

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN**  
**INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS DE MAÍZ MORADO (*Zea mays* L.) UTILIZANDO DOS SOLVENTES A DIFERENTES TEMPERATURAS Y TIEMPOS DE EXTRACCIÓN**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO DE:**

**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**PRESENTADA POR LA BACHILLER:**

**EMERITA RAFAEL SANCHÉZ**

**ASESOR**

**MCs. Ing°. DAVID RICARDO URIOL VALVERDE**

**CAJAMARCA - PERÚ**

**2017**

## *DEDICATORIA*

### *A Dios,*

Por guiarme por el buen camino, darme fuerza para seguir a delante y no desmayar, por ser el manantial de vida además de su infinita bondad y amor, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad, ni desfallecer en el intento.

A mis padres José Julián Rafael Gálvez y Edelmira Sánchez Ylatoma quienes me han acompañado durante todo mi trayecto estudiantil y de mi vida, siendo los pilares fundamentales para alcanzar mis metas, por su amor incondicional, sus consejos sus valores por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, gracias a ellos he culminado con éxito una etapa más de mi vida.

A mis hermanos Ofredy y Lidia Aurora, que nuestra unión va más allá de este mundo; Siempre es bueno contar con su apoyo y comprensión, estoy orgullosa de ustedes. No hubiese llegado a este logro si no estuviesen conmigo, ha sido una bendición compartir cosas y aprender cosas juntos,

A Julio César Fustamante por su alegría y su permanente apoyo; tus consejos me ayudan a superarme. Una sonrisa en tu rostro significa mucho para mí. Gracias por ser parte de mi vida

## AGRADECIMIENTO

A mis padres por el esfuerzo que han hecho para que se realicen mis sueños y por ser siempre la fuente de confianza. Gracias por darme todo lo que necesitaba los estaré eternamente agradecida.

A mis hermanos por que juntos me han brindado su apoyo, me enseñaron el valor del esfuerzo para así lograr mis metas.

Al MCs. Ricardo David Uriol Valverde por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección, por ser una persona con grandes valores y conocimientos. Gracias por contar con su apoyo y sugerencias.

Mil gracias a mi Universidad y a todas personas que laboran en ella, porque durante este proceso de aprendizaje han sido los mejores.

Gracias a todos los docentes de la Escuela académico profesional de ingeniería en industrias alimentarias por los conocimientos compartidos y porque fueron verdadero ejemplo de entrega y dedicación.

## RESUMEN

Esta investigación se desarrolló en el laboratorio de Química Ambiental edificio (1E – 207) de la Universidad Nacional de Cajamarca, utilizando maíz morado de la variedad Canteño, de mazorca larga y granos grandes en hileras muy bien definidas. El objetivo fue determinar la influencia del solvente, temperatura y tiempo de extracción en la cuantificación de antocianinas totales de las corontas de maíz morado (*Zea mays* L.). La extracción se hizo por destilación a reflujo y el extracto se concentró al vacío. Asimismo, la extracción se realizó utilizando como solventes agua destilada y solución de etanol al 20 % v/v, a las temperaturas de 50 °C y 70 °C y tiempos de 30 min y 60 min, mientras que la concentración se llevó a cabo a la temperatura de 30 °C. Las absorbancias de las muestras se leyeron en un espectrofotómetro UV-Vis a 510 y 700 nm de longitud de onda, las cuales sirvieron para calcular la concentración de antocianinas totales en cada muestra expresándola en mg/g. La mayor concentración de antocianinas totales se obtuvo con el solvente etanol al 20 % a una temperatura comprendida entre 50 °C y un tiempo de extracción de 60 minutos, siendo el valor obtenido de 8,74 mg de antocianinas totales con una desviación estándar de 1,42.

**Palabras clave:** Antocianinas, buffer, coronta, pH diferencial, vacío.

## ABSTRAT

This research was carried out in the Environmental Chemistry laboratory of the National University of Cajamarca (1E -207). In the study, purple corn from the Canteño variety of a long corncob with large grains, was used; in very well defined rows. The aim of this research was to determine the influence of the solvent, temperature, and the time of extraction, on the quantification of the total anthocyanins of the purple corn (*Zea mays* L.). The extraction was conducted by reflux distillation and the extract was concentrated under vacuum. Moreover, the extraction was done by using distilled water and ethanol solution at 20% v/v as solvents, at temperatures of 50 °C and 70 °C, and a time of 30 and 60 minutes; whereas the concentration was carried out at 30 °C temperature. The absorbance samples were read on a *UV-Vis* spectrophotometer, at 510 and 700 nm wavelength and they were used to calculate the concentration of total anthocyanins in each sample. The measurement was expressed in mg / g. The highest concentration of total anthocyanins was obtained with the ethanol solvent at 20%, at a temperature of 50 °C, and an extraction time of 60 minutes. The value obtained was 8.74 mg of total anthocyanins, with a standard deviation of 1, 42.

**Keywords:** Anthocyanins, buffer, corncob, differential pH, vacuum.

# ÍNDICE

## PÁGINA

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

### **CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN** 11

- 1. Problema de Investigación 12
  - 1.1 Planteamiento del problema 12
  - 1.2 Formulación del problema 13
  - 1.3 Objetivos 13
  - 1.4 Hipótesis de la investigación 13

### **CAPÍTULO II: REVISIÓN DE LITERATURA** 14

- 2. Antecedentes de la investigación 14
  - 2.1 Cultivo del maíz morado (*Zea mays* L.) 16
    - 2.1.1 Origen y distribución del maíz 16
    - 2.1.2 Color del maíz morado 17
    - 2.1.3 Variedades del maíz morado 17
    - 2.1.4 Clasificación taxonómica 18
    - 2.1.5 Composición química del maíz morado 19
      - 2.1.5.1 Coronta del maíz morado 19
    - 2.1.6 Usos y beneficios del maíz morado 20
      - 2.1.6.1 Usos 20
      - 2.1.6.2 Beneficios 21
  - 2.2 Colorantes 22
    - 2.2.1 Clasificación de los colorantes 22
      - 2.2.1.1 Colorantes naturales 23
      - 2.2.1.2 Colorantes sintéticos 23

2.2.2	Colorante del maíz morado	23
2.2.3	Degradación del color	24
2.3	Antocianinas	25
2.3.1	Estructura de las antocianinas	26
2.3.2	Antocianinas del maíz morado	27
2.3.3	Actividad biológica de las antocianinas	28
2.3.4	Investigaciones científicas aplicadas en ratas de laboratorio	28
2.3.5	Factores que afectan la estructura de las antocianinas	29
a)	Efecto del pH	30
b)	Efecto de la temperatura	31
c)	Efecto del oxígeno y peróxido de hidrógeno	33
d)	Efecto de la luz	33
e)	Efecto de los azúcares	34
f)	Efecto de las enzimas	34
g)	Efecto del dióxido de azufre	34
2.3.6	Extracción de las antocianinas	35
a)	Determinación del contenido de antocianinas	35
2.3.7	Factores que influyen en la extracción	36
a)	Tamaño de partícula	36
b)	Solvente	37
c)	Tiempo de extracción	37
2.3.8	Solventes para extracción	37
a)	Agua destilada	37
b)	Etanol	38
c)	Metanol	38
<b>CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS</b>		<b>39</b>
3.	UBICACIÓN DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	39
3.1	Materia prima	39
3.2	Materiales	39
a)	Material experimental	39

b) Equipos	40
c) Reactivos	40
d) Otros materiales	40
3.3 Metodología	41
3.3.1 Tipo de metodología	41
3.3.2 Diseño experimental	41
3.3.3 Técnicas de procesamiento de análisis de datos	42
3.3.4 Extracción y cuantificación de antocianinas de coronta de maíz morado – método del pH diferencial	43
3.3.5 Cuantificación de antocianinas de coronta de maíz morado - método del pH diferencial	46
3.3.6 Trabajo de gabinete	47
a) Tipo de diseño	47
b) Análisis estadístico	47
<b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	49
4. CARACTERIZACIÓN DE LA CORONTA DEL MAÍZ MORADO	49
A. Determinación de humedad	49
4.1 Determinación de la concentración de antocianinas	50
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	61
5.1 Conclusiones	61
5.2 Recomendaciones	61
<b>CAPÍTULO VI: BIBLIOGRAFÍA</b>	62
<b>ANEXOS</b>	72



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>PÁGINA</b>
<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica del maíz morado	18
<b>Tabla 2.</b> Composición química del grano y la coronta del maíz morado (Variedad morado canteño).	19
<b>Tabla 3.</b> Composición química de la coronta del maíz morado	20
<b>Tabla 4.</b> Porcentaje de antocianinas en el grano y la coronta del maíz morado	21
<b>Tabla 5.</b> Principales radicales de las antocianinas	27
<b>Tabla 6.</b> Niveles de los factores y condiciones en el proceso para la extracción de antocianinas totales de la coronta de maíz morado	41
<b>Tabla 7.</b> Tratamientos para la determinación de las condiciones apropiadas de proceso para la extracción de antocianinas totales de la coronta de maíz morado	42
<b>Tabla 8.</b> Factores para la obtención de antocianinas totales de la coronta de maíz morado	47
<b>Tabla 9.</b> Datos para determinar la humedad de coronta de maíz morado	49
<b>Tabla 10.</b> Arreglo factorial para la concentración de antocianinas en mg/g de la coronta de maíz morado	50
<b>Tabla 11.</b> Concentración del contenido de antocianinas totales de la coronta de maíz morado	51
<b>Tabla 12.</b> ANOVA de la extracción de antocianinas totales en los factores e interacciones del modelo experimental mg/g	53
<b>Tabla 13.</b> Comparación de medias de los solventes	54
<b>Tabla 14.</b> Contraste de igualdad de medias de los solventes	55
<b>Tabla 15.</b> Validación de los supuestos del modelo	56
<b>Tabla 16.</b> Homogeneidad de varianzas de los solventes	57
<b>Tabla 17.</b> Tests t de Dunnett para antocianinas totales	59
<b>Tabla 18.</b> Prueba de Tukey para antocianinas totales	59

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>PÁGINA</b>
<b>Figura 1.</b> Clasificación de los colores naturales	22
<b>Figura 2.</b> Muestra el maíz morado	23
<b>Figura 3.</b> Cation flavilo	26
<b>Figura 4.</b> Efecto del pH en la estructura de las antocianinas	31
<b>Figura 5.</b> Forma de equilibrio de las antocianinas en solución acuosa	32
<b>Figura 6.</b> Degradación de antocianina monoglucósido a pH 3,7 acelerada por el calor	33
<b>Figura 7.</b> Flujograma de operaciones para la extracción de antocianinas totales de la coronta de maíz morado	43
<b>Figura 8.</b> Flujograma de operaciones para la cuantificación de antocianinas totales de la coronta de maíz morado	46
<b>Figura 9.</b> Gráfica de probabilidad normal para antocianinas totales mg/g	57
<b>Figura 10.</b> Gráfica de caja y bigotes de solvente según rendimiento de antocianinas totales de la coronta de maíz morado	58

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La presente investigación estuvo dirigida a determinar la concentración de antocianinas de la coronta de maíz morado, dada la importancia que tienen las antocianinas por su carácter antioxidante que permite utilizarlas como un aditivo natural en la industria alimentaria.

Los colorantes naturales presentan demanda considerable en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica para reemplazar a los colorantes sintéticos, debido a su naturaleza química, inocuidad y funcionalidad. Entre estos colorantes naturales se encuentran las antocianinas que se distribuyen ampliamente en el reino vegetal y están presentes en raíces, tallos, hojas, flores y frutos de las plantas superiores. El maíz morado (*Zea mays* L.), es una variedad pigmentada de color morado, constituido en un 85 % por grano y 15 % de coronta, este fruto contiene el pigmento denominado antocianinas, que se encuentra en mayor cantidad en la coronta y en menor proporción en el pericarpio (cáscara) (Blok *et al.* 1992).

El maíz morado es una variedad pigmentada de *Zea mays* L., cuyos granos y coronta presentan color morado. Investigaciones recientes han revelado la presencia de compuestos tales como: un dímero de cianidina, derivados mono y diglicosidados de cianidina, pelargonidina, peonidina y otros fenólicos (Williams y Grayer 2004). La estructura de las antocianinas, determinan una mayor estabilidad frente a cambios de pH, temperatura y exposición a la luz, debido a procesos de copigmentación y asociación intermolecular e intramolecular que se desarrollan en el medio, convirtiendo a estos compuestos en fuentes potenciales de colorantes naturales, sustancias activas de alimentos funcionales, nutraceuticos y medicamentos (Martínez *et al.* 2002).

## 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 Planteamiento del problema

El maíz morado es un conjunto de variedades de *Zea mays* L., que poseen un fruto de color morado creciendo en los Andes del Perú, Bolivia y Argentina, dispersos y cultivados también en las costas del territorio peruano siendo el maíz un cereal originario de América, cuya importancia en la alimentación humana ha permitido el desarrollo de las culturas peruanas (Manrique 1997). El Perú goza de condiciones geográficas y climáticas propicias para el cultivo de maíz morado y es uno de los principales productores y exportadores mundiales de maíz morado (Chichizola *et al.* 2007). Su cultivo se realiza principalmente en los departamentos de Cajamarca, Ayacucho, Ancash, Lima y Arequipa, (Pio 1997 y Brak 1999). Dentro de su composición se encuentra las antocianinas, pigmento natural muy requerido en la industria alimentaria, que en los últimos años ha generado un gran interés, sobre todo en los países desarrollados, donde se restringe el uso de colorantes artificiales o sintéticos, (Sevilla y Valdez 1985). Recientes investigaciones informan sobre la existencia de cianidina-3- $\beta$ -glucósido en el maíz morado, como la principal antocianina (flavonoide) contenida en este fruto. Otras antocianinas identificadas fueron cianidina-3-(6"-malonil glucósido) y peonidina-3-glucósido (Yolanda *et al.* 2013). En relación a la extracción, el método usual de extracción es la extracción sólido-líquido. El carácter polar de la molécula de antocianina permite su solubilidad en variados solventes, tales como alcoholes, acetona y agua. Su estabilidad es afectada fácilmente por modificaciones estructurales con grupos hidroxilo, metoxilo, glucósidos y grupos acilos, además de factores como la temperatura y la luz (Pereira *et al.* 2010 y Garzón 2008). El método de extracción debe ser el más adecuado para cada aplicación concreta. Las condiciones de extracción, tales como relación sólido-líquido, temperatura, tiempo, tipo de disolvente y concentración de disolvente influyen en la estabilidad de las antocianinas, así como también en la concentración de antocianinas extraídas (Bridgers *et al.* 2010).

Para determinar la concentración de antocianinas totales en la coronta de maíz morado se utilizó el método del pH diferencial (Giusti y Wroslad 2001).

