

Revista Latinoamericana de Difusión Científica
Volumen 5 – Número 8
Depósito Legal ZU2019000058 - ISSN 2711-0494

Revista Latinoamericana de Difusión Científica



Volumen 5 - Número 8
Enero – Junio 2023
Maracaibo – Venezuela

Extracción y cuantificación de Antocianinas de maíz morado (*zea mays* L.) utilizando dos solventes a diferentes temperaturas y tiempos de extracción

DOI: <https://doi.org/10.38186/difcie.58.04>

Emérita Rafael Sánchez*
Daniel Jesús Castro Vargas**

RESUMEN

Esta investigación se desarrolló en el Laboratorio de Química Ambiental 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 de 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: Química ambiental, Industria alimentaria, Antocianinas, Compuesto químico.

El artículo reúne los aspectos centrales de la tesis de la autora principal, para optar al grado de Ingeniero en Industrias Alimentarias, en la Universidad Nacional de Cajamarca-Perú.

*Ingeniero en Industrias Alimentarias. Área: Técnico de Laboratorio de Agua, Escuela Profesional de Ingeniería Forestal y Ambiental. Universidad Nacional Autónoma de Chota. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2604-9254>. E-mail: rafaelsanchezemerita@gmail.com

**Docente de la Universidad Nacional Autónoma de Chota – UNACH, Perú. E-mail: djcastrov@unach.edu.pe

Extraction and quantification of Anthocyanins from purple corn (*zea mays* L.) using two solvents at different temperatures and extraction times

ABSTRACT

This research was carried out in the Environmental Chemistry Laboratory of the National University of Cajamarca. 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 20% ethanol solvent at a temperature between 50 °C and an extraction time of 60 minutes, the value obtained being 8.74 mg of total anthocyanins with a standard deviation of 1.42.

KEYWORDS: Environmental chemistry, Food industry, Anthocyanins, Chemical compounds.

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).

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- β -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 Wrosltad 2001).

1. Cultivo del maíz morado (*Zea mays* L.)

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).

REINO	VEGETAL
División:	Tracheophyta
Clase:	Angiosperma
Orden:	Gramideas
Familia:	Gramideae
Género:	<i>Zea</i>
Especie:	<i>Mays</i>
Nombre científico:	<i>Zea Mays</i> L

Tabla 1. Clasificación taxonómica del maíz morado
Fuente: Terranova (1995).

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:

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
Total	100	100

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

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

1.2. 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).

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

Tabla 3. Composición química de la coronta del maíz morado

Fuente: Delgado (2000).

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 (Fernández 1995).

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).

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

Tabla 4. Porcentaje de antocianinas en el grano y la coronta del maíz morado
Fuente: Araujo (1995)

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).

