (FEE) con el peso hectolítrico del grano.

El IF es una medida indirecta de la dureza del grano y a mayor valor hay menor dureza (Salinas *et al.*, 1992). Esta variable mostró una correlación negativa y significativa con los FE y FL del pericarpio y con los FE del endospermo y germen. De acuerdo con estos resultados, los FE y FL de las estructuras del grano están relacionados con su dureza y son consistentes con lo reportado previamente por Bily *et al.* (2003) y García-Lara *et al.* (2004). Así mismo, Del Pozo-Insfran *et al.* (2006) reportan un mayor contenido de FL y FE en el grano de maíz blanco de textura dura, en relación con maíces de grano azul de textura harinosa.

La correlación entre los FL del pericarpio y el color del grano indica que mientras más cremoso sea éste, tendrá un mayor contenido de FL. El color del

between this variable and pericarp FE; significant ($p \leq 0.05$) with FL; highly significant with the endosperm FE; significant with the germ FE; the only negative correlation was with germ FI. (Table 4). The hectolitic weight represents the bulk density of the corn grain and is directly related to its hardness (Salinas *et al.*, 1992). The positive correlation observed between the FE of the three grain structures and the hectolitic weight suggests that this type of compounds affects grain hardness, that is, at greater hardness there is more content. Figure 3 shows the correlation between pericarp and endosperm FE and the grain hectolitic weight.

The FI is an indirect measure of the hardness of the grain: at higher value lower hardness (Salinas *et al.*, 1992). This variable showed a negative and significant correlation with the pericarp FE and FL and with the FE of the endosperm and germ. According to these results, FE and FL grain structures are related to grain hardness and are consistent with what was previously reported by Bily *et al.* (2003) and García-Lara *et al.* (2004). Likewise, Del Pozo-Insfran *et al.* (2006) reported a higher content of FL and FE in the hard texture white maize grain, in con

The correlation between the FL of pericarp and the grain color indicates that the creamier the latter is, the higher its content of FL. The color of corn grain is given by the pigments of the pericarp and

Cuadro 3. Características físicas de grano de los maíces empleados en el análisis de correlación.

Table 3. Physical characteristics of the corn grain used in the correlation analysis.

Material	PH (kg hL^{-1})	IF (%)	PCG (g)	CG (% R)
HE-TCM	82.6	7	36.8	57.0
HE-SL	82.3	9	31.9	56.3
H161-SL	79.8	34	35.8	54.5
H161-MI	76.0	31	34.1	56.5
OSO	76.6	22	35.8	56.5
SABLE	75.8	59	35.2	65.5
LEOPARDO	72.8	44	32.6	60.5

Los valores de las variables están expresados en base húmeda (aproximadamente 12 % de humedad en el grano). PH= peso hectolítrico; IF=índice de flotación; PCG= peso de 100 granos; CG=color de grano, R=reflectancia. The values of variables are expressed in a fresh weight basis (approximately 12 % moisture in grain). PH=hectolitic weight; IF=floatation index; PCG=weight of 100 grains; CG=grain color; R=reflectance.

Cuadro 4. Análisis de correlación entre los tipos de fenoles de las estructuras del grano de maíz y características físicas (n=7).
Table 4. Analysis of the correlation between the phenol types of the corn grain structures and physical characteristics (n=7).

Estructura	Tipo de fenol	PH	IF	CG	PCG
Pericarpio	Libres	0.65* -0.0127	-0.62* -0.019	-0.54* -0.0473	NS
	Glucosilados	NS	NS	NS	NS
	Esterificados	0.77** -0.0012	-0.63* -0.0154	NS	NS
	Insolubles	NS	NS	NS	0.62* -0.019
Endospermo	Libres	NS	-0.57* -0.0346	NS	NS
	Glucosilados	NS	NS	NS -0.0101	-0.66*
	Esterificados	0.73** -0.0028	-0.63* -0.0166	NS	NS
	Insolubles	NS	NS	NS	NS
Germen	Libres	NS	NS	NS	NS
	Glucosilados	NS	NS	NS	NS
	Esterificados	0.65* -0.0116	-0.64* -0.0134	-0.58* -0.03	NS
	Insolubles	-0.59* -0.0269	NS	0.56* -0.0358	NS

