



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS**  
**CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**

---

**“Extracción de antocianinas a partir de Coronta de maíz morado (*Zea mays L.*) para el aprovechamiento de residuos agrícolas”.**

---

Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación, previa la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Autor:** Manzano Naranjo Pedro Andrés.

**Tutor:** Mg. Carpio Cecilia Mercedes

Ambato – Ecuador  
Diciembre 2016

## APROBACIÓN DEL TUTOR

**Cecilia Carpio**

**CERTIFICA:**

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 24 de agosto del 2016.



---

**Mg. Cecilia Mercedes Carpio**

C.I. 170462765-0

**TUTOR**

### **Declaración de autenticidad**

Yo, Pedro Andrés Manzano Naranjo, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo la obtención del título de Ingeniero Bioquímico son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.

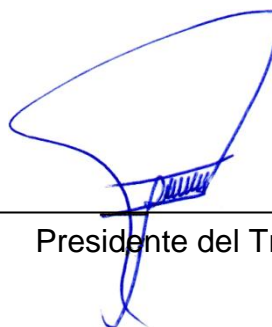


Sr. Pedro Andrés Manzano Naranjo  
C.I. 180461873-2  
**AUTOR**

## APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO

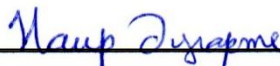
Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



---

Presidente del Tribunal



---

Ph.D. Nahir Yerely Dugarte Jiménez  
C.I. 175347919-3



---

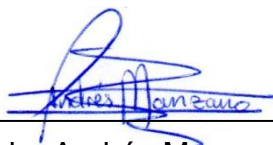
Ph.D. Orestes López Hernández  
C.I. 175478486-4

Ambato, 24 de Octubre de 2016

## DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



---

Sr. Pedro Andrés Manzano Naranjo  
C.I. 180461873-2  
**AUTOR**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo está dedicado para mi Padre, que supo guiarme en toda mi vida y darme todo el apoyo necesario para seguir adelante.

A mi madre que me sigue enviando la fuerza necesaria para seguir en este caminar.

A mi hermano, un ejemplo de vida que ha estado en todos los momentos y en todas las adversidades.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por todas las bendiciones que ha puesto en mi vida, por la oportunidad de seguir y por la fuerza que me ha dado para finalizar esta etapa.

A mis padres, por todo el apoyo y guía que supieron dar en mi camino y a lo largo de toda mi vida.

A mi hermano, por ser un ejemplo de constancia y fuerza para no rendirse en el camino.

A mi vieja amiga Majo y Chino por la ayuda prestada y por todos los momentos vividos a lo largo de esta etapa.

A la Ing. Cecilia Carpio, por el tiempo, la paciencia y dedicación en el desarrollo este proyecto.

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

|   |      |
|---|------|
| Portada .....   | I    |
| Aprobación del tutor .....                            | II   |
| Declaración de autenticidad .....                     | III  |
| Aprobación de los miembros de tribunal de grado ..... | IV   |
| Derechos de autor.....                                | V    |
| Dedicatoria .....                                     | VI   |
| Agradecimiento .....                                  | VII  |
| Resumen.....  | XIII |
| Abstract .....  | XIV  |
| INTRODUCCIÓN .....                                    | 1    |

### CAPÍTULO I

#### EL PROBLEMA

|       |                            |   |
|-------|----------------------------|---|
| 1.1   | Tema .....                 | 3 |
| 1.2   | Justificación .....        | 3 |
| 1.3   | Objetivos.....             | 4 |
| 1.3.1 | Objetivo general .....     | 4 |
| 1.3.2 | Objetivos específicos..... | 4 |

### CAPÍTULO II

#### MARCO TEÓRICO

|       |  |   |
|-------|--|---|
| 2.1   | Antecedentes investigativos .....                                | 5 |
| 2.1.2 | Factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas..... | 6 |
| 2.1.3 | Beneficios a la salud.....                                       | 9 |



|       |   |    |
|-------|---|----|
| 2.2   | Hipótesis.....                                  | 9  |
| 2.3   | Señalamiento de variables de la hipótesis ..... | 11 |
| 2.3.1 | Variable independiente.....                     | 11 |
| 2.3.2 | Variable dependiente.....                       | 11 |