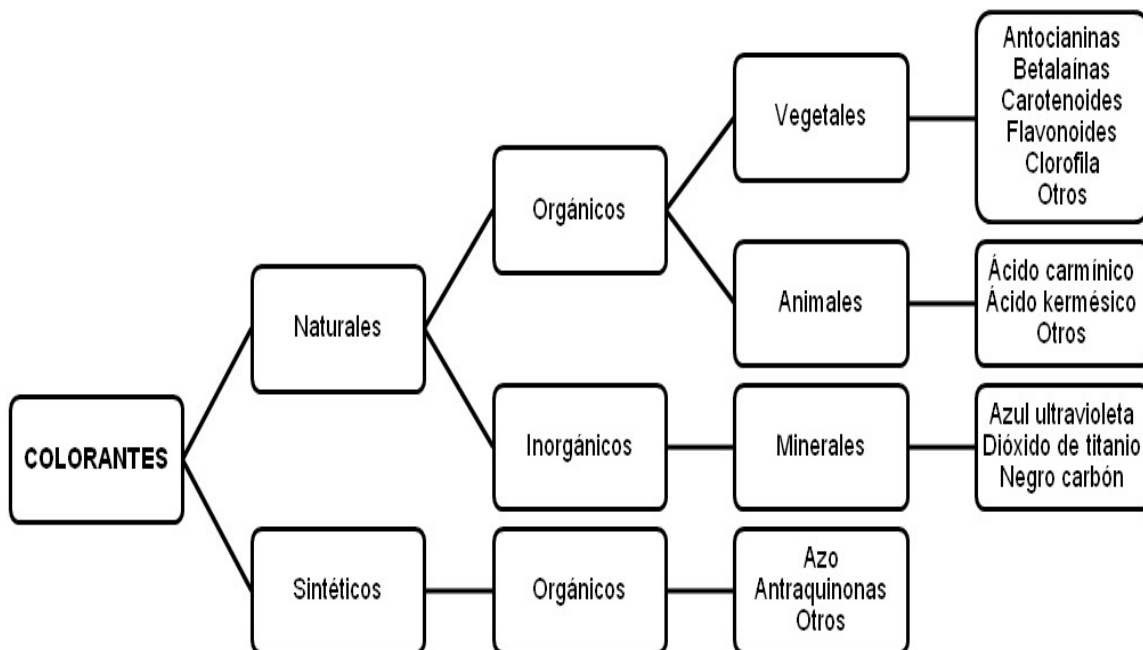


Figura 1. Clasificación de los colores naturales (García *et al.* 2004)

Los pigmentos naturales son generados por microorganismos, vegetales, animales o minerales (Badui 2006).

El maíz morado contiene seis importantes antocianinas: pelargonidina-3-O-β-D-glucósido, peonidina-3-O-β-D-glucósido, cianidina-3-O-β-D-(6-malonilglucósido), pelargonidina-3-O-β-D-(6-malonilglucósido) y peonidina-3-O-β-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-β-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).

La acción de la luz en los colorantes produce su ruptura y como consecuencia de esto se forman compuestos incoloros de bajo peso molecular (Schwartz 1998).

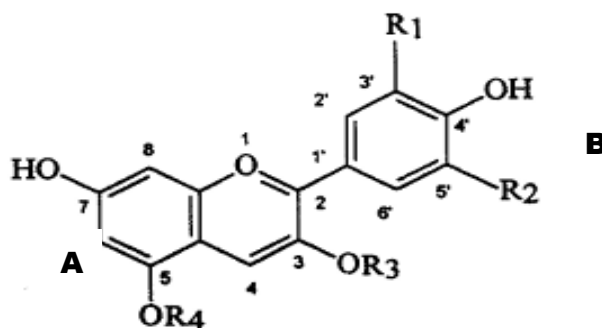


Figura 3. El catión flavilio, R_1 y $R_2 = -H, -OH, \text{ o } OCH_3$, $R_3 = -\text{glicosilo}$, $R_4 = -H \text{ o } -\text{glicosilo}$ (Fennema 2000).

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

AGLICONA	R ₁	R ₂
Petunidina	OH	OCH ₃
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃
Pelargonidina	H	H
Delfinidina	OH	OH
Cianidina	OH	H
Peonidina	OCH ₃	H

Tabla 5. Principales radicales de las antocianinas

Fuente: Durst y Wrolstad (2001).

Las antocianinas pueden clasificarse en base a la cantidad de moléculas de azúcar que contienen; las diferentes posiciones antes mencionadas se puede ver en la Figura 3

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).

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 (Wrolstad 2000; Cevallos Casals y Cisneros Zeballos 2004).

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).

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).