## **1.1 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿A qué temperatura y tiempo de extracción se obtiene mayor concentración de antocianinas de la coronta de maíz morado (*Zea mays* L.), ya sea utilizando etanol al 20 % o agua destilada como solvente?

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.2.1 Objetivo general**

Determinar la concentración de antocianinas de la coronta de maíz morado (*Zea mays* L.) utilizando etanol al 20 % y agua destilada como solventes, a diferentes temperaturas y tiempos de extracción.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

- Determinar la concentración de antocianinas de la coronta de maíz morado extraídas utilizando etanol al 20 % como solvente, temperaturas de 50 y 70 °C y tiempos de extracción de 30 y 60 minutos.
- Determinar la concentración de antocianinas de la coronta de maíz morado extraídas utilizando agua destilada como solvente, temperaturas de 50 y 70 °C y tiempos de extracción de 30 y 60 minutos.

## **1.3 HIPÓTESIS**

A mayor temperatura y mayor tiempo se extrae mayor cantidad de antocianinas de la coronta de maíz morado (*Zea mays* L.), ya sea utilizando etanol al 20 % o agua destilada como solvente.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Araujo, citado por Martínez (2015), Estudio de la extracción del colorante del maíz morado (*Zea mays* L.) con el uso de enzima. Para evaluar los principales factores que influyen en la extracción de las antocianinas de Maíz Morado (*Zea mays* L.), determina el contenido de estas en el grano y coronta y la relación en peso de cada uno de ellos. En la que determina que el grano representa el 79,21 % y la coronta 20,79 % en peso del maíz morado. Tomando en cuenta a estos rendimientos se tiene que por cada 100 g de maíz morado entero se obtiene 180,75 mg de antocianina a partir del grano y 699,58 mg a partir de coronta molida, por estos resultados se decidió extraer la antocianina a partir de la coronta. Los parámetros óptimos utilizados fueron: tiempo de maceración 12 horas, temperatura ambiente (20 °C), pH 2 del solvente, relación coronta solvente 1/1. Luego de la maceración realizó una molienda húmeda. En segunda etapa estudia el uso de enzima (complejo enzimático), siendo el complejo enzimático Extrazyme (celulasa, Bglucanasa, hemicelulasa, pectinasa y xylanas) que permite aumentar en 24,3 % dicha extracción con respecto al método convencional sin uso de enzima. El índice de degradación (ID) de antocianinas nos indica la eficiencia de la aplicación de los parámetros.

Fernández, citado por Medina (2012), Extracción y pre-purificación de antocianinas de maíz morado: "...En una primera etapa se estudió la influencia de los parámetros de maceración de la coronta y la combinación de maceración y calentamiento en el rendimiento de la extracción de antocianinas. Las condiciones óptimas para la extracción de antocianinas de la coronta fueron: tamaño de partícula 2 mm, solvente de maceración agua con 0,1 % de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (pH=2), relación materia prima/solvente de maceración 1/12, 12 horas de maceración a 20 °C y extracción en tres etapas a 80 °C por 30 minutos cada una de ellas. En una segunda etapa, se estudió la purificación del extracto, mediante precipitación con acetato de plomo básico y resinas de intercambio

iónico: Amberlita IRC -50 y CG-50 (intercambiadores catiónicos débiles) y Tulsion T-42 (intercambiador catiónico fuerte). Se obtuvieron buenos resultados mediante la precipitación con acetato de plomo básico a pH 6,0, recuperándose 90 % de antocianinas; cuando la precipitación se realizó a pH ácido (2 a 4) los rendimientos fueron bajos mientras que a pH alcalino (7 a 9) éstos fueron altos, pero con índices de degradación elevados”.

De acuerdo con Gorriti *et al.* (2009), Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (*Zea mays* L.): Método de extracción, evaluó los extractos de coronta de maíz morado, Las extracciones se realizaron en soluciones etanólicas al 20 % y pH 2 acondicionadas según un diseño factorial con los factores temperatura y tiempo ambos en 4 niveles. Los resultados indican antocianinas entre 11,567 y 37,127 mg/g de coronta, fenoles totales expresados como GAE entre 23,426 y 76,962 mg GAE/g de coronta, y DPPH remanente entre los 17,06 y 68,80 %. El análisis de regresión lineal indica dependencias altamente significativas entre la actividad antioxidante y fenoles totales ( $r^2= 0,9974$ ).

De acuerdo a Gorriti *et al.* (2009), Extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays* L. “Maíz morado”. Investigaron las condiciones óptimas de extracción de antocianinas de las corontas del maíz morado mediante el empleo de un diseño completo al azar con arreglo factorial 2A3B4C4D. Los factores estudiados fueron pH, solvente (agua destilada y solución etanolica), tiempo y temperatura. Los resultados máximos mostraron antocianinas entre 31,779 para el solvente agua destilada y 47,984 mg/g de coronta para el solvente etanol al 20 %, determinados según el método de pH diferencial. Se presenta el análisis de los cuatro factores.

Quiñones y Barrera (2015), Composición de antocianinas monoméricas de cinco fenotipos de maíz coloreado (*Zea mays* L.). En Colombia, el maíz coloreado es poco conocido y escasamente aprovechado, el cual si ha sido investigado en otros países. Como parte de los estudios del aprovechamiento de materiales vegetales nativos, cinco accesiones locales de maíz coloreado, provenientes de la región cundiboyacense

colombiana, fueron recuperadas y cultivadas en condiciones agroecológicas. Se caracterizaron los extractos metanólicos obtenidos de sus granos, evaluando el contenido de antocianinas totales y la capacidad captadora de radicales DPPH, cuyos valores estuvieron entre 21-168 mg eq cianidina 3-glucósido/kg grano seco y 195- 412  $\mu$ M Trolox/g grano seco, respectivamente. Se determinaron los perfiles de antocianinas de cada fenotipo mediante HPLC-DAD-MS. Se identificaron tentativamente nueve antocianinas, cuatro de ellas presentes en todos los fenotipos. Tales perfiles permitieron realizar una discriminación de los cinco fenotipos a partir de análisis multivariado. La información estructural se apoyó en el aislamiento y elucidación de cuatro de las antocianinas a partir del extracto enriquecido del fenotipo púrpura.

## **2.1 Cultivo del maíz morado (*Zea mays* L.)**

### **2.1.1 Origen y distribución del maíz**

El maíz morado es un conjunto de variedades de *Zea mays* L. que poseen un fruto (infrutescencia) de color morado. Crecen en los Andes del Perú, Bolivia y Argentina, dispersos y cultivados también en las costas del territorio peruano, desde mucho antes de los Incas (Sevilla y Valdez 1985).

Desde la época precolombina, es el cereal de mayor importancia como producto básico en la alimentación, como originario del continente americano. En Perú, el maíz morado se desarrolla entre los 1 200 a más de 4 000 msnm con muchos contrastes debido a los variados microclimas que se presentan en la cordillera de los Andes (Sevilla y Valdez 1985).

Dentro de su composición se encuentra las antocianinas, pigmento natural muy requerida en la industria alimentaria, que en los últimos años ha generado un gran interés, sobre todo en los países desarrollados, donde se restringe el uso de colorantes artificiales o sintéticos (Sevilla y Valdez 1985).



### **2.1.2 Color del maíz morado**

La coloración morada que presentan las plantas, corontas y pericarpio de los granos de maíz, son el resultado del complejo trabajo realizado por muchos genes ubicados en diferentes cromosomas, lo que da como resultado la formación de pigmentos antociánicos de diferente color, los mismos que al combinarse forman el color morado (combinación de pigmentos rojos y azules) (Manrique 2000).

### **2.1.3 Variedades de maíz morado**

Hay diferentes variedades de maíz morado, todas ellas provienen de una línea ancestral denominada “Kculli” que todavía se cultiva en el Perú. Las formas más típicas están casi extinguidas. La línea Kculli es muy antigua, restos arqueológicos con mazorcas típicas de esta línea se han encontrado en Ica, Paracas, Nazca y otros lugares de la costa central cuya antigüedad se estima por lo menos en 2 500 años. También se encuentran mazorcas moldeadas, con las características de la línea, en la cerámica Mochica (Sevilla y Valdez 1985).

En el Perú existen muchas variedades de maíz morado. A continuación, se describen a las principales (Manrique 1995):

- **Cuzco Morado:** Relacionado a la raza Cuzco gigante. Es tardía, de granos grandes, dispuestos en mazorcas con hileras muy bien definidas. Se le cultiva en diferentes lugares en zonas intermedias de altitud en los departamentos de Cuzco y Apurímac.
- **Morado Canteño:** Muy similar a la raza Cuzco morado, aunque de menores dimensiones. Se cultiva especialmente en las partes más altas del valle del Chillón, en el departamento de Lima., hasta los 2 500 msnm. Es la variedad más consumida en los mercados de Lima.
- **Morado de Caraz:** Derivada de las razas Ancashino y Alazán. Recibe este nombre porque se le cultiva en la localidad de Caraz, en el Callejón de Huaylas, en

extensiones relativamente grandes. Es de precocidad intermedia y tiene la ventaja que puede adaptarse también a la costa. Entre las variedades tradicionales es la que muestra mayor capacidad de rendimiento y la que presenta la tusa más pigmentada.

- Arequipeño: Similar al Cuzco Morado, pero más pequeño. La tusa no tiene mucha coloración. Es bastante precoz.
- Negro de Junín: Variedad precoz de grano grande, negro, dispuesto irregularmente en una mazorca corta y redondeada. Se le encuentra en la sierra, centro y sur.
- Variedad mejorada: La única que se viene produciendo es la PMV-581, desarrollado por el Programa de Maíz de la UNALM.

#### 2.1.4 Clasificación taxonómica

En la Tabla 1 se presenta la clasificación taxonómica del maíz morado.

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica del maíz morado

<b>REINO</b>	<b>VEGETAL</b>
División:	Tracheophyta
Clase:	Angiosperma
Orden:	Gramideas
Familia:	Gramideae
Género:	<i>Zea</i>
Especie:	<i>Mays</i>
Nombre científico:	<i>Zea Mays</i> L
Fuente: Terranova (1995).	

## 2.1.5 Composición química del maíz morado

Los componentes químicos en el maíz morado son: Ácido salicílico, grasas, resinas, saponinas, sales de potasio y sodio, azufre y fósforo, y sus compuestos fenólicos (Arroyo *et al.* 2010). El detalle de la composición del grano y coronta de maíz morado se presenta en las Tablas 2 y 3:

**Tabla 2.** Composición química del grano y la coronta del maíz morado (variedad morado canteño)

COMPONENTE	PORCENTAJE	
	Grano	Coronta
Humedad	11,4	11,2
Proteínas	6,7	3,74
Grasa	1,5	0,32
Fibra	1,8	24,01
Cenizas	1,7	3,31
Carbohidratos	76,9	57,42
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Fuente: Collazos (1962), mencionado por Araujo (1995).

### 2.1.5.1 Coronta del maíz morado

Denominada también carozo, olote o mazorca. Espiga en que se crían los frutos muy juntos y dispuestos alrededor de un eje. En la coronta se encuentran un mayor porcentaje de antocianinas que en la cáscara del grano del maíz morado (Torgils *et al.* 2001).

**Tabla 3.** Composición química de la coronta del maíz morado

<b>COMPONENTE</b>	<b>PORCENTAJE</b>
Humedad	11,2
Proteína	3,74
Grasa	0,32
Fibra	24,01
Carbohidratos	57,44

Fuente: Delgado (2000).

## **2.1.6 Usos y beneficios del maíz morado**

### **2.1.6.1 Usos**

Según los datos recogidos por diversos historiadores, se sabe que el maíz morado era empleado en la alimentación como bebida, con él se elaboraba la “chicha” que viene a ser una bebida fermentada. El uso de su extracto sufrió un cambio con el tiempo así es como en la colonia, por influencia de la repostería española y por el ingenio de las amas de casa criollas, es por ello, que apareció la “mazamorra” y la “chicha morada” que tenían los sabores más exquisitos (Fernández 1995).

Actualmente el maíz morado es usado a nivel casero, como colorante natural y saborizante en bebidas y otros preparados alimenticios como la “mazamorra morada”. Las antocianinas extraídas de maíz morado se utilizan en la elaboración de yogurt (Salinas *et al.* 2005).

La antocianina proveniente del maíz morado es un tipo de flavonoide complejo. Es un pigmento procesado y purificado que se obtiene de los granos, del polvillo y principalmente de la coronta (Araujo 1995).

**Tabla 4.** Porcentaje de antocianinas en el grano y la coronta del maíz morado

<b>MUESTRA</b>	<b>ANTOCIANINAS (mg de antocianinas/100 g)</b>	<b>RENDIMIENTO (%)</b>
Coronta	610,998	79,47
Grano	51,998	6,75
Grano molido	175,841	20,53

Fuente: Araujo (1995)

### **2.1.6.2 Beneficios**

El consumo de maíz morado está asociado indirectamente con beneficios a la salud, debido a la presencia de compuestos antioxidantes, los cuales retrasan el daño causado por los radicales libres, con actividad anticancerígena, antineurodegenerativa y antiinflamatoria (Kraft 2008).

Estudios médicos han demostrado que pacientes con arteroesclerosis presentan contenidos bajos de antioxidantes al compararlos con individuos sanos (Durak *et al.* 2001), (Ching *et al.* 2002) encontraron que, al incrementar los niveles de antioxidantes en sangre, los riesgos de presentar cáncer de mama se ven disminuidos (Olsson *et al.* 2004) evaluaron el efecto de antocianinas, como la cianidina-3- $\beta$ -glucósido, la proliferación de células de cáncer de colon y de mama, encontrando actividad anticancerígena (Joseph *et al.* 2003) encontraron que el consumo de suplementos antioxidantes revierte los efectos degenerativos del envejecimiento. Una gran variedad de fitoquímicos es responsable de estos beneficios del maíz morado, entre ellos los compuestos fenólicos. Un equipo de investigación de la universidad japonesa Doshisha, Kyoto, comprobó que el extracto de maíz morado incrementa la actividad de un gen que regula la función de las células grasas el cual previene las enfermedades cardiacas, obesidad y diabetes. Asimismo, según la revista *Nutraceuticals World*, es un protector de la retina y estimulador de la circulación sanguínea (Risco 2007).