### CAPÍTULO III

#### MATERIALES Y MÉTODOS

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 3.1   | Materiales.....   | 12 |
| 3.2   | Métodos.....  | 12 |
| 3.2.1 | Selección de la coronta de Maíz Morado para la extracción de antocianinas ..... | 12 |
| 3.2.2 | Reducción del tamaño de partícula de la coronta de Maíz Morado...               | 12 |
| 3.2.3 | Determinación del tamaño de partícula de la coronta de Maíz Morado .....        | 12 |
| 3.2.4 | Determinación de humedad de la coronta de Maíz Morado .....                     | 13 |
| 3.2.5 | Extracción de Antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado...             | 13 |
| 3.2.6 | Cuantificación de Antocianinas en el extracto de coronta de Maíz Morado .....   | 13 |
| 3.2.7 | Caracterización de Antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado .....     | 14 |
| 3.3   | Diseño experimental.....  | 15 |

### CAPÍTULO IV

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

|         |   |    |
|---------|---|----|
| 4.1     | Análisis y discusión de resultados.....                           | 16 |
| 4.1.1   | Análisis Físico-Químico de la coronta molida de Maíz Morado ..... | 16 |
| 4.1.1.1 | Tamaño de partícula de la coronta molida de Maíz Morado.....      | 16 |

|         |  |    |
|---------|--|----|
| 4.1.1.2 | Contenido de humedad de la coronta molida de Maíz Morado. ....   | 18 |
| 4.1.2   | Análisis Físico-Químico del extracto de Antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado.....  | 18 |
| 4.1.2.1 | Contenido de Antocianinas en el extracto de coronta de Maíz Morado .....   | 18 |
| 4.1.2.2 | Contenido de oxalatos, nitratos y compuestos fenólicos en el extracto de coronta de Maíz Morado.....   | 25 |
| 4.2     | Verificación de hipótesis .....  | 30 |
| 4.2.1   | Efecto de la relación material vegetal-volumen de solvente en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado...  | 31 |
| 4.2.2   | Efecto del tiempo en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.....   | 31 |
| 4.2.3   | Efecto de la temperatura en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado .....   | 32 |
| 4.2.4   | Efecto de la relación material vegetal-volumen de solvente, tiempo de extracción y temperatura en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado ..... | 33 |

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

|     |                                  |    |
|-----|----------------------------------|----|
| 5.1 | Conclusiones.....                | 39 |
| 5.2 | Recomendaciones.....             | 40 |
|     | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... | 41 |
|     | ANEXOS .....                     | 45 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| Tabla 1. Tamiz estándar ASTM, tamaños de abertura, aberturas promedio, y diámetro promedio de las partículas de coronta molida de Maíz Morado. ....   | 17 |
| Tabla 2. Porcentaje de humedad en la coronta molida de Maíz morado. ....  | 18 |
| Tabla 3. Concentración de antocianinas en el extracto de coronta de Maíz Morado en mg de cianidin-3-glucósido /L, contenido del colorante por g de coronta y rendimiento de extracción..... | 21 |
| Tabla 4. Estandarización de la solución de permanganato de potasio.....   | 26 |
| Tabla 5. Normalidad del oxalato de calcio en el extracto de antocianinas a partir de coronta de Maíz Morado.....  | 27 |
| Tabla 6. Concentración de oxalatos en el extracto de antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado. ....   | 28 |
| Tabla 7. Composición química del extracto de antocianinas a partir de coronta de Maíz Morado. ....  | 29 |
| Tabla 8. Análisis de varianza para la concentración de antocianinas (mg/L). ..  | 30 |
| Tabla 9. Prueba de múltiples rangos para la relación de material vegetal-solvente .....   | 31 |
| Tabla 10. Prueba de múltiples rangos para el Tiempo de extracción .....   | 32 |
| Tabla 11. Prueba de múltiples rangos para la Temperatura de extracción .....  | 32 |
| Tabla 12. Concentración de antocianinas en el extracto de coronta de Maíz Morado (mg de cianidin-3-glucósido/L) a diferentes condiciones de los factores a, b y c .....                     | 35 |
| Tabla 13. Análisis de varianzas para la concentración de antocianinas (mg/L) para el diseño compuesto central.....  | 36 |
| Tabla 14. Coeficientes de regresión de antocianinas.....  | 38 |
| Tabla 15. Respuesta óptima.....   | 38 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Estructura de las 6 antocianidinas más comunes en la naturaleza .....   | 6  |
| Figura 2. Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH.....  | 7  |
| Figura 3. Concentración de antocianinas (mg/L) en función de las combinaciones de los factores estudiados.....                | 22 |
| Figura 4. Cantidad de antocianinas (mg/g de material vegetal) en función de las combinaciones de los factores estudiados..... | 24 |
| Figura 5. Porcentaje de rendimiento en función de las combinaciones de los factores estudiados.....                           | 25 |
| Figura 6. Diagrama de Pareto estandarizado para la concentración de antocianinas (mg/L).....                                  | 36 |
| Figura 7. Gráfico de efectos principales de los factores estudiados.....  | 37 |
| Figura 8. Superficie de respuesta estimada para la concentración de antocianinas (mg/L).....                                  | 37 |