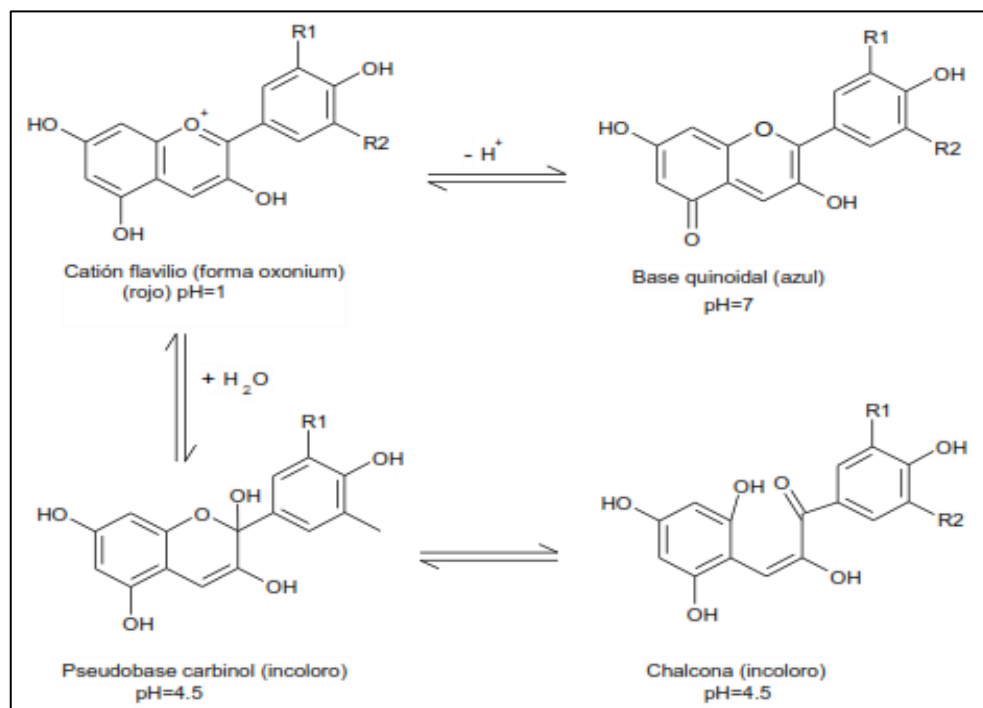


Figura 4. Efecto del pH en la estructura de las antocianinas (Wrolstad 2004)

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).

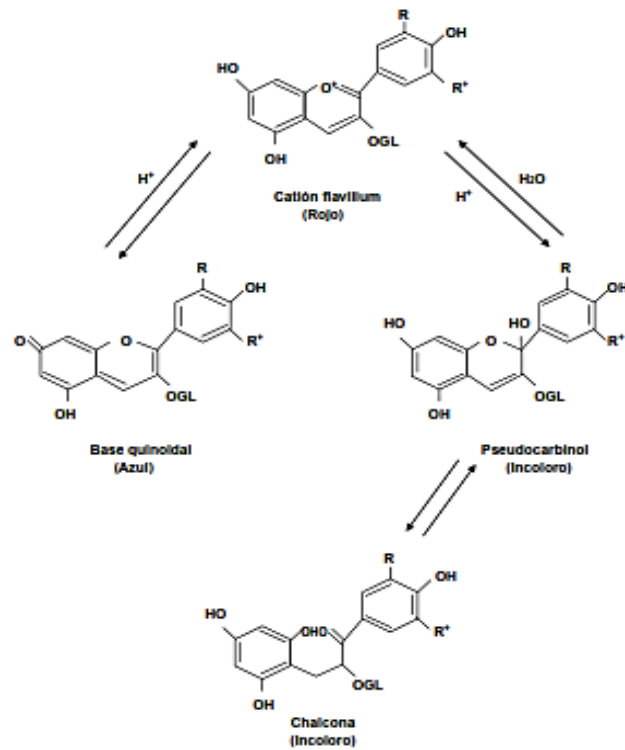


Figura 5. Forma de equilibrio de las antocianinas en solución acuosa (Rein 2005).

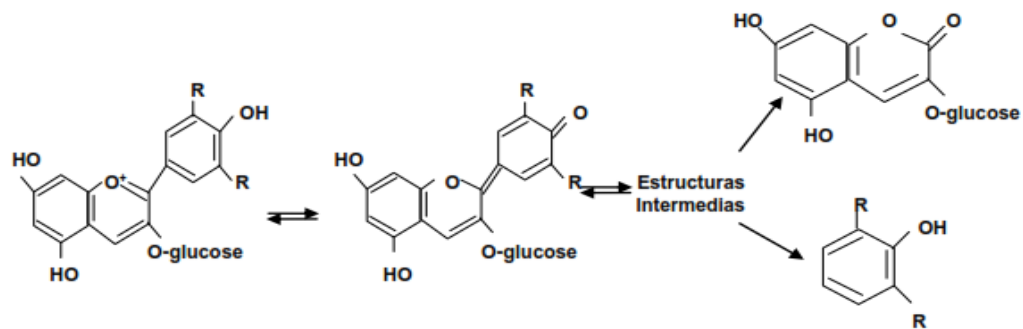


Figura 6. Degradación de antocianina monoglucósido a pH 3,7 acelerada por el calor (Rein 2005).