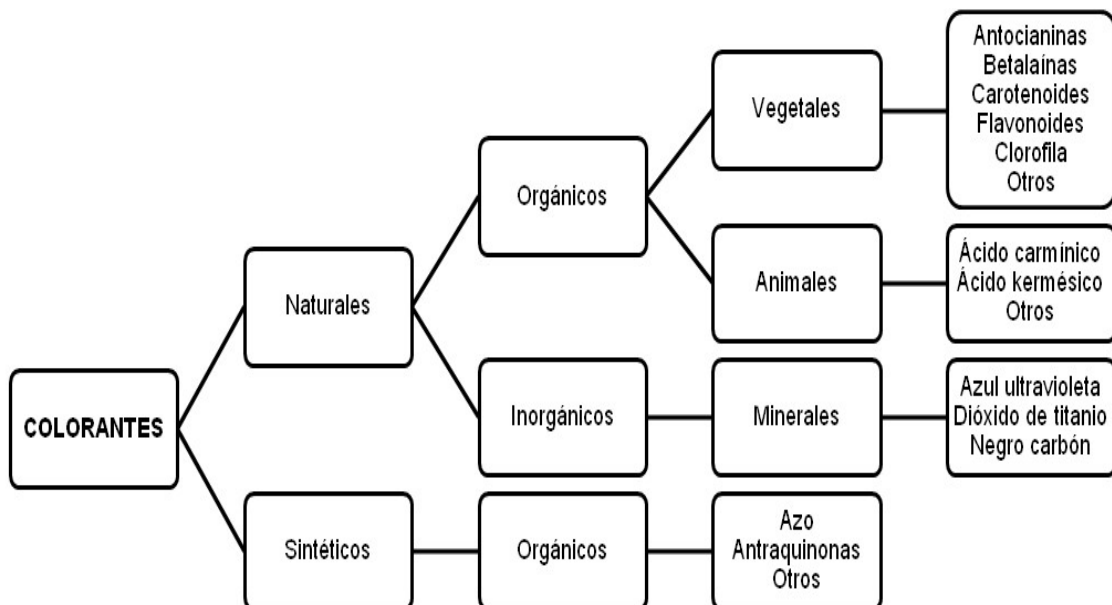
## 2.2 Colorantes

El color y la apariencia son quizás los atributos de calidad más importantes de los alimentos. Debido a nuestra capacidad y facilidad para percibir estas características, son las primeras evaluadas por el consumidor al adquirir los alimentos (Fennema 2000).

La industria alimentaria con el objetivo de obtener productos que presenten los colores propios de los alimentos frescos o para presentar productos más llamativos para los consumidores utiliza diversos colorantes naturales o artificiales (Yúfera 1995).

### 2.2.1 Clasificación de los colorantes

Existen diversas maneras de clasificar a los colorantes, con base en su naturaleza u origen (naturales o artificiales), por su grupo cromóforo (radical que le contiene un determinado color (Quintero *et al.* 2002).



**Figura 1.** Clasificación de los colores naturales (García *et al.* 2004)

### 2.2.1.1 Colorantes naturales

Los pigmentos naturales son generados por microorganismos, vegetales, animales o minerales. Son aquellos obtenidos de fuentes presentes en la naturaleza, usados para impartir color a algunos productos. Son sujetos a las mismas pruebas de calidad y seguridad toxicológica que los sintéticos (Badui 2006).

### 2.2.1.2 Colorantes sintéticos

Son aquellos colorantes obtenidos mediante un proceso químico industrial y existen una gran cantidad de ellos; sin embargo solo algunos están probados para su uso en alimentos en relación con la toxicidad o inocuidad de cada uno de ellos; ejemplos de estos compuestos son la tartracina, el amarillo-anaranjado S, amarillo de quinoleina (Badui 1993).

### 2.2.2 Colorante del maíz morado

El maíz morado contiene seis importantes antocianinas: pelargonidina-3-O- $\beta$ -D-glucósido, peonidina-3-O- $\beta$ -D-glucósido, cianidina-3-O- $\beta$ -D-(6- malonilglucósido), pelargonidina-3-O- $\beta$ -D-(6- malonilglucósido) y peonidina-3-O- $\beta$ -D-(6-malonilglucósido) las que dan el color característico a esta especie vegetal (Aoki *et al.* 2002).

La antocianina que se encuentra en mayor proporción es la cianidina-3-  $\beta$  -glucósido, la misma que es un importante antioxidante (Cuevas *et al.* 2008).



**Figura 2.** Muestra del maíz morado. (Risco *et al.* 2007)

El colorante obtenido del maíz morado fue aprobado en Japón y figura en la “lista existente para aditivos alimentarios”. Se usa para la elaboración de bebidas, gelatinas, caramelos, etc (Aoki *et al.* 2002).

### **2.2.3 Degradación del color**

Los pigmentos enfrentan un problema, que es la degradación del color, la cual se puede presentar como consecuencia de la exposición a la luz (foto degradación), por acción de la temperatura efecto conocido como oxidación térmica o descomposición térmica. Cuando los alimentos se someten a elevadas temperaturas, el color de los mismos cambia entre tonalidades que van desde un ligero amarillo hasta un intenso café, debido a las reacciones de caramelización que se produce en su interior (Badui 1988).

La degradación de los pigmentos se debe especialmente a reacciones de oxidación las mismas que pueden ser o no enzimáticas. Los colorantes naturales pueden oxidarse estar en contacto con el oxígeno atmosférico, la luz, el calor. El efecto de la temperatura es muy importante, tanto que en ausencia de agua (productos deshidratados) como en su presencia (productos hidratados), la temperatura siempre acelera la velocidad de la reacción de degradación (Fennema 2000).

La acción de la luz en los colorantes produce su ruptura y como consecuencia de esto se forman compuestos incoloros de bajo peso molecular. Estas reacciones presentan unos efectos significativos en la industria de alimentos, debido a que los colorantes pierden su color característico. Los cambios de pH ya sean a pHs ácidos o alcalinos, provocan isomerizaciones de ciertos dobles enlaces, que deben considerarse en la manipulación de pigmentos (Schwartz 1998).



### 2.3 Antocianinas

Las antocianinas (del griego anthos, flor y kyanos, azul), son el grupo más importante de pigmentos solubles al agua visibles para el ojo humano, forman parte de la familia de los polifenoles y se definen como flavonoides fenólicos (Mazza 1993).

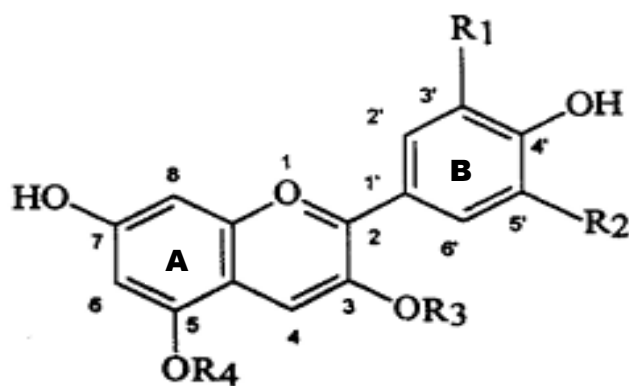
Los colores rosa, rojo, azul, malva y violeta de las flores, frutas y verduras se deben a la presencia de estos pigmentos localizándose principalmente en la piel de frutas como manzanas, peras, uvas, zarzamoras, ciruelas, de flores como la Jamaica, rosas y verduras como col morada y maíz morado siendo a diferencia de color entre las frutas, flores y verduras depende de la naturaleza y concentración de antocianinas para ello intervienen factores adicionales que afectan el color como el pH de la célula, el efecto de copigmentación determinado por la presencia de otros flavonoides, temperatura, luz (Wrosstad y Giusti 2003).

Las antocianinas son un grupo de pigmentos de color rojo, hidrosolubles, ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Fennema 1993). Químicamente las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace  $\beta$ -glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ion flavilio, también llamado 2-fenilbenzopirilio (Badui 2006).

Se conocen aproximadamente 20 antocianidinas, las más importantes son pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez. Es muy común que una misma antocianidina interaccione con más de un carbohidrato para formar diferentes antocianinas (Badui 2006).

### 2.3.1 Estructura de las antocianinas

La estructura básica de las antocianinas es el 2-fenilbenzopirilio de la sal de flavilio, las antocianinas existen como glucósidos de polihidroxi y/o polimetoxiderivados de la sal (Fennema, 2000) como se muestra en la figura 3, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es una aglicona a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico; por lo general están glucosidados en la posición 3 y 5 (Badui 2006).



**Figura 3.** El catión flavilio,  $R_1$  y  $R_2 = -H, -OH,$  o  $OCH_3, R_3 = -glicosilo, R_4 = -H$  o  $-glicosilo.$  (Fennema 2000).

Variaciones estructurales del anillo B producen las seis antocianidinas conocidas (Aguilera *et al.* 2011).

En la Tabla 5, se presentan los radicales ( $R_1$  y  $R_2$ ) anteriormente mostrados en la Figura 3.

**Tabla 5.** Principales radicales de las antocianinas

<b>AGLICONA</b>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>
Petunidina	OH	OCH <sub>3</sub>
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
Pelargonidina	H	H
Delfinidina	OH	OH
Cianidina	OH	H
Peonidina	OCH <sub>3</sub>	H

Fuente: Durst y Wrolstad (2001).

Las antocianinas pueden clasificarse en base a la cantidad de moléculas de azúcar que contienen, se divide en varios tipos: los monósidos sólo tienen una molécula de azúcar, generalmente en posición 3, rara vez en la posición 5 ó 7 y nunca en otras posiciones, los biósidos contienen 2 azúcares, ambos en posición 3, o uno en 3 y el otro en 5 y muy pocas veces en 3 y en 7, los triósidos contienen 3 azúcares, generalmente dos en posición 3 y uno en posición 5, con frecuencia tres en una estructura ramificada o lineal en la posición 7, las diferentes posiciones antes mencionadas se puede ver en la Figura 3 (Fennema 2000).

### **2.3.2 Antocianinas del maíz morado**

Guillén *et al.* (2014), reporta que la cáscara del maíz morado contiene aproximadamente 10 veces más antocianinas que otras plantas, siendo más frecuentes encontrarlas en flores y frutos, estas estructuras son las que contribuyen a los brillantes colores rojos, azules y morados de estos tejidos vegetales. Podemos anticipar la producción industrial de antocianina, porque la cáscara de maíz morado contiene 10 % de antocianinas.

En la estructura química de las semillas y las corontas del maíz negro se ha encontrado en forma predominante, el compuesto cianidina-3- $\beta$ -glucósido (Arroyo *et al.* 2010).

El maíz morado se utiliza como alimento y colorante desde tiempos ancestrales, y se caracteriza por presentar antocianinas del tipo cianidina-3- $\beta$ -glucósido, pelargonidina-3-glucósido, y peonidina-3-O-glucósido a nivel de coronta con bajos contenidos de sólidos solubles, lo que facilita su uso a nivel industrial (Escribano *et al.* 2004 y Pascual *et al.* 2002).

### **2.3.3 Actividad biológica de las antocianinas**

Las antocianinas son interesantes por dos razones. La primera por su impacto sobre las características sensoriales de los alimentos, las cuales pueden influenciar su comportamiento tecnológico durante el procesamiento de alimentos, y la segunda, por su implicación en la salud humana a través de diferentes vías (De Pascual y Sánchez 2008).

El interés en los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas. Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas y ejercen efectos terapéuticos conocidos que influyen en la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante. Estudios con fracciones de antocianinas han demostrado que estas son efectivas para atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas (Timberlake 2009).

### **2.3.4 Investigaciones científicas de antocianinas aplicadas en ratas de laboratorio**

Una investigación científica realizada por (Pedreschi y Cisneros Zevallos 2006), comprobó que las fracciones fenólicas obtenidas a partir de maíz morado tienen propiedades antimutagénicas. Este estudio evaluó si las antocianinas de maíz morado retardan la hiperglucemia crónica; el extracto de maíz morado rico en antocianinas

suprimió la proliferación de células colorrectales en humanos y ejerce una interacción aditiva con los otros compuestos fenólicos funcionales (Jing y Giusti, (2007), Jing *et al.* (2008), Arroyo *et al.* (2010) describieron el efecto hipotensor de un extracto de *Zea mays* L. (maíz morado) en ratas hipertensas. Esta reducción de la presión arterial fue explicada por la actividad vasodilatadora, dependiente de óxido nítrico, de dicho extracto. No obstante, diferentes extractos de maíz morado contienen diferentes moléculas adicionales (Arroyo *et al.* 2010) que podrían disminuir o incrementar el efecto vasodilatador de las antocianinas. El mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo como resultado del consumo de antocianinas. Estos efectos sugieren que las antocianinas ostentan propiedades funcionales interesantes, y podría representar una prometedora clase de compuestos útiles en el tratamiento de patologías (Moreno 2013).

### **2.3.5 Factores que afectan la estructura de las antocianinas**

A pesar de las ventajas que las antocianinas ofrecen como posibles sustitutos de los colorantes artificiales, su incorporación a matrices alimenticias o productos farmacéuticos y cosméticos son limitadas debido a su baja estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento. Factores como su misma estructura química, pH, concentración, temperatura, presencia de oxígeno y peróxido de hidrógeno, y actividad de agua de la matriz determinan la estabilidad del pigmento. (Wroslad 2000), (Cevallos Casals y Cisneros Zeballos 2004).

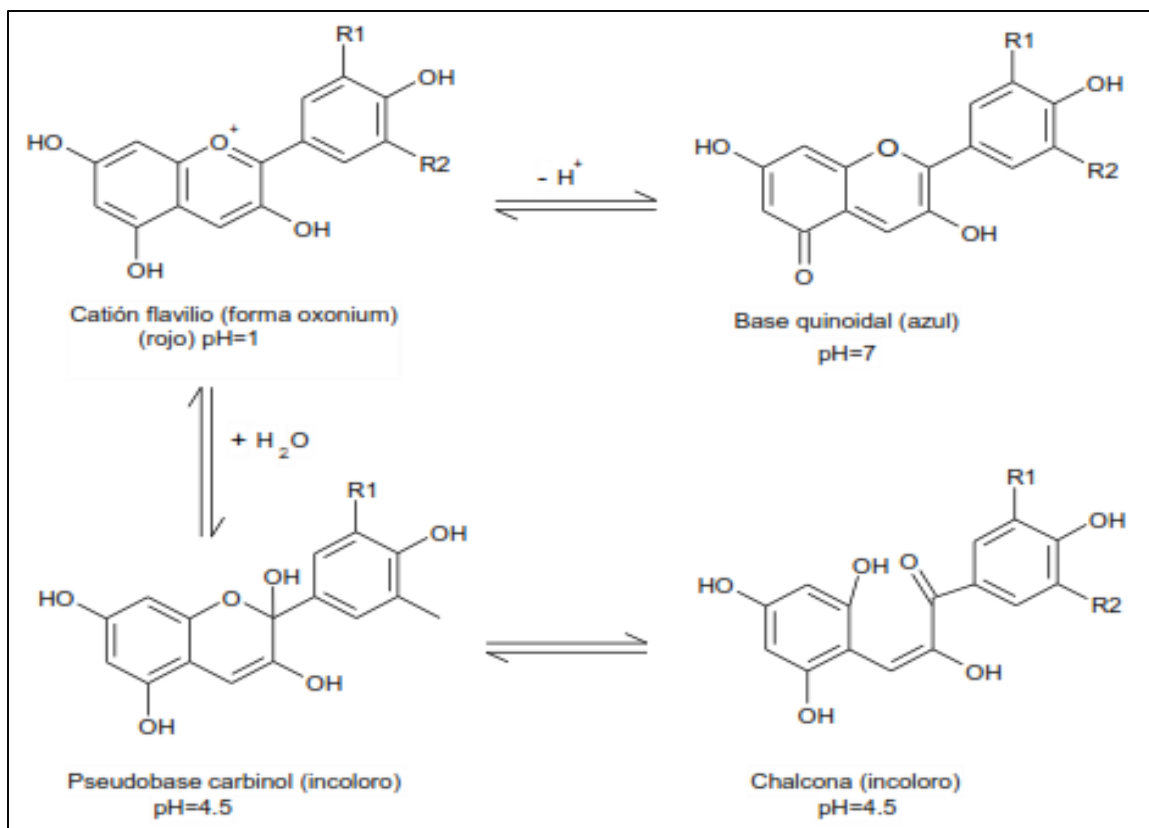
La pérdida de color de las antocianinas también se da por la presencia de compuestos reactivos como azúcares reductores, fenoles y aminoácidos (Zeiger 2006). Otra causa de degradación de las antocianinas son las reacciones enzimáticas que se producen en forma natural en los frutos; la enzima  $\beta$ -glucosidasa hidrolizan al enlace glucosídico en el átomo de carbono 3, separando al aglicón del azúcar. Existen enzimas del tipo de las polifenolasas que también pueden causar una decoloración de los frutos. Algunos microorganismos presentan actividad enzimática de antocianinas, capaz de inducir la destrucción de las antocianinas (Fennema 2000, Badui 1988).