PH=peso hectolítico; IF=índice de flotación; CG=color de grano; PCG= peso de 100 granos. NS: no significativa. Los valores entre paréntesis se refieren a la probabilidad de la correlación v PH = hectolitic weight; IF = flotation index; CG = grain color, PCG = weight of 100 grains. NS: not significant. The values in parentheses refer to the probability of the correlation ♦ PH=hectolitic weight; IF= flotation index; CG=grain color, PCG=weight of 100 grains. NS: not significant. The values in parentheses refer to the probability of the correlation.

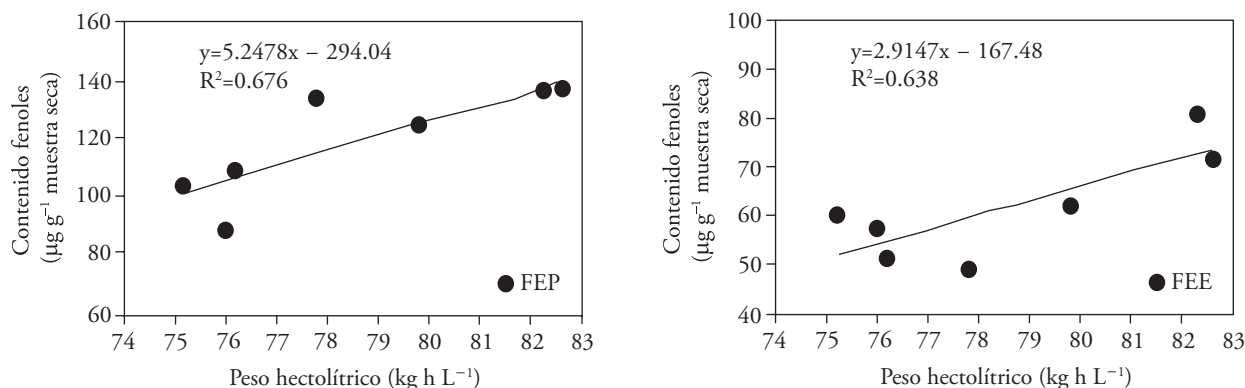


Figura 3. Regresión del contenido de fenoles esterificados del pericarpio (FEP) y del endospermo (FEE) con el peso hectolítico del grano de maíz.

Figure 3. Regression of pericarp (FEP) and endosperm (FEE) esterified phenol content with the hectolitic weight of corn grain.

grano de maíz está dado por los pigmentos del pericarpio y de la capa de aleurona (Watson, 2003).

Los maíces blancos o cremosos son básicamente ácidos fenólicos y una fracción pequeña de flavonoides del tipo flavonoles, particularmente derivados de

aleurone layer (Watson, 2003). White or creamy corns are basically phenolic acids and a small fraction of flavonoids of the flavonols type, particularly derived from quercetin; they are colorless or of pale yellow shades (Adom and Liu, 2002; Pedreschi

quercetina, que son incoloros o presentan tonalidades amarillo pálido (Adom y Liu, 2002; Pedreschi y Cisneros-Zevallos, 2007). Como no se encontró correlación con los fenoles del endospermo (la aleurona forma parte de esta estructura) en los maíces analizados, el color cremoso se puede atribuir a los fenoles del pericarpio.

Los maíces de grano cremoso no necesariamente producirán tortillas menos blancas que los de grano blanco, pues el color de la tortilla está relacionado más bien con los fenoles del endospermo (capa de aleurona) y su oxidación favorecida por el álcali de la nixtamalización (Salinas *et al.*, 2007). Además, la correlación positiva del color del grano entre los FE y los FI del germen indica que los maíces más blancos (mayores valores de reflectancia) tendrán en su germen un mayor contenido de este tipo de fenoles. El tamaño del grano, expresado como peso de 100 granos (PCG), presentó correlación positiva con los FI del pericarpio, y una correlación negativa significativa con los FG del endospermo.