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 (Rein, 2005).

d) Efecto de la luz

Se acepta, generalmente, que la luz acelera la degradación de las antocianinas.

e) Efecto de los azúcares

Los azúcares a altas concentraciones, como ocurre en las conservas de frutas, estabilizan las antocianinas.

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 (Fennema, 2000).

g) Efecto del dióxido de azufre

Pequeñas cantidades de SO₂ pueden decolorar rápidamente cantidades significativas de antocianina (Fennema, 2000; Badui, 1999).

2. 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.

2.1. Determinación del contenido de antocianinas

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 (Wrosstad *et al.*, 2000) de la siguiente manera:

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

donde:

[Antocianinas totales] = concentración de antocianinas totales en mg/L

A_{neta} = absorbancia neta

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

M = masa molar de la cianidina-3-glucósido = 449,2 g/mol

FD = factor de dilución (1 en 50)

10^3 = factor para convertir g a mg

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

l = longitud del paso de celda = 1 cm

2.2. Factores que influyen en la extracción

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 trascurre, la cantidad de soluto aumentara y el gradiente de concentración disminuye, incrementando progresivamente la viscosidad (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. 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 (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 CH_3OH , teniendo una estructura química muy similar a la del agua, diferenciándose tan sólo en los ángulos de enlace (Méndez, 2010).

3. Metodología

El presente trabajo de investigación es del tipo 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.

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

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).

En la Tabla 6 se muestran 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.

En la Tabla 7 se observan 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 (CH₃ – 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.

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

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).

3.1. 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 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.

3.1.1. Extracción de antocianinas totales de coronta de maíz morado - método del pH diferencial

- 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 descomposición.

- 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.