Las agliconas (antocianidinas) no son estables y son menos solubles en agua que sus correspondientes glucósidos (antocianinas) y, por lo tanto, no se encuentran libres en la naturaleza (Fennema 2000). Las cerca de 250 antocianidinas aisladas son estabilizadas por la sustitución con azúcares en las diversas posiciones. La sustitución en la posición 3 es la más difundida, pero las sustituciones en las posiciones 5 ó 7 no son raras. Los azúcares contenidos pueden ser monosacáridos (glucosa, galactosa, etc.) u oligosacáridos. Estos azúcares pueden estar acilados con ácidos orgánicos (acético, masónico, cumárico, caféico, etc.). Los colorantes ricos en antocianinas aciladas, como del camote morado y zanahoria morada, son más estables que los colorantes ricos en antocianinas no aciladas, como las del maíz morado y la uva roja (Cevallos y Cisneros, 2003). Las antocianinas aciladas con ácidos cinámicos son más estables que aquellas aciladas con ácidos malónicos (Giusti y Wrolstad 2003). El maíz morado contiene antocianinas aciladas con ácidos malónicos.

Los principales factores que influyen en la estabilidad y color son:

**a) Efecto del pH**

Las antocianinas tienen cambios importantes de color con las variaciones de pH, cuando el pH es ácido su color es rojo intenso mientras que a pH neutro se encuentra de manera incolora y a pH alcalino su coloración es amarilla y pasa posteriormente a ser azul (Cuevas *et al.* 2008).



**Figura 4.** Efecto del pH en la estructura de las antocianinas (Wrolstad 2004)

En la Figura 4, se muestra el comportamiento de la antocianina a diferentes pH's.

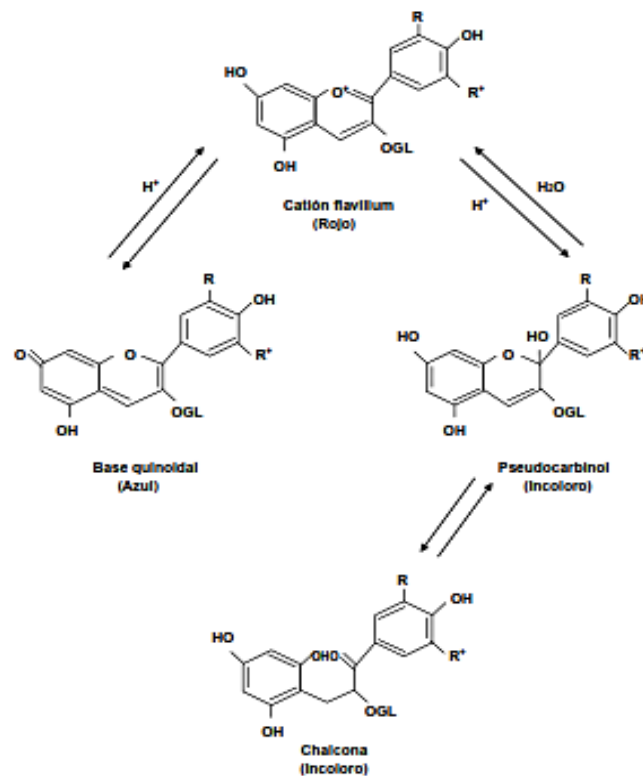
### b) Efecto de la temperatura

Durante el procesamiento y el almacenamiento las antocianinas son destruidas por efecto del calor (Cuevas *et al.* 2008). El aumento de la temperatura produce la pérdida de una molécula de azúcar en la posición 3 y como consecuencia la ruptura del anillo y como efecto la formación de chalconas incoloras (Garzón 2008).

Las conversiones estructurales de las antocianinas son reacciones endotérmicas. Resisten bien procesos térmicos a altas temperaturas durante cortos periodos de tiempo. Por efecto del calor (a temperaturas por encima de los 60 °C) se degradan según una cinética de primer orden. En general las características estructurales que conducen a una mayor estabilidad al pH son las mismas que conducen a una mayor

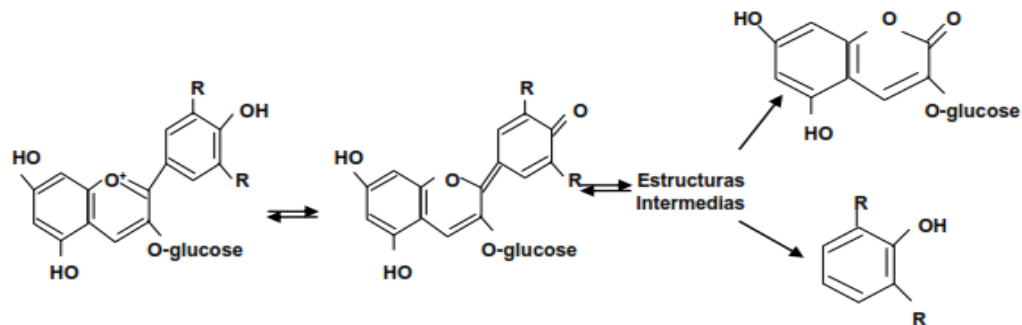
estabilidad térmica. Por lo tanto, las antocianinas altamente hidroxiladas son menos estables térmicamente que las metiladas, glicosidadas o acetiladas (Fennema 2000).

La velocidad de degradación de las antocianinas aumenta al elevar la temperatura. Existe una relación logarítmica entre la retención de color y la temperatura de los procesos de esterilización o almacenamiento (Fernández 1995). Así como ocurre con las vitaminas y otros pigmentos, los sistemas de alta temperatura-corto tiempo son más adecuados para conservar el color de los alimentos (Badui 1999).



**Figura 5.** Forma de equilibrio de las antocianinas en solución acuosa (Rein 2005).





**Figura 6.** Degradación de antocianina monoglucósido a pH 3,7 acelerada por el calor (Rein 2005).

En la Figura 6, se observa la degradación de antocianinas por efecto de la temperatura.

### c) Efecto del oxígeno y peróxido de hidrógeno

Las antocianinas pueden oxidarse por reacción directa con oxígeno, o bien a través de una oxidación indirecta en la que éstas reaccionan con compuestos que han sido previamente oxidados, dando lugar a la formación de productos de color marrón o incoloro. También, pueden reaccionar con radicales de oxígeno actuando como antioxidantes. Estos mecanismos de oxidación se ven favorecidos cuando se eleva la temperatura (Rein 2005). El peróxido de hidrógeno actúa rompiendo el anillo de pirilio de la antocianina por un ataque nucleofílico en C-2 produciendo ésteres incoloros y derivados de la cumarina. Estos productos de degradación son totalmente destruidos y polimerizados para formar precipitados de color café (Fennema 2000).

### d) Efecto de la luz

Se acepta, generalmente, que la luz acelera la degradación de las antocianinas. Este efecto adverso se ha demostrado en diversos zumos de frutas y en el vino tinto. Los sulfonatos de las flavonas polihidroxiadas, las isoflavonas y las auronas ejercen un efecto protector contra la foto degradación. El efecto protector es atribuible a la formación de interacciones de los anillos intermoleculares entre el sulfonato cargado negativamente y el ion flavilio cargado positivamente (Fennema 2000).

#### **e) Efecto de los azúcares**

Los azúcares a altas concentraciones, como ocurre en las conservas de frutas, estabilizan las antocianinas. Este efecto se cree que es debido a la disminución de la actividad de agua (Fennema 2000). Cuando los azúcares están presentes en condiciones lo suficientemente bajas como para tener poco efecto sobre la actividad del agua ( $A_w$ ), ellos o sus productos de degradación pueden acelerar la degradación de las antocianinas (Fennema 2000).

La velocidad de degradación de la antocianina sigue la velocidad de degradación del azúcar a furfural. el furfural, que se deriva de las aldopentosas, y el HMF, que es un derivado de las cetohexosas, resultan de la reacción de Maillard o de la oxidación del ácido ascórbico. Estos compuestos se condensan fácilmente con las antocianinas, formando compuestos pardos (Fennema 2000).

#### **f) Efecto de las enzimas**

Se han identificado dos grupos de enzimas implicadas en la decoloración de las antocianinas: glicosidasa y polifenoloxidasa, en conjunto se les conoce como antocianasas. Las glicosidasas hidrolizan los enlaces glucosídicos, dando el azúcar o azúcares y la aglicona. La pérdida de intensidad de color se debe al descenso de la solubilidad de las antocianidinas y su transformación en productos incoloros. Las polifenoloxidasas actúan en presencia de o-difenol a o-benzoquinona, que a su vez reacciona con las antocianinas por un mecanismo no enzimático para formar antocianinas oxidadas y productos de degradación (Fennema 2000).

#### **g) Efecto del dióxido de azufre**

La reacción entre antocianina y dióxido de azufre ha sido ampliamente estudiada. Se cree que comprende la fijación de  $SO_2$  en la posición C-4 es que el  $SO_2$  en esta posición produce la pérdida de color (Fennema 2000).

Pequeñas cantidades de SO<sub>2</sub> pueden decolorar rápidamente cantidades significativas de antocianina (Fennema 2000, Badui 1999).

### **2.3.6 Extracción de las antocianinas**

Las antocianinas se pueden extraer de diferentes tejidos vegetales (Francis y Markakis (1989), Wrolstad *et al.* (2000)). El método usual de extracción es la extracción sólido-líquido. Sin embargo, es de destacar la existencia de otros métodos. Así, científicos japoneses desarrollaron una metodología alternativa que consiste en extraer las antocianinas mediante la fermentación de las matrices que las contienen (Fan *et al.* 2008).

En relación a la extracción, (Rodríguez y Wrolstad 2001) señalan que el carácter polar de la molécula de antocianina permite su solubilidad en variados solventes, tales como alcoholes, acetona y agua. Su estabilidad es afectada fácilmente por modificaciones estructurales con grupos hidroxilo, metoxilo, glucósidos y, especialmente, grupos acilos, además por factores como la temperatura y la luz, Francis y Markakis (1989), Wrolstad *et al.* (2000) el método de extracción debe ser el más adecuado para cada aplicación concreta. Así, en el caso de las antocianinas, se debe maximizar la extracción de pigmentos, minimizar los compuestos adjuntos extraídos y limitar la degradación o alteración del estado natural del extracto. El conocimiento de los factores involucrados en su estabilidad y de los mecanismos de degradación es sumamente vital para una eficiente extracción, purificación y uso de las antocianinas como colorantes de alimentos.

#### **a) Determinación del contenido de antocianinas**

Las antocianinas a ciertos pH's presentan diferente actividad debido a que esto repercute en su estabilidad molecular. Los espectros UV-Vis a diferentes pH también cambian y nos ayudan a determinar si está o no polimerizada (Wrolstad *et al.* 2000).

El color llamativo de las antocianinas se debe principalmente a la carga positiva del catión flavilio. A pH 1 dará un color intenso tal como se encuentran de forma típica en verduras y frutas. Las cargas van cambiando a lo largo de la variación de pH dando las estructuras y colores. El catión flavilio a pH 1 es la forma más estable mientras que las chalconas a pH's > 4,5 son las más susceptibles a degradación (Wroslstad *et al.* 2000).

Al conocer las características fisicoquímicas de las antocianinas y su comportamiento en los diferentes pH's se puede medir la concentración de antocianinas totales en el extracto de la materia a analizar se puede determinar aplicando el método de pH diferencial reportado por (Wroslstad *et al.* 2000) de la siguiente manera:

$$[\text{Antocianinas totales}] = \frac{A_{\text{neta}} \cdot M \cdot FD \cdot 10^3}{\epsilon \cdot l} \dots\dots\dots (1)$$

donde:

$[\text{Antocianinas totales}] = \text{concentración de antocianinas totales en mg/L}$

$A_{\text{neta}} = \text{absorbancia neta}$

$$A_{\text{neta}} = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}=1,0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}=4,5}$$

$M = \text{masa molar de la cianidina-3-glucósido} = 449,2 \text{ g/mol}$

$FD = \text{factor de dilución (1 en 50)}$

$10^3 = \text{factor para convertir g a mg}$

$$\epsilon = \text{absortividad molar} = 26\,900 \frac{\text{L}}{\text{mol}} \cdot \text{cm}$$

$l = \text{longitud del paso de celda} = 1 \text{ cm}$

### 2.3.7 Factores que influyen en la extracción

El proceso de extracción es afectado por factores como:

#### a) Tamaño de partícula

El tamaño de las partículas influye en la extracción de diferentes maneras, ya que los sólidos de tamaño pequeño tienen una mayor superficie de contacto con el líquido y

la distancia de difusión entre el soluto y el solvente es menor por lo tanto la cantidad de soluto transferido es más alto (Ullauri 2010).

#### **b) Solvente**

El solvente escogido debe ser altamente selectivo, de baja viscosidad que circule libremente (Ibarz, 2005), pero conforme la extracción transcurre, la cantidad de soluto aumentará y el gradiente de concentración disminuye, incrementando progresivamente la viscosidad. Generalmente se utiliza etanol para la extracción de los principios activos de las plantas, sin embargo, el agua es considerada el solvente universal por su capacidad de extracción en fase sólido-líquido (Ullauri 2010).