CONCLUSIONES

El contenido de fenoles solubles e insolubles fue estadísticamente diferente entre las estructuras del grano; los FL, fueron los fenoles solubles en mayor cantidad y el germen fue la estructura con el mayor contenido. El pericarpio tuvo el mayor valor de fenoles insolubles, seguido del germen y del endospermo. Se presentó diferencia estadística en el contenido de fenoles entre los maíces analizados.

Los fenoles esterificados del pericarpio y endospermo presentaron correlación positiva y altamente significativa con el peso hectolítrico, en tanto que fue negativa y significativa con el índice de flotación; ambas variables están relacionadas con la dureza del grano. El grado de cremosidad del grano estuvo correlacionado negativamente con los fenoles libres del pericarpio.

LITERATURA CITADA

- Adom, K. K., and R. H. Liu. 2002. Antioxidant activity of grains. *J. Agric. Food Chem.* 50: 6182-6187.
- Ainsworth, A. E., and K. M. Gillespie. 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols* 2(4):875-877.
- Arnason, J. T., J. Gale, J. B. Conilh De Beyssac, S. S. Sen, A., B. J. R. Philogene, J. D. H. Lambert, R. G. Fulcher, A. Seratos, and J. Mihn. 1992. Role of phenolics in resistance of maize grain to the stored grain insects *Prostephanus truncatus* (Horn) and *Sitophilus zeamais* (Motshc.). *J. Stored Products Resour.* 28 (2): 119-126.
- Assabgui, R. A., L. M. Reid, R. I. Hamilton, and T. Arnason. 1993. Correlation of kernel (E) ferulic acid content of maize with resistance to *Fusarium graminearum*. *Phytopathology* 83: 949-953.
- Bakan, B., A. C. Bily, D. Melcion, B. Cahagnier, C. Regnault-Roger, B. J. R. Philogene, and D. Richard-Molard. 2003.

and Cisneros-Zevallos, 2007). Since there was no correlation with the endosperm phenols (aleurone is part of this structure) in the maize types analyzed, the creamy color can be attributed to the pericarp phenols.

The creamy grain corn will not necessarily produce less white tortillas than those made with white grain since the color of the tortilla is rather related to endosperm phenols (aleurone layer) and its oxidation is favored by the alkali of nixtamalization (Salinas *et al.*, 2007). Furthermore, the positive correlation of the grain color between the FE and germ FI indicates that the whiter maize (higher reflectance values) will have in their germ a higher content of this type of phenols. The grain size, expressed as weight of 100 grains (PCG), showed a positive correlation with pericarp FI and a significantly negative correlation with endosperm FG.

CONCLUSIONS

The content of soluble and insoluble phenols was statistically different among the structures of grain; the FL were the most numerous soluble phenols and the germ was the structure having the highest content. The pericarp had the highest value of insoluble phenols, followed by the germ and endosperm. There was a statistical difference in the content of phenols among the types of maize analyzed.

The pericarp and endosperm sterified phenols showed a positive correlation highly significant with the hectolitic weight, but negative and significant with the flotation index; both variables are related to the hardness of the grain. The degree of creaminess of the grain was negatively correlated with pericarp free phenols.