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue extraer un colorante natural a partir de la coronta de Maíz Morado (*Zea mays L.*) que sirva como sustituto de colorantes sintéticos que pueden provocar daños a la salud y reducir la contaminación causada por parte de los residuos agrícolas. El colorante presente en el Maíz Morado es la cianidin-3-glucósido, perteneciente al grupo de las antocianinas, las cuales tienen propiedades antioxidantes que benefician a la salud, por lo que al ser utilizado como sustituto de colorantes artificiales aporta un valor agregado al producto de consumo humano.

Se evaluó el efecto de la temperatura, tiempo de extracción y relación material vegetal-volumen de solvente para obtener la mayor concentración de antocianinas. Los mejores resultados de concentración de antocianinas y rendimiento se dieron con una relación material vegetal-volumen de solvente de 1:80 (M/V), un tiempo de extracción de 1 hora y una temperatura de 90°C, logrando una concentración de 234,870 mg/L, o 18,79 mg/g de coronta, con un porcentaje de rendimiento de 1,879%.

**Palabras clave:** Antocianinas, cianidin-3-glucósido, Maíz Morado, *Zea mays L.*, colorante natural.

## ABSTRACT

This study aimed to extract a natural dye from purple corn cobs (*Zea mays L.*) that could serve as a substitute for synthetic dyes which can cause damage to health, and reduce pollution caused by agricultural waste. Dye existing in purple corn is cyanidin-3-glucoside, belonging to the group of anthocyanins, which have antioxidant properties that benefit health, so when used as a substitute of chemical dyes it adds value to the product intended for human consumption.

Temperature, extraction time and plant material-solvent volume relationship to obtain the best concentration of anthocyanin material was evaluated. Best results of anthocyanin concentration and yield were obtained with a 1:80 (W/V) plant material-solvent volume relationship, an extraction time of 1 hour and a temperature of 90°C, achieving a concentration of 234,870 mg/L, or 18,79 mg/g of purple corn cob with a yield of 1,879%.

**Keywords:** Anthocyanins, cyanidin-3-glucoside, purple corn, *Zea mays L.*, natural dye.

## INTRODUCCIÓN

El maíz fue el alimento básico de las culturas del continente americano varios siglos antes de la invasión europea al continente. En la actualidad Perú es el mayor productor y consumidor de maíz negro y sus productos, ya que éstos se emplean desde la época colonial para producir bebidas de color morado.

En la actualidad, ya sea para la alimentación o para las actividades agroindustriales, se considera que el maíz es un producto básico a nivel mundial. Debido a su incidencia social, se considera que el maíz es uno de los productos de la industria agrícola más importantes para la economía mundial, ya que el 75% de su producción viene de familias campesinas, siendo base económica para la gran mayoría de ellas.

En el Ecuador los agricultores han distribuido a lo largo del territorio varios tipos de maíz para su cultivo, así por ejemplo, al norte del país se consume maíz amarillo harinoso y en la parte centro maíz blanco **(Almeida, 2012)**.

En varios países, la manera más fácil y económica para eliminar los residuos provenientes de actividades agrícolas es la quema de dichos residuos, compuestos por tallos, hojas, cáscaras, entre otros, ya que ha sido una costumbre común en países como México para deshacerse de residuos sin un aparente valor, especialmente del maíz. Este tipo de quema a cielo abierto es realizado con el objetivo de eliminar de la mejor manera los residuos de anteriores cosechas, así como limpiar y despejar las zonas de cultivo **(CCA, 2014)**.

El Maíz Morado presenta un especial interés debido a que dentro de su estructura existe un pigmento natural llamado cianidina-3- $\beta$  glucósido, el cual pertenece al grupo de las antocianinas, pigmentos responsables de dar color a flores, frutos y vegetales **(Callejo, 2002)**.