#### **c) Tiempo de extracción**

Es considerado como un factor de menor incidencia en la extracción del colorante, pero a nivel industrial donde se trabaja con grandes volúmenes será un factor muy importante en los costos de operaciones ya que un tiempo largo de producción baja la rentabilidad (Centeno 2003).

### **2.3.8 Solventes para extracción**

#### **a) Agua destilada**

El agua tiene gran capacidad para disolver sustancias iónicas y sustancias polares la interacción de la molécula del agua con moléculas polares o con iones, se facilita enormemente por la polaridad misma de esta molécula. Las moléculas polares se intercalan con facilidad entre las moléculas de agua, al interactuar sus dipolos con ella, de manera semejante a la forma en que interactúan entre sí las mismas moléculas de agua. En algunos casos, los solutos polares funcionan como donadores y en otros como receptores, en los puentes de hidrógeno que establecen entre sus moléculas y las del agua. Las sustancias iónicas se disuelven en el agua porque sus moléculas atraen

electrostáticamente a los iones que las forman. La interacción con los iones positivos se establece con el polo negativo de la molécula del agua, mientras que la interacción con los iones negativos se produce con el polo positivo de la molécula de agua. Esta hidratación de los iones de cargas opuestas permite su separación y, consecuencia, la solubilización de las sustancias iónicas en el agua (Peña *et al* 2005).

#### **b) Etanol**

El etanol, cuya fórmula química es  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ , no solo es el producto químico orgánico sintético más antiguo empleado por el hombre, sino uno de los más importantes, sus usos más comunes son industriales, domésticos y medicinales, la industria emplea mucho Etanol como disolvente (Nicaragua 2004).

#### **c) Metanol**

El metanol, es un compuesto químico del grupo de los alcoholes, también conocido bajo el nombre de alcohol metílico, siendo además, el alcohol más sencillo del grupo. Su fórmula es  $\text{CH}_3\text{OH}$ , teniendo una estructura química muy similar a la del agua, diferenciándose tan sólo en los ángulos de enlace. Cuando el metanol está a temperatura ambiente, en condiciones normales, se presenta en estado líquido e incoloro, siendo bastante tóxico, e inflamable. Tiene poca viscosidad y posee un olor característico a frutas bastante penetrable, y perceptible a partir de los 2 ppm. Es un compuesto que puede ser utilizado tanto como disolvente o como combustible, siendo bastante miscible tanto en agua como en otros solventes de tipo orgánico (Méndez 2010).

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3. UBICACIÓN DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Química Ambiental (1E - 207) de la Universidad Nacional de Cajamarca, a una temperatura promedio de 21 °C y humedad relativa de 65 %.

Región	:	Cajamarca
Provincia	:	Cajamarca
Distrito	:	Cajamarca
Caserío	:	Cajamarca

#### **3.1 MATERIA PRIMA**

Se compró 4,5 kg de maíz morado de la variedad canteño, adquirido del mercado San Martín de la ciudad de Cajamarca, proveniente del valle Condebamba de la provincia de Cajabamba, al momento de la adquisición del maíz se tomó en cuenta, el tamaño de mazorca, que no presenten signos de deterioro, granos dañados o con indicios de pudrición.

#### **3.2 MATERIALES**

##### **a. Material experimental**

- Coronta de maíz morado
- Agua destilada
- Pipeta 5 mL
- Fiola 50 mL
- Beaker 60 mL
- Embudos de vidrio
- Embudo de plástico
- Probeta 100 mL
- Matraz Kitasato 1 000 mL

- Placa Petri
- Termómetro
- Goteros
- Buchner
- Condensador Allihn
- Barra magnética
- Varilla capilar
- Condensador recto
- Balón de dos bocas 1 000 mL
- Balón de una boca 1 000 mL
- Mangueras
- Envases de vidrio 1 000 mL
- Tubos de ensayo
- Rejilla para tubos de ensayo
- Pera de jebes de 3 válvulas para pipetear
- Matraces aforados de 1 000 mL

**b. Equipos**

- Bomba de vacío
- Agitador magnético
- pH - metro
- Espectrofotómetro

**c. Reactivos**

- Acetato de sodio ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ )
- Cloruro de potasio (KCl)
- Etanol al 20 % (v/v)
- Ácido clorhídrico concentrado

**d. Otros materiales**

- Útiles de escritorio



### 3.3 Metodología

#### 3.3.1 Tipo de metodología

El presente trabajo de investigación es del tipo experimental

#### 3.3.2 Diseño experimental

La extracción de antocianinas totales a partir de las corontas de maíz morado, se consideraron como factores: tipo de solvente, temperatura y tiempo de extracción. En la Tabla 6 se muestran los niveles de los factores en estudio.

**Tabla 6.** Niveles de los factores y condiciones en el proceso para la extracción de antocianinas totales de la coronta de maíz morado, basado en la literatura de (Almeida 2012).

FACTOR	DESCRIPCIÓN DEL FACTOR	DESCRIPCIÓN DEL NIVEL	CÓDIGO
A	Tipo de solvente	Agua destilada	a <sub>1</sub>
		Etanol (20 %)	a <sub>2</sub>
B	Tiempo de extracción	30 min	b <sub>1</sub>
		1 h	b <sub>2</sub>
C	Temperatura de extracción	50 °C	c <sub>1</sub>
		70 °C	c <sub>2</sub>

En la Tabla 6. Nos muestra los solventes la temperatura y tiempo que se han utilizado para la extracción de antocianinas totales.

Para la extracción de antocianinas totales, la muestra fue de 5 g de coronta molida y tamizada utilizando un tamiz de un (1) mm de diámetro  $\varnothing$ . La determinación de los 5 g de coronta utilizados en el estudio, se logró realizando pruebas preliminares de 10 y 5 g respectivamente. Se mantuvo una relación coronta: solvente de 5:100

El agua destilada utilizada como solvente en la extracción de antocianinas totales, se obtuvo en el Laboratorio de Química Ambiental (1E - 207) de la Universidad Nacional de Cajamarca, mediante un destilador con capacidad de destilación de 4 L/h.

**Tabla 7.** Tratamientos para la determinación de las condiciones apropiadas de proceso para la extracción de antocianinas totales de coronta de maíz morado, basado en la literatura de (Almeida 2012).

TRATAMIENTOS		
T1	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	Agua destilada; 30min; 50 °C
T2	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	Agua destilada; 30 min; 70 °C
T3	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	Agua destilada; 1 h; 50 °C
T4	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	Agua destilada; 1 h; 70 °C
T5	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	Etanol al 20 %; 30 min; 50 °C
T6	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	Etanol al 20 %; 30 min; 70 °C
T7	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	Etanol al 20 %; 1 h; 50 °C
T8	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	Etanol al 20 %; 1 h; 70 °C

En la Tabla 7. Se observa los tratamientos realizados en la extracción de antocianinas totales.

El extracto obtenido de las corontas de maíz morado se filtró mediante una bomba de vacío, para evitar la presencia de sólidos y fracciones de fibras que salen como residuos del proceso de extracción.

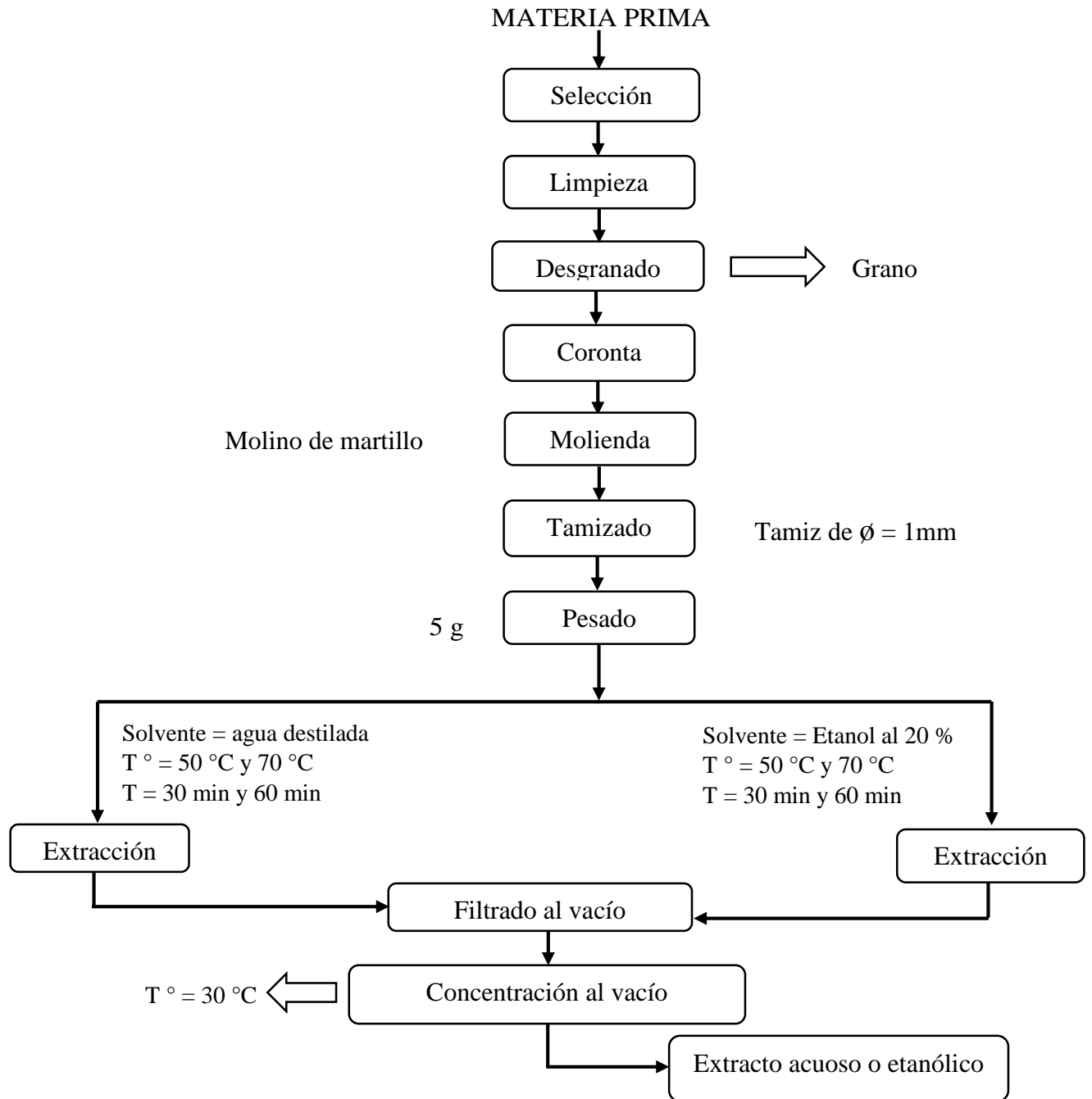
Del extracto de las corontas de maíz morado obtenido de la concentración al vacío, se tomó una alícuota de 1 mL, y se le adicionó cloruro de potasio (KCl) a pH 1 y acetato de sodio (CH<sub>3</sub> – COONa) a pH 4,5. Posteriormente se realizó la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro a 510 y 700 nm, con los resultados obtenidos se determinó la cantidad de antocianinas en mg/g.

### 3.3.3 Técnicas de procesamiento de análisis de datos

Con los resultados obtenidos en el laboratorio se realizó la prueba de normalidad, el análisis de varianza, aplicando el software estadístico SAS versión 2017. En el estudio realizado se tuvo como variable independiente a la temperatura (50 y 70 °C),

el tiempo (30 min y 60 min) y solvente (agua destilada y etanol al 20 %). La variable dependiente es la concentración de antocianinas totales.

### 3.3.4 Extracción de antocianinas totales de coronta de maíz morado - método del pH diferencial



**Figura 7.** Flujograma de operaciones para la extracción de antocianinas totales de la coronta de maíz morado basado en (Fernández 1995).

- **Descripción del flujograma de operaciones**

### **Selección**

Esta operación se efectuó manualmente, con el fin de separar las mazorcas que presentaban signos de deterioro, granos dañados o con indicios de pudrición.

### **Limpieza**

Se realizó con una pequeña escobilla, con la finalidad de remover los residuos.

### **Desgranado**

El desgranado se efectuó en forma manual, separándose el grano de la coronta, quedando así únicamente la coronta libre para la siguiente operación.

### **Molienda y tamizado**

Se realizó esta operación en un molino de martillo y un tamiz de un (1) mm de diámetro con el objeto de aumentar la superficie de contacto interfacial entre soluto y solvente, y por lo tanto, aumentar la velocidad de extracción.

### **Pesado**

Se pesó 5 g de coronta molida y tamizada en una balanza analítica, para posteriormente realizar la dilución, para la extracción de antocianinas totales.

### **Extracción**

Esta operación tuvo por finalidad separar las antocianinas totales de la coronta del maíz morado con disolventes apropiados. La extracción de las antocianinas totales se realizó mediante el método de calentamiento. Esta operación se realizó en un equipo de reflujo a una temperatura de 50 °C y 70 °C y tiempos de 30 min y 60 min.

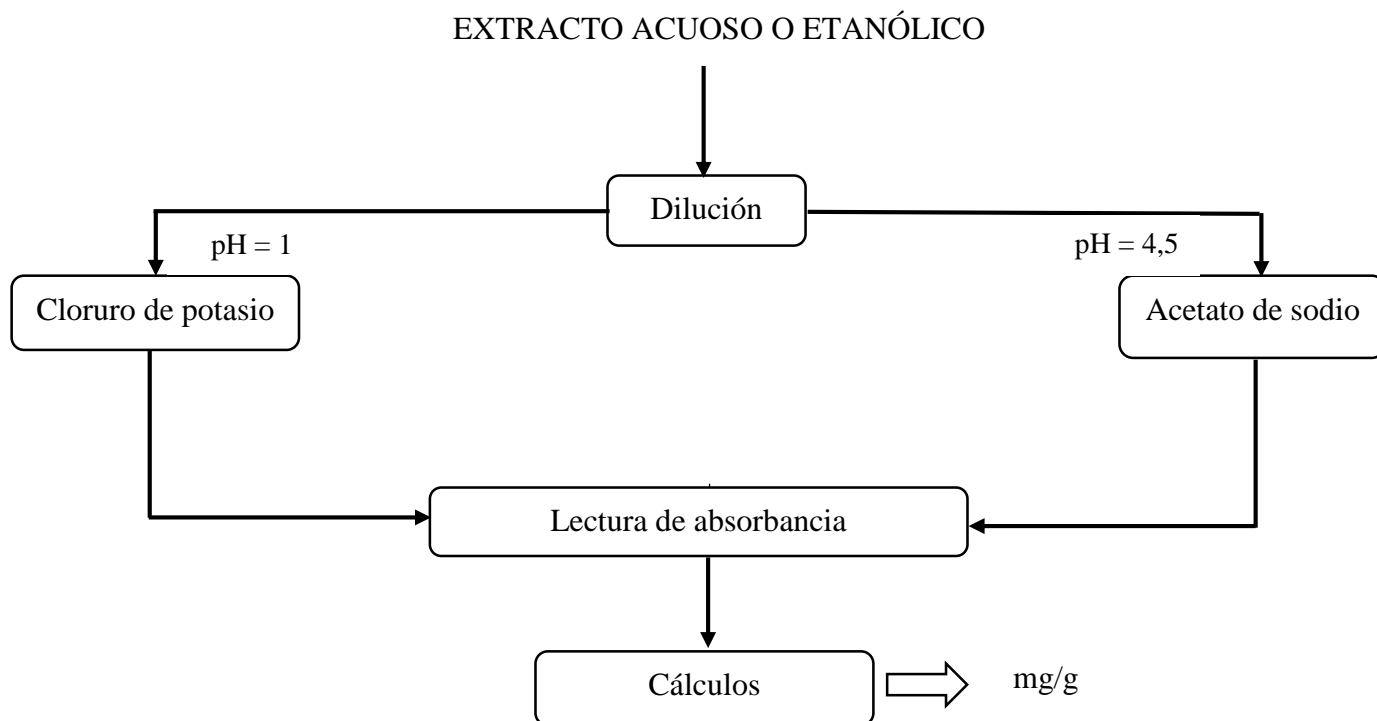
### **Filtrado al vacío**

Tiene como objetivo separar la torta del extracto de antocianinas totales, para esta operación se utilizó papel Whatman N° 1 y una bomba de vacío. Con la finalidad de facilitar el paso del extracto a través del papel filtro.