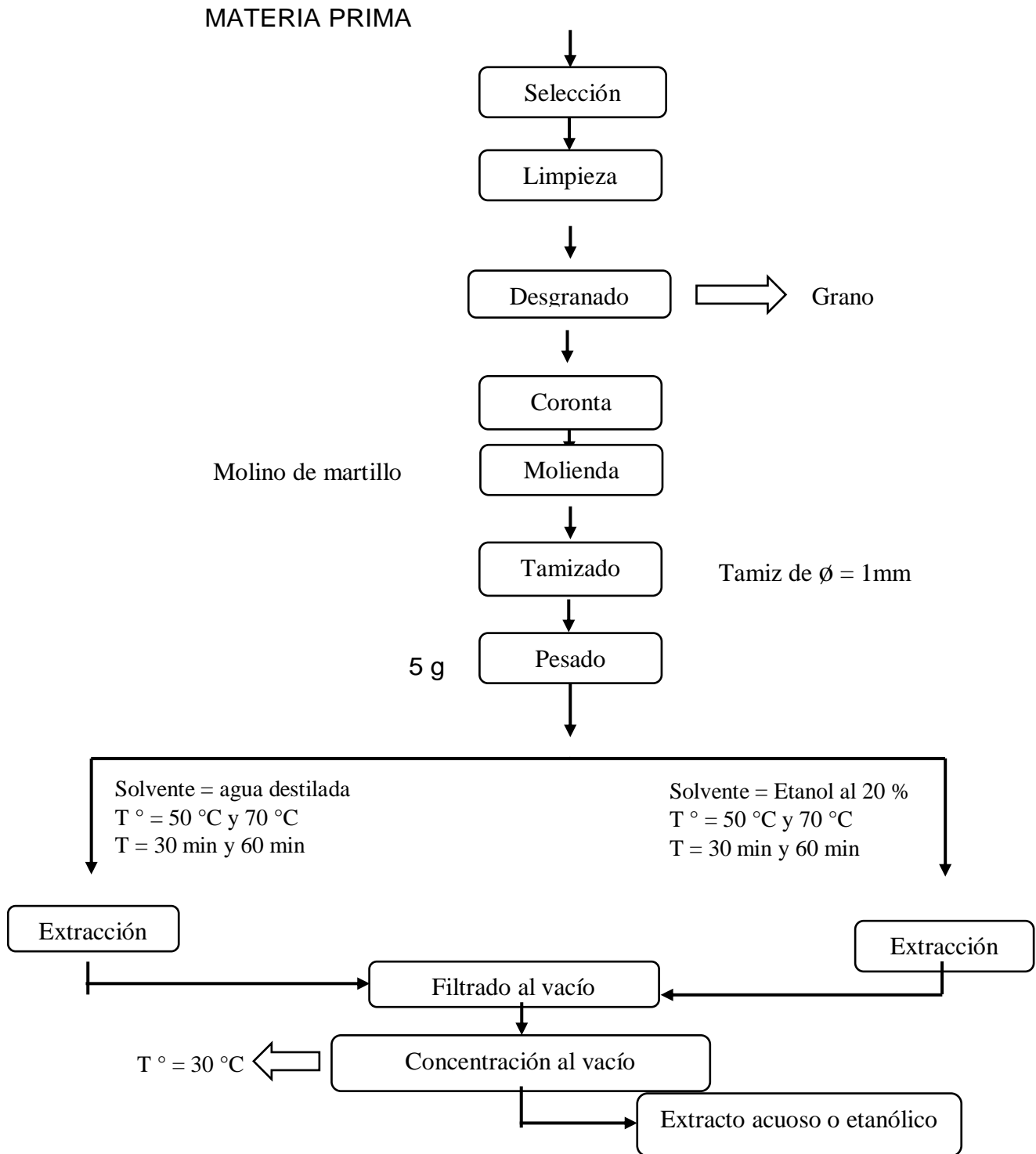


Figura 7. Flujograma de operaciones para la extracción de antocianinas totales de la coronta de maíz morado basado en (Fernández 1995).

- 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.

3.1.2. Cuantificación de antocianinas totales de coronta de maíz morado - método del pH diferencial

• 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).

EXTRACTO ACUOSO O ETANÓLICO

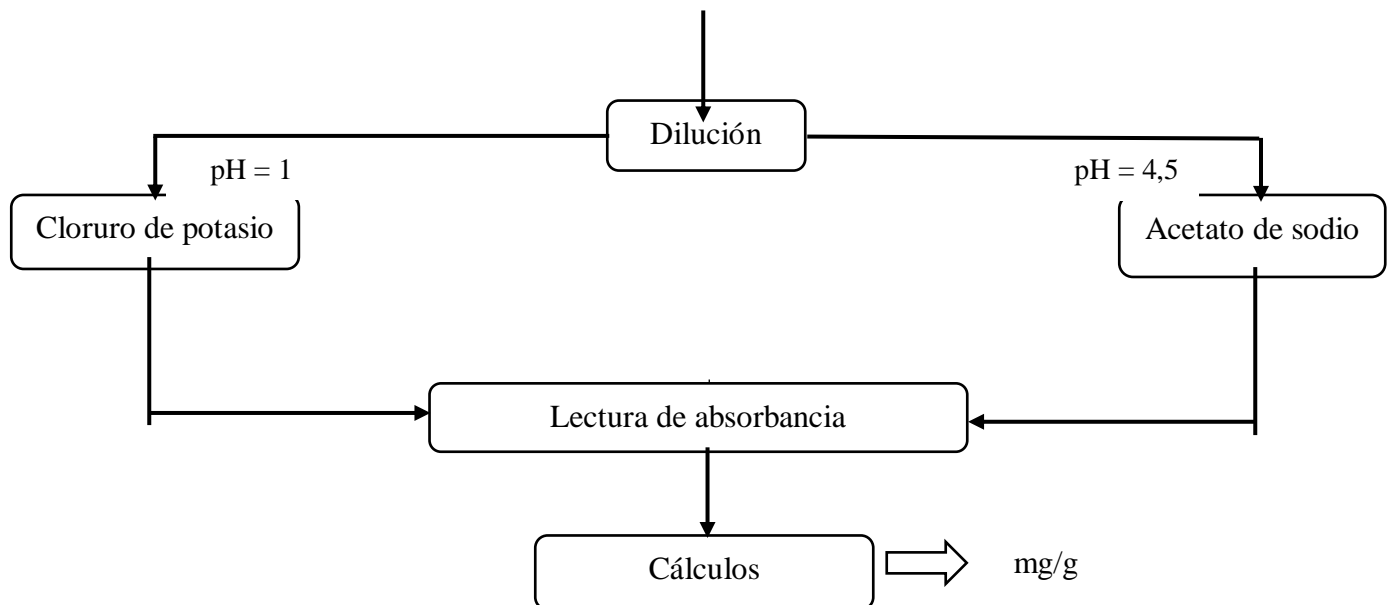


Figura 8. Flujograma de operaciones para la cuantificación de antocianinas totales de la coronta de maíz morado basado en (Fernández 1995).