En estos pigmentos se encuentra un gran potencial para la obtención de productos de consumo humano que contengan un valor agregado, ya que las antocianinas pueden reemplazar a colorantes sintéticos utilizados en alimentos, productos farmacéuticos y cosméticos.

Existen diversas aplicaciones para las antocianinas del Maíz Morado en la industria alimentaria y no alimentaria, ya que proporcionan color a diversos productos como bebidas, dulces y confites, productos de panadería, mermeladas y jaleas, jarabes de frutas, sopas y saborizantes, así como también para la preparación de refrescos y coloración de jugos de frutas, vinos y vinagres.

La incorporación de las antocianinas en alimentos presenta la ventaja no solo de proporcionar color, sino sus propiedades antioxidantes, de modo que los alimentos pueden ser considerados como alimentos funcionales **(Medina, 2012)**.



# CAPÍTULO I

## EL PROBLEMA

### 1.1 Tema

“EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS A PARTIR DE CORONTA DE MAÍZ MORADO (*Zea mays L.*) PARA EL APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS AGRÍCOLAS”.

### 1.2 Justificación

Uno de los cultivos más importantes en el Ecuador es el maíz, ya que este cultivo se encuentra distribuido por casi todo el territorio, ocupando una extensión de cerca de 500000 ha desde las cercanías de zonas a nivel del mar hasta las tierras altas de la zona Sierra (3200 msnm), puede encontrarse en suelos fértiles al igual que en terrenos pobres y pedregosos **(Almeida, 2012)**.

Una gran parte de los procesos agroindustriales son responsables de la generación de una cantidad considerable de residuos que muy frecuentemente son desechados, sin embargo, muchos de estos desechos podrían convertirse en materia prima para otras industrias **(SEFIT, 2003)**.

Debido a la toxicidad que algunos o muchos colorantes sintéticos presentan en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos existe en la actualidad un importante aumento en el uso de colorantes de origen natural para reemplazar a los colorantes artificiales existentes **(Medina, 2012)**.

El principio colorante del maíz morado se basa en la existencia de la antocianina, metabolito que se ha demostrado se encuentra en mayor proporción en la coronta del maíz y en menores cantidades en la cáscara de los granos.

Las antocianinas son los pigmentos responsables de la variedad de colores presentes en varias frutas, vegetales y cereales, coloración que va desde el

rojo hasta el azul (**Xu y Howard, 2012**). Dichos pigmentos tienen un gran potencial para poder competir y reemplazar a los colorantes sintéticos utilizados en alimentos, productos farmacéuticos y cosméticos, así como en la obtención de productos para el consumo humano con un valor agregado (Sierra Exportadora, 2013), ya que las antocianinas pueden actuar como antioxidantes mostrando efectos muy rápidos y eficaces en la eliminación de radicales libres. Presenta conocidos efectos terapéuticos entre los que se pueden mencionar la disminución de la enfermedad coronaria, tiene efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; y puede causar una mejora a la agudeza visual y el comportamiento cognitivo (**Garzón, 2008**).

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo general**

- Extraer antocianinas a partir de coronta de Maíz Morado (*Zea mays l.*) para el aprovechamiento de residuos agrícolas.

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Evaluar la relación material vegetal-volumen de solvente, el tiempo y temperatura óptimas de extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado (*Zea mays L.*).
- Analizar la estabilidad del extracto de antocianinas al cambio de temperatura, tiempo de extracción y relación material vegetal-volumen de solvente.
- Caracterizar el colorante extraído a partir de la coronta del Maíz Morado (*Zea mays L.*).

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

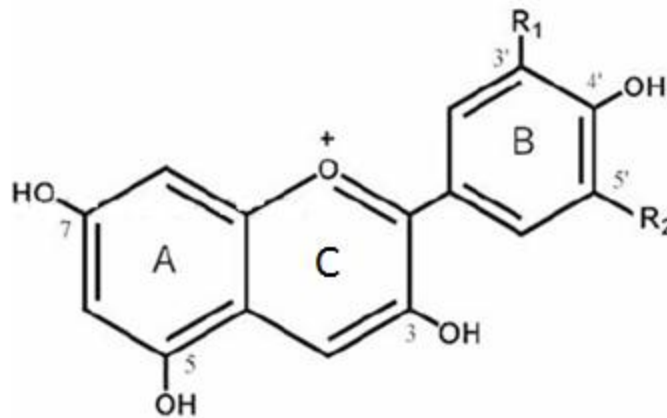
#### 2.1 Antecedentes investigativos

##### 2.1.1 ANTOCIANINAS

Las antocianinas constituyen uno de los grupos más importantes y extensos de colorantes en las plantas. La intensidad de color de las antocianinas solubles en agua son responsables de casi todo el color rosa, escarlata, rojo, púrpura, violeta y azul en los pétalos, hojas y frutos de las plantas superiores **(NPC, 2006)**.