### **Concentración al vacío**

La finalidad de la concentración es eliminar el solvente para obtener extracto concentrado de antocianinas totales a una temperatura menor o igual a 30 °C, para lo cual se utilizó una bomba de vacío.

### 3.3.5 Cuantificación de antocianinas totales de coronta de maíz morado - método del pH diferencial



**Figura 8.** Flujograma de operaciones para la cuantificación de antocianinas totales de la coronta de maíz morado basado en (Fernández 1995).

- **Descripción del flujograma de operaciones**

#### **Dilución**

Se tomó una alícuota de 1 mL del extracto concentrado de antocianinas totales y se diluyó en una fiola de 50 mL con soluciones buffer de cloruro de potasio (pH 1) y acetato de sodio (pH 4,5).

#### **Lectura**

Las absorbancias de cada uno de los extractos de antocianinas se leyeron en un espectrofotómetro UV-Vis, Spectronic 20 Bausch & Lomb a 510 y 700 nm.

## Cuantificación de antocianinas

Con los datos de absorbancia obtenidos se calculó la concentración de antocianinas totales utilizando la ecuación (1).

### 3.3.6 Trabajo de gabinete

#### a. Tipo de diseño

Para el análisis de esta investigación se planteó un diseño factorial  $2^k = 2^3$  dado que se tiene tres factores de interacción y cada uno con dos niveles, donde los tres factores de estudio tuvieron los siguientes tratamientos:

**Tabla 8.** Factores para la obtención de antocianinas totales de la coronta de maíz morado

<b>Solvente</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tiempo (min)</b>
<b>Agua</b>	50	30
		60
	70	30
		60
<b>Etanol</b>	50	30
		60
	70	30
		60

#### b. Análisis estadístico

Para el análisis de datos se realizó un modelo factorial con tres factores y dos niveles, de donde resultó que solo el solvente es significativo para el modelo. Por lo que, fue necesario implementar un diseño completamente aleatorio (DCA), para verificar y comprobar con cuál de los dos solventes se extrae una mayor concentración de antocianinas totales de la coronta de maíz morado. El DCA formulado fue validado a partir de contrastes para

probar normalidad como Shapiro-Wilk (SW), Kolmogorov-Smirnov (KS) y Anderson-Darling (AD) y contrastes de homogeneidad de varianza como Levene y, Brown y Forsythe. Para determinar cuál de los solventes fue el mejor se utilizaron pruebas de comparaciones de medias como Dunnett y Tukey.



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4. CARACTERIZACIÓN DE LA CORONTA DEL MAÍZ MORADO

##### A. Determinación de la humedad

Se utilizó una estufa marca Ecocell.

- Las corontas de maíz morado (canteño) se cortaron en pequeños trozos.
- Se pesó las corontas en tres placas Petri, las cuales se colocaron en la estufa a 100 °C por 11 horas hasta peso constante.
- La humedad de la coronta se determinó con la siguiente fórmula:

$$\text{porcentaje de humedad} = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \%$$

$M_i$  = masa de coronta húmeda

$M_f$  = masa de coronta seca (extracto seco)

**Tabla 9.** Datos para determinar la humedad de coronta de maíz morado

MUESTRA	MASA DE CORONTA HÚMEDA (g)	MASA DE CORONTA SECA (g)
01	17,032 2	5,660 9
02	13,622 5	5,043 2
03	14,377 5	5,167 3
<b>TOTAL</b>	<b>45,032 2</b>	<b>1,871 4</b>

- **Cálculo del porcentaje de humedad**

$$\text{porcentaje de humedad} = \frac{4,032\ 2 - 15,871\ 4}{45,032\ 2} \times 100\ \%$$

$$\text{porcentaje de humedad} = 64,755\ 4\ \%$$

#### 4.1 Determinación de la concentración de antocianinas

A continuación, se presenta el arreglo factorial con las cantidades de antocianinas totales en mg/g y los factores que intervienen en el proceso de extracción como el solvente, tiempo y temperatura.

**Tabla 10.** Arreglo factorial para la concentración de antocianinas totales en mg/g de coronta de maíz morado

FACTOR		SOLVENTE			
		AGUA DESTILADA		ETANOL 20 %	
		Tiempo	Tiempo	Tiempo	Tiempo
		30 min	60 min	30 min	60 min
TEMPERATURA	50 °C	5,43	5,09	7,26	9,60
		2,67	6,18	7,18	7,10
		4,34	5,09	9,60	9,52
	70 °C	8,18	5,76	8,68	8,10
		5,18	7,93	8,68	8,10
		4,01	8,60	8,77	8,02

En la Tabla 10. Se observa la concentración de antocianinas totales de la coronta de maíz morado a temperaturas de 50 y 70 °C y tiempos de 30 y 60 minutos en tres repeticiones.

**Tabla 11.** Concentración de antocianinas totales de la coronta de maíz morado

<b>Solvente</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>N</b>	<b>CV</b>
<b>Agua destilada</b>	50	30	4,15	1,39	3	0,34
		60	5,45	0,63	3	0,12
	70	30	5,79	2,15	3	0,37
		60	7,43	1,48	3	0,20
<b>Etanol al 20 %</b>	50	30	8,01	1,37	3	0,17
		60	8,74	1,42	3	0,16
	70	30	8,71	0,05	3	0,01
		60	8,07	0,05	3	0,01

En la Tabla 11, se muestran los resultados alcanzados de la concentración de antocianinas totales de coronta de maíz morado utilizando como solvente agua destilada y etanol al 20 %, temperaturas de 50 y 70 °C y tiempos de extracción de 30 y 60 minutos, en tres repeticiones por temperatura y tiempo.

Yang *et al.* (2007). En un trabajo relacionado con la extracción óptima de antocianinas de coronta de maíz morado en un cultivar de la china en mezclas etanólicas y metánolicas al 80, 90 y 100 % (v/v) acondicionadas convenientemente en medio ácido con los ácidos acético y cítrico al 0,25; 0,5 y 1 % (v/v) encontraron valores cercanos a 6 mg/g muestra (5,90 mg de antocianina/g muestra) según diseño factorial, ese mismo año (Yang *et al.* 2007) en otra investigación relacionada con la cinética de degradación térmica de antocianinas del maíz morado en medio acuoso encontraron el valor de 0,680 mg de antocianinas/g muestra, en ambos casos los valores fueron inferiores a los hallados en la investigación.

En términos porcentuales, en la Tabla 11, el coeficiente de variabilidad muestra que las antocianinas extraídas en agua destilada y sometida a una temperatura de 70 °C y por un tiempo de 30 minutos muestran mayor variabilidad. Así también, se observa que el mayor rendimiento de antocianinas extraída en agua destilada ocurre cuando esta se

somete a una temperatura de 70 °C y por un tiempo de 60 minutos ( $\bar{x} = 7,43$  mg/g); y el mayor rendimiento de antocianinas totales extraídas con etanol al 20 % , a una temperatura de 50 °C y un tiempo de 60 minutos ( $\bar{x} = 8,74$  mg/g).

El tiempo y temperatura de extracción para el solvente agua destilada es de 60 minutos y 70 °C, habiéndose obtenido una concentración de antocianinas totales de 7,43 mg /g; valor inferior al obtenido por (Gorriti *et al.* 2009), que obtuvo el valor de 17, 550 mg/g de coronta en solvente agua destilada a una temperatura de 60 °C y un tiempo de 30 minutos; de una variedad mejorada del distrito de La Joya del departamento de Arequipa, teniendo en cuenta que dicho resultado es de un maíz mejorado.

Gorriti *et al.* (2009). En un trabajo relacionado a la extracción de antocianinas de corontas de maíz morado en un cultivar del distrito La Joya de Arequipa, mediante el pH diferencial, encontraron valores para etanol al 20 % cercanos a 25,939 mg/g; a una temperatura de 75 °C, y un tiempo de extracción de 30 minutos, valor superior al encontrados en la investigación, 8, 74 mg/g a una temperatura de 50 °C y un tiempo de 60 minutos, teniendo en cuenta que dicho trabajo se realizó con maíz mejorado de un campo experimental, frente a un maíz comercial adquirido en el mercado.

Para el análisis estadístico de esta investigación se planteó un diseño factorial  $2^k = 2^3$  debido a que se tiene tres factores de interacción y cada uno con dos niveles, el modelo queda definido de la siguiente forma:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta)_{ij} + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + \tau\beta\gamma_{ijk}; i=1,2; j=1,2 y k=1,2$$

**Tabla 12.** ANOVA de la extracción de antocianinas totales en los factores e interacciones del modelo experimental mg/g

Fuente de variabilidad	GL	SC	MC	F	p-valor
Solvente	1	43,068	43,068	26,36	0,000
Temperatura	1	4,996	4,996	3,06	0,100
Tiempo	1	3,458	3,458	2,12	0,165
Solvente*Temperatura	1	4,833	4,833	2,96	0,105
Solvente*Tiempo	1	3,060	3,060	1,87	0,190
Temperatura* tiempo	1	0,398	0,398	0,24	0,628
Solvente*temperatura*tiempo	1	1,080	1,080	0,66	0,428
Error	16	26,144	1,634		
Total	23	87,036			

$$S = 1,4137 \quad R^2 = 49,4824\% \quad CV = 20,0680$$

La Tabla N° 12, el ANOVA, para la extracción de antocianinas totales de las corontas de maíz morado, según el diseño experimental, indica que existen diferencias altamente significativas con  $p - valor < 0,05$  sólo para el solvente; mientras que, los coeficientes de las interacciones producidas por los factores temperatura ( $p - valor = 0,100$ ) y tiempo ( $p - valor = 0,165$ ); y sus interacciones como solvente-temperatura ( $p - valor = 0,105$ ), solvente-tiempo ( $p = 0,190$ ), temperatura-tiempo ( $p - valor = 0,628$ ), solvente-temperatura-tiempo ( $p - valor = 0,428$ ) no son significativos para el modelo planteado dado que los  $p$ -valores correspondientes a estas interacciones son mayores que el nivel de significancia propuesto.

Como consecuencia de este resultado, se replanteó el modelo y realizando procedimientos repetitivos que constan en simular un modelo retirando una a una las interacciones no significativas de mayor a menor intensidad según su significancia, de donde resulta un diseño completamente aleatorio de efectos fijos mediante el análisis de la varianza de una vía o un factor que en este caso es el solvente.

Es decir, solo queda el solvente (agua destilada y etanol al 20 %), como único factor influyente, sobre la variable respuesta concentración de antocianinas totales. Con el objetivo de estimar el efecto de los solventes y contrastar la hipótesis de que la extracción de antocianinas totales con agua destilada y etanol al 20 % produce el mismo efecto, frente a la alternativa de que el agua destilada difiere del etanol al 20 % en la obtención de antocianinas totales, se plantea las hipótesis:

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu \text{ vs } H_1 = \mu_1 \neq \mu_2; \text{ para algún } i \neq j$$

En otras palabras, se contrastó que no hay diferencia entre el rendimiento medio del agua destilada y etanol al 20 % frente a la alternativa de que al menos una media difiera de otra.

En este modelo, se probó el efecto que producen los solventes tanto el agua destilada como el etanol al 20 %, para la extracción de antocianinas totales, la asignación del agua destilada como del etanol al 20 % en sus distintos niveles se realizó de forma completamente al azar. El modelo utilizado recibe el nombre de Diseño Completamente Aleatorizado y está basado en el modelo estadístico de Análisis de la Varianza de un Factor. Para aplicar este diseño adecuadamente las unidades experimentales deben ser lo más homogéneas posible. Entonces podemos postular el siguiente modelo:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \mu_{ij} ; i = 1, \dots, I; j = 1, \dots, n_i$$

**Tabla 13.** Comparación de medias de los solventes

<b>Antocianinas totales mg/g</b>		
<b>Solvente</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>
Agua destilada	5,705 0	1,777
Etanol 20 %	8,384 2	0,916
<b>Total</b>	<b>7,044 6</b>	<b>1,945</b>

En la Tabla 13, se presentan los dos grupos dispuestos en forma comparativa. A simple vista se puede observar que el valor medio de estos grupos es numéricamente distinto,

de hecho, la media del etanol al 20 % tiene un valor medio superior al agua destilada. Por tanto, la hipótesis se centra en comprobar si la concentración de antocianinas totales es significativamente distinta en los dos grupos. Para responder a esta hipótesis se recurrió al análisis de la varianza de un factor y realizamos el contraste de igualdad de medias.

**Tabla 14.** Contraste de igualdad de medias de los solventes (etanol al 20 % y agua destilada)

<b>Origen</b>	<b>Tipo I de suma de cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Solvente	1 234,095	1	617,048	308,744	0,000
Error	43,969	22	1,999		
Total	1 278,064	23			

$R^2 = 0,966$        $CV = 20,068 02$

En la Tabla 14, el valor del estadístico de contraste de igualdad de medias,  $F = 308,744$  presenta a su derecha un p-valor de 0,000, menor que el nivel de significación del 5 %, por lo que se rechaza la hipótesis nula de igualdad de medias. Es decir, existen diferencias significativas en las concentraciones medias de antocianinas totales. Asimismo, el modelo explica el 96,6 % de la variabilidad, este resultado evidencia una excelente concentración de antocianinas totales extraídas con los solventes agua destilada y etanol al 20 %.