- 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).

3.2. Diseño y análisis estadístico

3.2.1. Tipo de diseño

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

Solvente	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
Agua	50	30
		60
	70	30
		60
Etanol	50	30
		60
	70	30
		60

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

3.2.2. 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.

4. Resultados

4.1. Caracterización de la coronta del maíz morado

4.1.1. 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)

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

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

- Cálculo del porcentaje de humedad

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

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

4.2. 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.

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

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

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.

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.

Solvente	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Media	Desviación estándar	N	CV
Agua destilada	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
Etanol al 20 %	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

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

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; este es el caso de una variedad mejorada del distrito de La Joya del departamento de Arequipa, teniendo en cuenta que dicho resultado es de un maíz mejorado.

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

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

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			

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

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

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, 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:

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

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:

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

Antocianinas totales mg/g

Solvente	Media	Desviación estándar
Agua destilada	5,705 0	1,777
Etanol 20 %	8,384 2	0,916
Total	7,044 6	1,945

Tabla 13. Comparación de medias de los solventes

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.

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

R² = 0,966 CV = 20,068 02

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

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 %.

4.3. 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 la validez del diseño experimental planteado, se analizan los residuales del diseño formulado.

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 utilizaron 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).

Test para normalidad

Test	Estadístico	P valor
Shapiro-Wilk	W 0,970 882	Pr < W 0,688 8
Kolmogorov-Smirnov	D 0,120 377	Pr > D 0,150 0
Anderson-Darling	A-Sq 0,342 964	Pr > A-Sq 0,250 0

Tabla 15. Validación de los supuestos del modelo

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.

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.