Las antocianinas son compuestos orgánicos que se encuentran generalmente en la savia acuosa de la vacuola de las células epidérmicas vegetales. Estos compuestos tienen una estructura compleja que consiste en una región molecular aromática de tres anillos, con una o más moléculas de azúcar conectadas, y en ocasiones grupos acilo unidos a las moléculas de azúcar **(NPC, 2006)**.

Las variaciones estructurales de las antocianinas se deben a las diferencias en el número de grupos hidroxilo existentes en la molécula, el grado de metilación de estos grupos hidroxilo, la naturaleza y el número de carbonos del residuo de azúcar, que generalmente se unen en la posición 3 de la molécula fenólica (aglicona) del anillo C (Fig. 1), así como la naturaleza y el número de ácidos alifáticos o aromáticos unidos a los azúcares **(EFSA, 2013)**.



| ANTOCIANIDINAS | R <sub>1</sub>   | R <sub>2</sub>   |
|----------------|------------------|------------------|
| Pelargonidina  | H                | H                |
| Cianidina      | OH               | H                |
| Delfinidina    | OH               | OH               |
| Peonidina      | OCH <sub>3</sub> | H                |
| Petunidina     | OCH <sub>3</sub> | OH               |
| Malvidina      | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> |

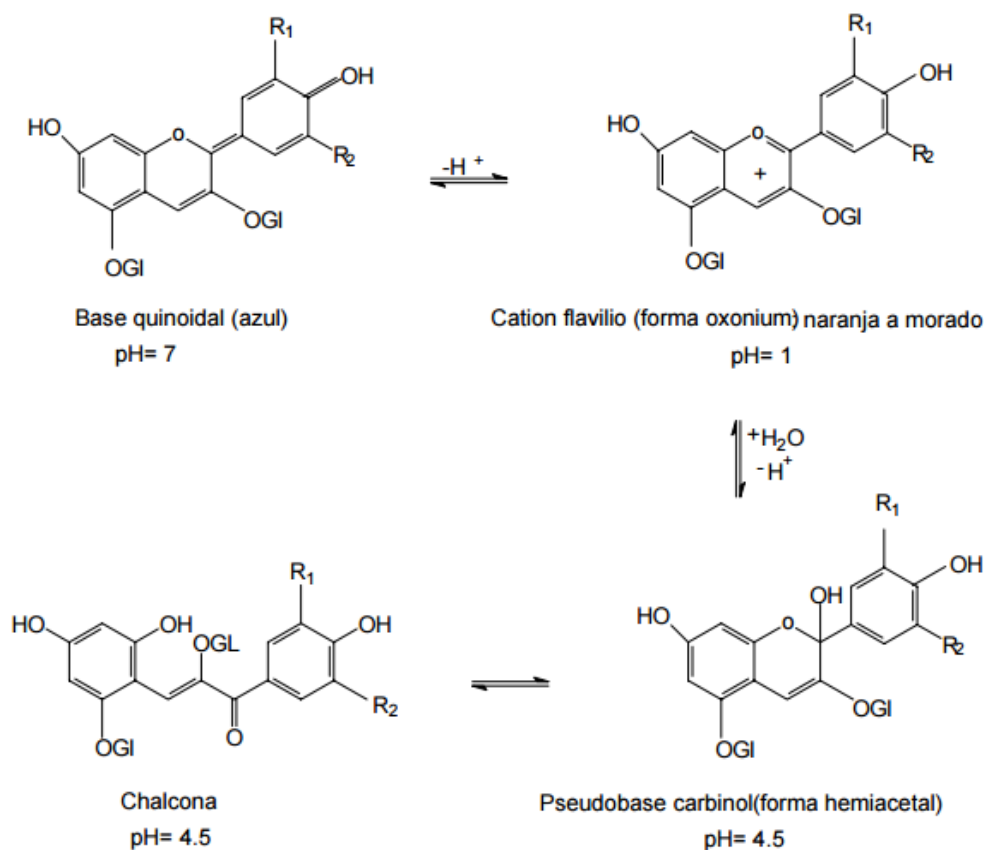
**Figura 1.** Estructura de las 6 antocianidinas más comunes en la naturaleza (Xu y Howard, 2012).