### **Verificación de la adecuación del modelo para antocianinas totales**

La contrastación de las antocianinas totales mediante el análisis de varianza, y la necesidad de probar que no hay diferencias en las medias de los tratamientos requiere que satisfagan ciertos supuestos del modelo. Estos supuestos son que el modelo para  $Y_{ij}$  describe de manera adecuada las observaciones de antocianinas y que sus errores siguen una distribución normal e independiente con media cero y varianza constante pero desconocida. Si estos supuestos se satisfacen, el procedimiento del análisis de varianza es válido.

Con la finalidad de verificar que la validez del diseño experimental planteado, se analizan los residuales del diseño formulado.

➤ **Normalidad**

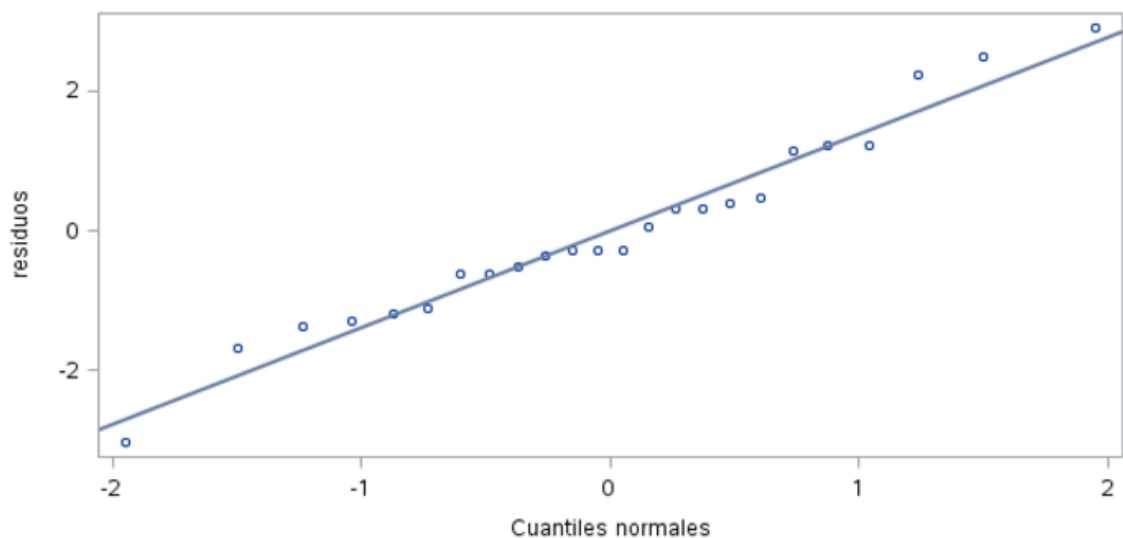
La importancia de la distribución normal es innegable, ya que es una suposición subyacente de muchos procedimientos estadísticos como el análisis de varianza (ANOVA), cuando la suposición de normalidad no se comprueba, la interpretación y las inferencias pueden no ser confiables o válidas. Para evaluar este supuesto si los residuos de las antocianinas totales siguen una distribución normal se utilizó métodos gráficos como la gráfica de cuantiles QQ, y de pruebas formales de normalidad como la prueba de Shapiro-Wilk (SW), prueba de Kolmogorov-Smirnov (KS) y la prueba de Anderson-Darling (AD).

**Tabla 15.** Validación de los supuestos del modelo

<b>Test para normalidad</b>				
<b>Test</b>	<b>Estadístico</b>		<b>P valor</b>	
Shapiro-Wilk	<b>W</b>	0,970 882	<b>Pr &lt; W</b>	0,688 8
Kolmogorov-Smirnov	<b>D</b>	0,120 377	<b>Pr &gt; D</b>	0,150 0
Anderson-Darling	<b>A-Sq</b>	0,342 964	<b>Pr &gt; A-Sq</b>	0,250 0

Se observa que los contrastes utilizados como el de Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov y el de Anderson-Darling satisfacen el supuesto de normalidad dado que todos los p-valores son mayores que el nivel de significancia del 5 % establecido. Concluyendo que los residuos de las concentraciones de antocianinas totales se distribuyen de forma normal.





**Figura 9.** Gráfica de probabilidad normal para antocianinas totales mg/g

En la figura 9 se aprecia que los puntos aparecen próximos a la línea diagonal, lo que indica que las desviaciones no se alejan de la recta de ajuste normal por lo que se afirma que los residuos presentan normalidad.

**Tabla 16.** Homogeneidad de varianzas de los solventes

Otro supuesto importante para validar el modelo es comprobar si los residuos del modelo presentan varianza constante (o varianza homocedástica).

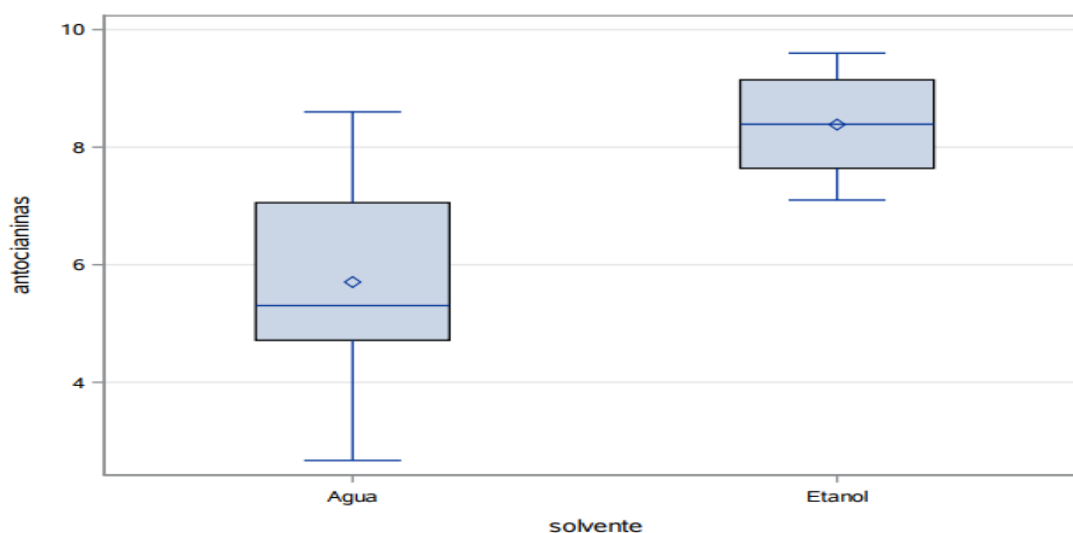
**Test de Levene para homogeneidad de la varianza de antocianinas totales  
ANOVA de desviaciones absolutas de las medias de grupo**

Origen	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
Solvente	1	2,136 1	2,136 1	3,12	0,091 4
Error	22	15,077 7	0,685 4		

**Test Brown y Forsythe para la homogeneidad de la varianza antocianinas totales  
ANOVA de desviaciones absolutas de las medias de grupo**

Origen	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
Solvente	1	1,820 5	1,820 5	2,17	0,155 0
Error	22	18,462 5	0,839 2		

El  $p$ -valor tanto de la prueba de Levene (0,0914) como la de Brown y Forsythe (0,1550) indican que no se puede rechazar la hipótesis de homogeneidad de las varianzas por lo que se concluye que los dos tipos de solventes tienen varianzas homogéneas.



**Figura 10.** Gráfica de cajas y bigotes del solvente según rendimiento de antocianinas totales de la coronta de maíz morado

La Gráfica 10 muestra que la distribución de las antocianinas totales de la coronta de maíz morado, extraídas con agua destilada como solvente muestra un sesgo hacia la izquierda, donde a partir del  $Q_2$  se concentran la mayor cantidad de antocianinas totales, además la caja para esta solvente muestra que las concentraciones son más variables. Mientras que la caja para antocianinas totales extraídas con etanol al 20 %, presenta una distribución simétrica dada que la mediana y el promedio están superpuestos; así también se observa una menor variabilidad y mejores resultados de la concentración de antocianinas totales con este solvente.

Los resultados de la aplicación test t de Dunnett muestra que el etanol extrae mayor cantidad de antocianinas totales que el agua destilada.

**Tabla 17.** Tests t de Dunnett para antocianinas totales

<b>Las comparaciones importantes del nivel 0,05 están indicadas por ***</b>				
Solvente; Comparación	Diferencia entre medias	I.C. 95 %		
Etanol – Agua	2,6792	1,4822	3,8761	***

Mientras que la prueba de Tukey para antocianinas totales, muestra resultados de igual modo que el etanol extrae mayor cantidad antocianinas que el agua destilada.

**Tabla 18.** Prueba de Tukey para antocianinas totales

<b>Las comparaciones importantes del nivel 0,05 están indicadas por ***</b>				
Solvente; Comparación	Diferencia entre medias	I.C. 95 %		
Etanol- Agua	2,679 2	1,482 2	3,876 1	***
Agua - Etanol	-2,679 2	-3,876	-1,482 3	***

Blanco y Troya (2014), evaluación de métodos no térmicos sobre la estabilidad de las antocianinas del maíz morado (*Zea Mays L.*) frente a temperatura de pasteurización, trabajó con tres tipos de maíz (A, B y C maíz peruano) encontrando valores para las muestras de ecuador entre 3,27 y 4,66 mg/g y para Perú 18,06 en un tiempo de extracción de 120 minutos por agitación y pasteurización a 80 °C por 15 segundos, haciendo comparación con el maíz morado cultivado en ecuador los valores obtenidos en la investigación son superiores y cercanos al C que se justifica por el menor tiempo empleado en la extracción.

Almeida (2012), en un trabajo relacionado con la extracción y caracterización del colorante natural del maíz negro (*Zea Mays L.*), de un cultivar de Ecuador, trabajados con etanol al 90 % y agua destilada, se encontró valores para agua destilada de 9,62

mg/g a un tiempo de 120 minutos y temperatura de 50 °C, para etanol al 90 % el valor es de 10,86 mg/g, tiempo de 120 minutos y temperatura de 50 °C, valores similares a los encontrados en la investigación y que se justifican por el menor tiempo utilizado en la extracción.

Gorriti *et al.* (2009), en un trabajo relacionado en antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas de maíz morado (*Zea mays* L.): Método de extracción en u cultivar testigo Joya (TJ), con solución etanólica al 20 %, encontró valores entre 11, 567 y 37,127 mg/g de coronta, en ese mismo año Gorriti *et al.* (2009), en otra investigación relacionada con extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays* L. maíz morado, con agua destilada y soluciones etanólicas al 20 % y 40 % encontró valores entre 8,404 y 47, 984 mg/g de coronta, los resultados obtenidos en la investigación son cercanos a dichos valores.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **5.1 CONCLUSIONES**

- Existen diferencias altamente significativas con  $p - valor < 0,05$  sólo para el solvente.
- Los resultados obtenidos muestran que tanto la temperatura como el tiempo no son factores determinantes para extraer antocianinas totales de la coronta del maíz morado.
- El solvente con el que se extrajo una mayor concentración de antocianinas totales (8,74 mg/g) es el etanol al 20 %, a una temperatura de 50 °C y un tiempo de 60 minutos.
- La concentración de antocianinas totales obtenidas utilizando agua destilada como solvente, fue 7,43 mg/g, a una temperatura de 70 °C y tiempo de extracción de 60 minutos.

#### **5.2 RECOMENDACIONES**

- En posteriores trabajos de investigación se debería utilizar más de una variedad de maíz morado

## CAPÍTULO VI

### BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera, M; Reza, M; Chew, R; Mesa, J. 2011.** Propiedades funcionales de las antocianinas. Revista de ciencias biológicas y de la salud. Vol 13. Mexico. 16-22 p. Consultado 23 de octubre 2016. Disponible en. <http://web.udlap.mx/tsia/files/2016/05/TSIA-9-Castaneda-Sanchez-et-al-2015.pdf>
- Almeida, J. 2012.** Extracción y caracterización del colorante natural del maíz negro (*Zea mays* L.) y determinación de su actividad antioxidante (en línea). Tesis para optar el título de Ing. Agroindustrial. Quito – Ecuador. Escuela Politécnica Nacional. Consultado 25 de Oct. 2016. Disponible en. <https://es.scribd.com/document/313852607/maiz-morado-Antocnn-Tesis-Ecuador>.
- Aoki, H; Kuze, N; Kato, Y. 2002.** Antocianina aislada de maíz morado *zea mays* L. Alimentos e ingredientes alimentarios de Japón. 41-45 p.
- Araujo Vargas, M. 1995.** Estudio de la extracción del colorante de maíz morado (*Zea mays* L.) con el uso de enzimas (en línea). Tesis para optar el grado de Magister Sc en Tecnología de Alimentos. Lima – Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. Consultado 10 ene. 2016. Disponible en <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=CEDIAA.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=000443>.
- Arroyo, J; Saez, E; Rodríguez, M; Chumpitaz, V; Burga, J; De la Cruz, W; Valencia, J. 2010.** Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*Zea mays* L.) en ratas hipercolesterolémicas. Revista peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, Instituto Nacional de Salud, Vol 24. Perú. 157-162 p.

- Badui, S. 2006.** Química de los alimentos. 4ta Ed. Editorial Pearson Educación, México. 403-426 p.
- Badui, S. 1988.** Química de los alimentos. 1ra Ed. Editorial Alhambra, Distrito Federal, México. 274-284 p.
- Badui, S. 1999.** Química de los alimentos. 3ra Ed. Editorial Longman, México. 274-284 p.
- Badui, S. 1993.** Química de los alimentos. 2da Ed. Editorial Pearson Educación, México. 377-405 p.
- Belitz, H; Grosch, W.** 1997. Química de los alimentos. 2da edición. Editorial ACRIBIA SA, Zaragoza, España. 239 p.
- Blanco, N y Troya R. 2014.** Evaluación y métodos no térmicos sobre la estabilidad de las antocianinas del maíz morado (*Zea maíz* L.) frente a temperatura de pasteurización (en línea). Tesis para optar el título en Ing. en Alimentos. Quito – Ecuador. Universidad San francisco de Quito. Consultado 20 de Dic. 2016. Disponible en <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/3576/1/112263.pdf>.
- Block, G; Patterson, B., Subar, A. 1992.** Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence, Nutr Cancer. 1-29 p.
- Brack, A.** 1999. Diccionario Enciclopédico de las Plantas Útiles del Perú. CBC, Cusco. 650 p.
- Bridgers, E; Chinn, S; Truong, D. 2010.** Extraction of anthocyanins from industrial purple-fleshed sweetpotatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars. Industrial, en: *Crops and Products*, 32 (3): 613-620 p.
- Centeno, M. 2003.** Extracción estabilización y evaluaciones analíticas del carmín. Centro

de investigación en ciencia aplicada y tecnología avanzada. Instituto Politécnico Nacional. México D.F.