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

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

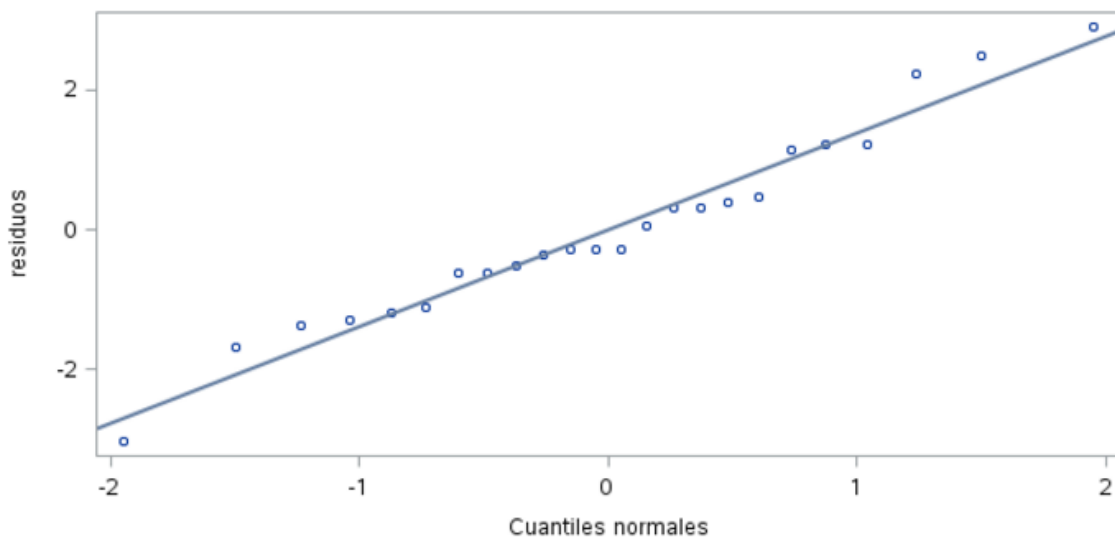


Figura 9. Gráfica de probabilidad normal para antocianinas totales mg/g

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		

Tabla 16. Homogeneidad de varianzas de los solventes

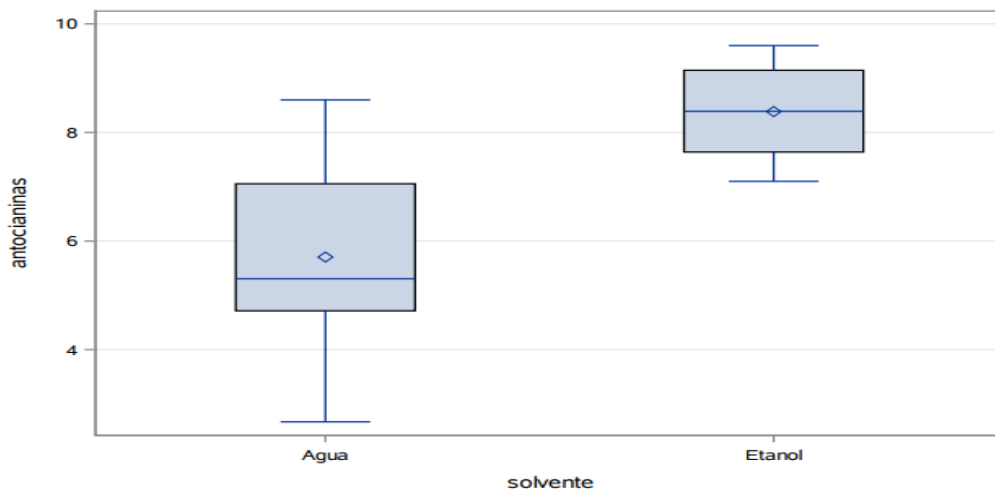


Figura 10. Gráfica de cajas y bigotes del solvente según rendimiento de antocianinas totales de la coronta de maíz morado

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, dado 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 muestran que el etanol extrae mayor cantidad de antocianinas totales que el agua destilada.

Las comparaciones importantes del nivel 0,05 están indicadas por

Solvente; Comparación	Diferencia medias	entre I.C. 95 %		
Etanol – Agua	2,6792	1,4822	3,8761	***

Tabla 17. Tests t de Dunnett para antocianinas totales

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.

Las comparaciones importantes del nivel 0,05 están indicadas por

Solvente; Comparación	Diferencia medias	entre I.C. 95 %		
Etanol- Agua	2,679 2	1,482 2	3,876 1	***
Agua - Etanol	-2,679 2	-3,876	-1,482 3	***

Tabla 18. Prueba de Tukey para antocianinas totales

Blanco y Troya (2014) trabajaron 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 con antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas de maíz morado (*Zea mays* L.): Método de extracción en un 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.

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.

Referencias

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 mayz* 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.scrbd.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/cqi-bin/wxis.exe/?IisScript=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. (1988). Química de los alimentos. 1ra Ed. Editorial Alhambra, Distrito Federal, México. 274-284 p.

Badui, S. (1993). Química de los alimentos. 2da Ed. Editorial Pearson Educación, México. 377-405 p.

Badui, S. (1999). Química de los alimentos. 3ra Ed. Editorial Longman, México. 274-284 p.

Badui, S. (2006). Química de los alimentos. 4ta Ed. Editorial Pearson Educación, México. 403-426 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.

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.

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.

De Pascual Teresa, S; y Sánchez Ballesta, M. (2008). Anthocyanins: from plant to health. *Phytochemical Review.* 281-299 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.

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.

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, 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., 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; 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>.

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.

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.

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. (1997). El maíz en el Perú. Segunda edición, ediciones CONCYTEC Lima – Perú. 332 pp.

Manrique, Pío Antonio (1997). El maíz en el Perú. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología - CONCYTEC, Lima. 362 p.

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/>.

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.

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=0ahUKEwillJKA3Z3UAhUTxCYKHebsCNwQ6AEIIDA#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.

Quiñones, R; Barrera, E. (2015). Composición de antocianinas monoméricas 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.

Rodriguez L, Wolstrad R. (2001). Extraction, isolation, and purification of anthocyanins. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. F1.1.1.

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

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

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

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

Williams, Ca; Grayer, R. (2004). "Anthocyanins and other flavonoids". Nat. Prod. Rep. 539-573 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.

Yang, Z; Fan, G; Guz, Han; Chen Z. (2007). 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.

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.

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