## 2.1.2 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS

### 2.1.2.1 pH

El color de las antocianinas se ve influenciado directamente por el pH en el que éstas se encuentran. A valores de pH ácidos, en el rango de 1.0 a 3.0, el pigmento se encuentra en forma de sal flavilio, que se caracteriza por su coloración roja. Al experimentar un cambio de pH en el rango de 4.0 a 5.0 se produce una decoloración causada por la transformación de la sal flavilio a la base carbinol, que posee una coloración menor. A pH comprendido entre 7.0 y 8.0, se vuelve a ionizar la anhidrobase, resultando en un profundo color azul

(Fig. 2). Luego de este pH, el color cambia ligeramente a amarillo, producido por la formación de la calcona vía fisión del anillo de la anhidrobase (**Hrazdina, 1974**).



**Figura 2.** Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH.

(Rodríguez-Saona y Wrolstad, 2001)

### 2.1.2.2 Temperatura

Los estudios realizados con las antocianinas han demostrado que estos pigmentos son fácilmente degradados por el calor, el porcentaje de degradación depende de la estructura que presente dicha antocianina. La velocidad de degradación de las antocianinas aumenta al elevar la temperatura. Para mejorar la retención de pigmentos es recomendable aplicar un tratamiento a alta temperatura por corto tiempo, y luego almacenar el producto a bajas temperaturas, siendo una relación, a título de ejemplo, a

100°C, el tiempo para la destrucción del 50% de pigmentos (vida media) es del orden de 1 hora, a 28°C, unos 10 días, a 20°C, entre 50 y 60 días, y a 0°C aproximadamente 10 meses **(Medina, 2012)**.

### **2.1.2.3 Luz**

El efecto que causa la exposición a la luz de los pigmentos de antocianinas no ha sido estudiado adecuadamente hasta el momento, lo que puede ocasionar cierta confusión sobre este aspecto. La cianidina expuesta a la luz difusa, en un medio ácido, decrece su concentración en un 10% en el transcurso de 6 horas, y expuesto directamente a la luz solar, la pérdida es del 95% de la concentración **(Medina, 2012)**.

### **2.1.2.4 Velocidad de agitación**

La velocidad de agitación en un proceso incrementa la difusión del solvente y por lo tanto aumenta la transferencia del material, desde la superficie de las partículas a la solución **(Medina, 2012)**. La transferencia de un material es muy importante en varias aplicaciones industriales, ya que de esta forma también se evita sedimentaciones. **(Almeida, 2012)**. Este factor debe ser considerado porque se ha comprobado que a bajas velocidades de agitación se obtiene un mayor rendimiento en la extracción de metabolitos, por lo que se recomienda para procesos industriales una velocidad entre 100 y 140 rpm **(Devia y Saldarriaga, 2002)**.

### **2.1.2.5 Tamaño de partícula**

La reducción del tamaño de partícula facilita el proceso de extracción de un metabolito en una estructura compuesta porque incrementa el área de contacto con el solvente y permite una buena difusión del soluto en el solvente, sin embargo, si el material es demasiado fino puede provocar inconvenientes en la extracción, ya que en algunos casos impide la libre circulación del líquido y la separación de las partículas del líquido resulta más difícil; además, deja en libertad materiales indeseables por la ruptura de las células **(Medina, 2012)**.

### **2.1.3 BENEFICIOS A LA SALUD**

Debido a las restricciones que existen en la actualidad en cuanto al uso de colorantes sintéticos en productos alimenticios, ha tomado un especial interés el uso de las antocianinas como un colorante natural para productos como jarabes, jugos de frutas, gelatinas, mermeladas, helados y yogures. Su uso también puede ser un pasta dental, productos farmacéuticos, etcétera (**Ortiz et al., 2012**).

En años recientes muchos estudios han demostrado que las antocianinas presentan una alta gama de actividades biológicas, las cuales incluyen, efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos y anticancerígenos. Además exhiben una variedad de efectos sobre los vasos sanguíneos, las plaquetas y las lipoproteínas y pueden actuar para reducir el riesgo de enfermedad coronaria (**Xu y Howard, 2012**). El extracto de baya de sauco, que contiene antocianinas, es ampliamente conocido por promover la salud del tracto pulmonar y bronquial (**Ortiz et al., 2012**).