—End of the English version—

---*---

- Possible role of plant phenolics in the production of trichothecenes by *Fusarium graminearum* strains on different fractions of maize kernels. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2826-2831.
- Bily, A. C., L. M. Reid, H. H. Taylor, D. Johnston, C. Malouin, A. J. Burt, B. Bakan, C. Regnault-Roger, K. P. Pauls, J. T. Arnason, and B. J. R. Philogene. 2003. Dehydrodimers of ferulic acid in maize grain pericarp and aleurone: resistance factors to *Fusarium graminearum*. *Phytopathology* 93 (6): 712-719.
- Bily, A. C., A. J. Burt, A. Ramputh, J. Livesey, C. Regnault-Roger, B. R. Philogene, and J. T. Arnason. 2004. HPLC-PAD-APCI/MS assay of phenylpropanoids in cereals. *Phytochem. Analysis* 15: 9-15.
- De la Parra, C., S. O. Serna Saldívar, and L. R. Hai. 2007. Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *J. Agric. Food Chem.* 55: 4177-4183.
- Del Pozo Insfran, D., C. H. Brenes, S. O. Serna Saldívar, and T. S. Talcott. 2006. Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. *Food Res. Int.* 39: 696-703.
- Gallardo, C., L. Jiménez, and M-T. García-Conesa. 2006. Hydroxycinnamic acid composition and in vitro antioxidant activity of selected grain fractions. *Food Chem.* 99: 455-463.
- García-Lara, S., D. J. Bergvinson, A. J. Burt, A. I. Ramputh, D. M. Díaz-Pontones, and J. T. Arnason. 2004. The role of pericarp cell wall components in maize weevil resistance. *Crop Sci.* 44:1546-1552.
- Kim, D. O., O. K. Chun, Y. J. Kim, H. Y. Moon, and C. Y. Lee. 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.* 51 (22): 6509-6515.
- Lopez-Martinez, L. X., R. M. Oliat-Ros, G. Valerio-Alfaro, C-H. Lee, K. L. Parkin, and H. S. Garcia. 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT- Food Sci. Technol.* 42:1187-1192.
- Makkar, H. P. S. 2002. Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage. Kluwer Academic publishers. Viena, Austria. pp: 49-99.
- Pedreschi, R., and L. Cisneros-Zevallos. 2007. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chem.* 100: 956-963.
- Robbins, J. R. 2003. Phenolic acids in food: An overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2866-2887.
- Salinas, M. Y., J. J. López R., B. G. González F., y G. Vázquez C. 2007. Compuestos fenólicos del grano de maíz y su relación con el oscurecimiento de masa y tortilla. *Agrociencia* 41: 295-305.
- Salinas, M. Y., y G. Vázquez C. 2006. Metodologías de análisis de la calidad nixtamalera-tortillera en maíz. *INIFAP. Folleto Técnico No. 24.* 98 p.
- Salinas, M. Y., F. Martínez B., y J. Gómez H. 1992. Comparación de métodos para medir la dureza del maíz (*Zea mays* L.). *Arch. Latin. Nutr.* 42: 59-63.
- SAS Institute Inc. 1998. SAS/STAT Guide for Personal Computers. Version 8.0. Cary, N.C. USA. 595 p.
- Sen, A., D. Bergvinson, S. S. Miller, J. Atkinson, R. G. Fulcher, and J. T. Arnason. 1994. Distribution and microchemical detection of phenolic acids, flavonoids and phenolic acid amides in maize kernels. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1879-1883.
- Sosulski, F., K. Krygier, and L. Hogge. 1982. Free, sterified, and insoluble-bound phenolic acids. 3. Composition of phenolic acids in cereal and potato flours. *J. Agric. Food Chem.* 30: 337-340.
- Steel, R. G. and J. Torrie, J. 1989. Bioestadística: Principios y Procedimientos. Segunda edición. McGraw-Hill. México. 622 p.
- Watson, S. A. 2003. Description, development, structure and composition of the corn kernel. *in: Corn: White, P. J., and L. A. Johnson (eds). Chemistry and Technology* Second edition. Am. Assoc. Cereal Chemists, St. Paul, MN. pp. 69-106.
- Yu, J., T. Vasanathan, and F. Temelli. 2001. Analysis of phenolic acids in barley by high-performance-liquid-chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4352-4358.
- Zhaohui, Z., and M. H. Moghadasian. 2008. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: a review. *Food Chem.* 109 (4): 691-702.