**Cevallos Casals, BA; Cisneros Zeballos, L. 2004.** Stability of Anthocyanin-based Aqueous Extract of Andean Purple Corn and Red Fleshed Sweet Potato Compared to Synthetic and Natural Colorants. *Food Chem.* 69-77 p.

**Cevallos Casals, BA; Cisneros Zeballos, L. 2003.** Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry.* 69-77 p.

**Collazos Ch, C. 1962.** La composición de los alimentos peruanos. 3° ed. Revisada. Lima-Perú.

**Cuevas, E; Antezana, A; Winterhalter, P. 2008.** Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) boliviano. Universidad Mayor San Simón de Cochabamba, Bolivia.

**Chichizola, J; López, E; Navarro, J; Salinas, F. 2007.** Plan de negocios: "acopio, procesamiento y exportación de maíz morado". Trabajo aplicativo final presentado. EPG. UAP. Arequipa, Perú. 115 p.

**Ching, S; Ingram, D, Hahnel, R; Rossi, E. 2002.** Los niveles séricos de micronutrientes, antioxidantes y el estado antioxidante total predecir el riesgo de cáncer de mama en un estudio de casos y controles. *Diario de nutrición.* 303-306 p.

**Delgado Vargas, F; Jiménez, Ar; Paredes, López. 2000.** Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains-Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 173-289 p.

**De Pascual Teresa, S; y Sánchez Ballesta, M. 2008.** Anthocyanins: from plant to health.



Phytochemical Review. 281-299 p.

**Durak, L; Kacmaz, M; Cimen, M; Buyukkock, U; Ozturk, H. 2001.** Oxidante de sangre/el estado antioxidante de las pacientes arterioscleróticas, diario de la cardiología. 293-297 p.

**Durst, R; Wrolstad, R. 2001.** Separation and characterization of anthocyanins by HPLC, Handbook of food analytical Chemistry, New Jersey, USA. 33-45 p.

**Escribano. Bailón; Santos, Celestino; Rivas, Julián. 2004.** Anthocyanins in cereals. Journal of Chromatography. 129-141 p.

**Fan, G; Han, Y; Gu, Z; Gu, F. 2008.** Composition and colour stability of anthocyanins extracted from fermented purple sweet potato culture. LWT- Food Science and Technology. 1412–1416 p.

**Fennema, OR. 2000.** Química de los Alimentos, 2a ed. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza España. 774 p.

**Fennema, O. 1993.** Química de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

**Fernández, N. A. 1995.** Estudio de la extracción y pre - purificación de antocianinas de maíz morado (*Zea mays L.*). Tesis Ing. En Industrias Alimentarias. UNALM. Lima – Perú. 116 p.

**Francis, FJ; Markakis, PC. 1989.** Food colorants: anthocyanins. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 273–314 p.

**García, M; Quintero, R; López, A. 2004.** Biotecnología alimentaria. 1ra ed. Editorial Limusa México. 481 p.

- Garzón, G. 2008.** Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia Bogotá.
- Giusti, M; Wrolstad, R. 2003.** Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 14, 217-225 p.
- Gorriti Gutiérrez, A; Arroyo Acevedo, J; Negrón Ballarte, L; Jurado Teixeira, B; Purizaca Llajaruna, H; Santiago Aquise, I; Taype Espinoza, E; Quispe Jacobo, F. 2009.** Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (*zea mays* l.): método de extracción. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. Consultado 21 oct. 2015. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85617461006>.
- Gorriti, Gutiérrez, A; Quispe Jacobo, F; Arroyo Acevedo, J; Córdova, R; Jurado Teixeira, B; Santiago Aquise, I; Taype Espinoza, E. 2009.** Extracción de Antocianinas de las Corontas de *Zea mays* L. “MAÍZ MORADO” (en línea). Empresa Agronegocios peruagro S.R.L., Facultad de medicina UNMSM. Consultado 21 oct. 2015. Disponible en <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/viewFile/3395/4496>.
- Guillén, J; Mori, S; Paucar, L. 2014.** Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. Subnigroviolaceo. *Scientia Agropecuaria* 5. 212-213 p.
- Jing, P; Giusti, M. 2007.** Effects of extraction conditions on improving the yield and quality of an anthocyanin-rich purple corn (*Zea mays* L.) color extract. *Food Chem Toxicol*. 366–368 p.
- Jing, P; Bomser J; Schwartz, S; He, J; Magnuson, B; Giusti, M. 2008.** Structure function relationships of anthocyanins from various anthocyanin-rich extracts on the inhibition of colon cancer cell growth. *J Agric Food Chem*. 9391–9398 p.

- Joseph, J; Arendas, G; Gordon, M. 2003.** La administración de suplementos de arándanos mejora la señalización y evita anomalías de comportamiento en un modelo de la enfermedad de Alzheimer neurociencia. 153-162 p.
- Kraft, T. 2008.** Composición fitoquímica y la actividad metabólica de máximo rendimiento de las bayas de la dieta. Diario de la agricultura y química de los alimentos. 654-660 p.
- Manrique, A. 2000.** Maíz morado peruano. Instituto Nacional de Investigación Agraria (serie Folleto R.INa 04-00), Lima), Perú. 5-6 p.
- Manrique, A. 1995.** PPMCT-INIA Lima-Perú. Maíz morado peruano. 24 pp.
- Manrique, A. 1997.** El maíz en el Perú. Segunda edición, ediciones CONCYTEC Lima – Perú. 332 pp.
- Martínez, F; Gonzales, G; Culebras, J; Muñón, M. 2002.** Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. 271-278 p.
- Martínez, R. 2015.** Técnica de análisis espectrofotométrica de antocianinas en materias primas de la región de Ayacucho (en línea). Tesis Ing. Agr. Ayacucho, Perú. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Consultado 23 mayo. 2017. Disponible en: <https://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/946/>.
- Mazza, G; Miniati, E. 1993.** Las antocianinas en frutas, verduras y granos, CRC Press. 362 p.
- Medina, R. 2012.** Extracción de la colorante antocianina a partir del maíz morado y su aplicación en la industria alimentaria (en línea). Monografía Ing. Inds. Alim. Huacho, Perú. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión. 67 p. Disponible en <https://es.scribd.com/doc/98233421/Monografia-Extraccion-de-Antocianina>.

- Méndez, A. 2010.** Compuestos químicos (en línea). La guía de química, Perú; 13 de Dic. Consultado 01 de Jun. 2017. Disponible en <http://quimica.laguia2000.com/quimica-organica/metanol#ixzz4ilOHt5Of>.
- Moreno, L; Paz, A; Mamani, Ch; Mamani, Q; Manchego, R. 2013.** Curva dosis efecto de las antocianinas de tres extractos de *Zea mays* L. (maíz morado) en la vasodilatación de anillos aórticos de rata. Rev. Perú. Med. Exp. Salud pública. 714-728 p.
- Nicaragua. 2004.** (en línea), Cadena Agroindustrial Etanol, consultado el 18 de julio del 2017. Disponible en, <http://repiica.iica.int/docs/B0014e/B0014e.pdf>. 24 p.
- Olsson, E; Gustavsson, K; Duan, R. 2004.** La inhibición de la proliferación de células cancerosas in vitro por extractos y correlaciones con los niveles de antioxidantes. Diario de la química agrícola y alimentaria. 7264-7271 p.
- Pascual Teresa, S; Santos Buelga, C; Rivas Gonzalo J.C. LC-MS. 2002.** Analysis of anthocyanins from purple corncob. Journal of the Science of Food and Agriculture. 1003-1006 p.
- Pedreschi, R; Cisneros, L. 2006.** Antimutagenic and antioxidant properties of phenolic fractions from Andean purple corn (*Zea mays* L.). J Agric. Food Chemical. 4557-4567 p.
- Peña, A; Arroyo, A; Gómez, A; Tapia, R; Gómez, C. 2005.** Bioquímica (en línea). Limusa, Noriega Editores, México. ...p. Consultado 01 Jun, 2017. Disponible en <https://books.google.com.pe/books?id=EFUP472dyEMC&pg=PA53&dq=agua+como+solvente&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwillJKA3Z3UAhUTxCYKHbsCNwQ6AEIIDA#v=onepage&q=agua%20como%20solvente&f=false>.

- Pereira, K.; Ramos, G; Zapata, N; Tessaro, I; Ferreira, M.** 2010. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment, en: Food Science, 173-176 p.
- Pío Antonio, Manrique.** 1997 El maíz en el Perú. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología - CONCYTEC, Lima. 362 p.
- Quintero, R; Mariano, G; Lopez, A.** 2002. Biotecnología alimentaria. 5ta ed. Editorial Limusa S.A, mexico. 481 p.
- Quiñones, R; Barrera, E.** 2015. Composición de antocianinas monomericas de cinco fenotipos de maíz coloreado (*zea mays* l.) de la región central colombiana (en línea). Revista Facultad de Ciencias Universidad Nacional de Colombia: 38- 61. Consultado 25 mayo 2017. Disponible en <http://ciencias.medellin.unal.edu.co/revistas/facultad>.
- Rein, M.** 2005. Copigmentation reactions and color stability of Berry anthocyanins. Academic dissertation. University of Helsinki. department of Applied Chemistry and Microbiology Food Chemistry Division. 87 p.
- Risco, M; Reland, D; Avendaño, T; Martínez, A; Quispe, P; Pérez, Ch; Aróstegui, G; Calderón, G; Guevara, C; Valdez, R.** (2007). Conociendo la cadena productiva del maíz morado en Ayacucho. Solid-Perú. Consultado 12 de mayo 2017. Disponible en <https://es.scribd.com/document/84836125/Cadena-Productiva-de-maiz-morado>. 88 p.
- Rodriguez L, Wolstrad R.** 2001. Extraction, isolation, and purification of anthocyanins. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. F1.1.1.
- Salinas, Y, Rubio, D; Díaz, A.** 2005. Extracción y uso de pigmentos del maíz (*Zea mays* L) como colorantes en yogur. Departamento de ingeniería agroindustrial. Universidad autónoma Chapingo, México. 293-298 p.

**Sevilla, P; Valdez, M. 1985.** Fopex Lima-Perú. Manual del cultivo. Maíz morado. 46, 49 p.

**Schawartz, S.1998.** Análisis de pigmentos. El análisis de alimentos. El análisis químico de los alimentos, N°6. Vol. 17. 846-847 p.

**Terranova, 1995.** Enciclopedia agropecuaria terranova. Producción agrícola I. Tomo II Santa Fe de Bogotá Colombia. 1ra ed. Editorial Voluntad. 154-155 p.

**Timberlaque, F.2009.** Anthocyanins occurrence, extracción and chemistry. Food Chemistry. 69-80 p.

**Torgils, F; Rune, S; Oyvind; M. 2001.** Anthocyanins from Maize (*Zea mays*) and Reed Canarygrass (*Phalaris arundinacea*). Department of Chemistry, University of Bergen, Alle. 5007 p.

**Williams, Ca; Grayer, Rj. 2004.** "Anthocyanins and other flavonoids". Nat. Prod. Rep. 539-573 p.

**Wrolstad, RE; Giusti; M.2003.** antocianos acilados de fuentes alimenticias y sus aplicaciones en los sistemas alimentarios. 217-225 p.

**Wrolstad, R.E. 2001.** Extraction, Isolation, and Purification of Anthocyanins. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Copyright @ 2001 by John Wiley and Sons.Inc.

**Wrolstad, RE; Lauro, GJ; Francis, FJ. 2000.** Natural Food Colorants. New York, N.Y.: Marcel Dekker, Inc. 237-252 p.

**WROLSTAD, R. E. 2004.** Anthocyanin Pigments-bioactivity and Coloring Properties. J Food Sci. p 419-C425.

**Ullauri, P. 2010.** Transporte de masa en extracción fase sólido-Líquido. Editorial reciteia, Cali, Colombia.

**Yang, Z; Han, Y; Guz, F; Chen, Z. 2007.** Thermal degradation kinetics of aqueous anthocyanins and visual color of purple corn (*Zea mays* L.) Innovative Food Science Emerging Technologies.

**Yang, Z; Fan, G; Guz, Han; Chen Z. 2007b.** Optimization extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob using tristimulus colorimetry. Eur Food Res Technol; DOI 10.1007/S 00217-007-0735-4: Springer-Verlag.

**Zeiger, E; Taiz, L. 2006.** Fisiología vegetal, Colección de ciencias experimentales, vol 1, Castellón, España

**Yolanda, S; Aragón, F; Ybarra, C; Aguilar, J; Altunar, B; Sosa, E. 2013.** Caracterización física y composición química de razas de maíz de grano azul/morado de las regiones tropicales y subtropicales de Oaxaca. Rev. Fitotec. Mex vol. 36 no. 1 Chapingo, 3-10 p.

**Yúfera, E. 1995.** Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria II. 1ra ed. Editorial Reverte, Barcelona, España. 920-921 p.

# **ANEXOS**





**Figura 13.** Tamizado



**Figura 14.** Pesado de muestra



**Figura 15.** Extracción de antocianinas



**Figura 16.** Filtrado al vacío



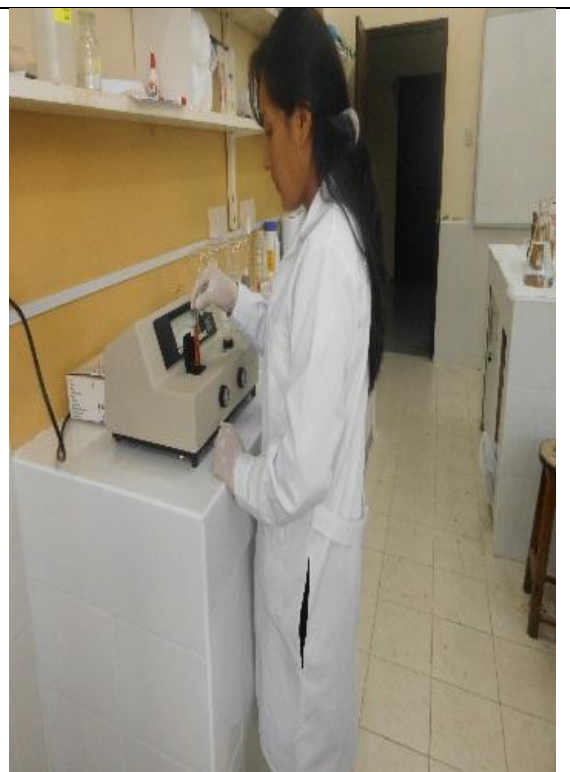
**Figura 17.** Concentración



**Figura 18.** Extracto de antocianinas



**Figura 19.** Muestras para lectura



**Figura 20.** Lectura de absorbancias