El **Ministerio de Salud de la República de Chile (2012)**, en su documento publicado en Santiago, presenta la nómina de colorantes permitidos en productos farmacéuticos y cosméticos, siendo permitidos por el Food and Drug Administration y la Comunidad Económica Europea. Las antocianinas, con denominación UE: E-163, se encuentra disponible para su uso general sin restricción de dosis en productos farmacéuticos, por lo que su uso en jarabes para la tos representa un valor agregado que beneficia la salud.

## **2.2 Hipótesis**

### **2.2.1 Efecto de la relación material vegetal-volumen de solvente en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado**

#### **2.2.1.1 Hipótesis nula**

La relación material vegetal-volumen de solvente influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

#### **2.2.1.2 Hipótesis Alternativa**

La relación material vegetal-volumen de solvente no influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

### **2.2.2 Efecto del tiempo en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado**

#### **2.2.2.1 Hipótesis nula**

El tiempo influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

#### **2.2.2.2 Hipótesis Alternativa**

El tiempo no influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

### **2.2.3 Efecto de la temperatura en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado**

#### **2.2.3.1 Hipótesis nula**

La temperatura influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

#### **2.2.3.2 Hipótesis Alternativa**

La temperatura no influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.



## **2.2.4 Efecto de la relación material vegetal-volumen de solvente, tiempo de extracción y temperatura en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado**

### **2.2.4.1 Hipótesis nula**

La relación material vegetal-volumen de solvente, tiempo de extracción y temperatura influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

### **2.2.4.2 Hipótesis Alternativa**

La relación material vegetal-volumen de solvente, tiempo de extracción y temperatura no influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

## **2.3 Señalamiento de variables de la hipótesis**

### **2.3.1 Variable independiente**

- Coronta de Maíz Morado obtenida de residuos agrícolas de la provincia de Tungurahua.
- Relación material vegetal-volumen de solvente
- Tiempo de extracción
- Temperatura de extracción

### **2.3.2 Variable dependiente**

- Concentración de antocianinas en el extracto de coronta de Maíz Morado.

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Materiales**

Coronta de Maíz Morado (Salasaca, Ecuador), Etanol (Shanker Internacional, India), Ácido Clorhídrico (EMSURE, Alemania), Cloruro de Potasio (Merck, Alemania), Acetato de Sodio (Fisher Scientific and Allied Company, USA), Agua Destilada (Fabribat, Ecuador), Permanganato de Potasio (BDH Chemical Ltd, Inglaterra), Oxalato de sodio (BDH Chemical Ltd, Inglaterra).

#### **3.2 Métodos**

##### **3.2.1 Selección de la coronta de Maíz Morado para la extracción de antocianinas**

Se seleccionó las corontas de Maíz Morado que presentaron una mayor coloración en toda su estructura, y se descartaron aquellas que tenían señales de daño o una coloración diferente en ciertas partes de su superficie.

##### **3.2.2 Reducción del tamaño de partícula de la coronta de Maíz Morado**

Las corontas seleccionadas fueron cortadas con cuchillo antes de ser sometidas a un proceso de molienda con un molino eléctrico (Corona, Ecuador), obteniéndose la muestra en forma de polvo para facilitar la extracción de colorante.

##### **3.2.3 Determinación del tamaño de partícula de la coronta de Maíz Morado**

Se pesó 100 gramos de coronta de Maíz Morado molida en una balanza analítica (Citizen, USA) y se colocó en una serie de tamices numerados (Tyler, USA) de mayor a menor de acuerdo al tamaño de poro que presenta cada uno (Anexo C). Se agitó los tamices durante 5 minutos y se pesó la cantidad de muestra presente en cada uno de los tamices utilizados. Se obtuvo el porcentaje de muestra en cada tamiz y se obtuvo el tamaño promedio de

partícula de la muestra utilizando la ecuación (1), (American Water Works Association, 1991), citada por **Carpio et al. (2011)**.

$$d_p = \frac{\sum W_i \times d_i}{\sum W_i} \quad (1)$$

Donde  $d_p$  es el tamaño promedio de partícula en micrómetros ( $\mu\text{m}$ ),  $W_i$  es la fracción retenida en cada tamiz en gramos, y  $d_i$  es la abertura en micrómetros correspondiente al promedio de abertura de los dos tamices que encierran la fracción retenida.

#### **3.2.4 Determinación de humedad de la coronta de Maíz Morado**

Se determinó la humedad de la coronta de Maíz Morado molida pesando 3 gramos de muestra en una balanza de humedad (Citizen, USA) (Anexo D), Después de 3 minutos aproximadamente se obtiene el porcentaje de humedad presente.

#### **3.2.5 Extracción de Antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado**

Se mezcló la muestra de coronta de Maíz Morado molida con etanol al 20% acidificado (pH 2) en una relación de 1:160 y 1:80 (M/V) y se calentó a 50°C y 90°C por 1 y 3 horas en un termostato (Isotemp, USA) utilizando un balón redondo acoplado a un tubo refrigerante para evitar la pérdida de solvente (Anexo A). Se filtró la solución resultante y se dejó enfriar.

#### **3.2.6 Cuantificación de Antocianinas en el extracto de coronta de Maíz Morado**

Se diluyó 1 mL de extracto en 9 mL de soluciones buffer de cloruro de potasio (pH 1) y acetato de sodio (pH 4,5), para un factor de dilución de 10. En las soluciones obtenidas se determinó el contenido de antocianinas según el método de pH diferencial, descrito por Giusti & Wrosltad (2001), mencionado por **Gorriti et al. (2009)**, utilizando un espectrofotómetro UV-VIS (HACH DR 500, USA) (Anexo B) y su contenido se expresó como cianidina-3-glucósido de acuerdo a la ecuación (2):

$$C_A(mg/L) = \frac{[(A_{510}-A_{700})pH1-(A_{510}-A_{700})pH4.5] \times PM \times FD \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (2)$$

Donde  $C_A$  es la concentración de antocianinas en mg/L,  $A_{510}$  y  $A_{700}$  son las absorbancias a 510 y 700 nm respectivamente a pH 1 y pH 4,5, PM es el peso molecular de la cianidina-3-glucósido correspondiente a 449,2 g/mol, FD es el factor de dilución, 1000 es el factor de conversión de g a mg,  $\epsilon$  es el coeficiente de extinción molar para la cianidina-3-glucósido con un valor de 26900 reportado por **Gorriti et al. (2009)**, **Rojano et al. (2012)** y **Zapata et al. (2014)** y  $l$  es la longitud de paso de la celda en cm.

Adicionalmente, se calculó el contenido de antocianinas en mg/g de coronta con la expresión (3) y el porcentaje de rendimiento con la expresión (4):

$$mg/g \text{ coronta} = \frac{C^*(mg/L)}{C^{**}(g/L)} \quad (3)$$

En donde  $C^*$  es la concentración de las antocianinas obtenidas y  $C^{**}$  es la concentración de materia vegetal en relación al volumen de solvente.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{C^*(mg/L)}{C^{**}(mg/L)} * 100 \quad (4)$$

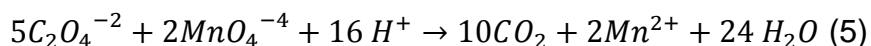
### **3.2.7 Caracterización de Antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado**

Para el contenido de nitratos, fenoles y oxalatos se utilizó una muestra de la extracción obtenida con la mejor combinación de factores.

Se analizó el contenido de nitratos y fenoles en el laboratorio LACQUANÁLISIS mediante los métodos PRO TEC 034 / HACH 8192 y PRO TEC / HACH 8047, métodos acreditados por este laboratorio, el cual utiliza 10 mL de la muestra con reactivos específicos y analiza la muestra en un espectrofotómetro UV-VIS (HACH DR 500, USA).

El contenido de oxalatos fue analizado por el método de permanganometría, el cual consiste en estandarizar una solución de permanganato de potasio 0.1N con una solución de oxalato de sodio de concentración conocida. Se tituló 50 mL de la solución de oxalato con la solución de permanganato y se registró el

volumen utilizado hasta que el color rosa se mantuvo por 30 segundos (Anexo E), se realizó la titulación por triplicado, en medio ácido y a una temperatura de 55 a 60°C para que se produzca la reacción entre el permanganato y el oxalato de acuerdo a la ecuación (5) (**Voguel, 2007**):



Se calculó la normalidad del permanganato con la ecuación (6) y se tituló la solución de antocianinas; con los volúmenes de permanganato obtenidos y la ecuación (7) se determinó la normalidad del oxalato de calcio en la solución de antocianinas, que se transformó a mg/L y posteriormente a mg/g de material.

$$N_{KMnO_4} = \frac{N_{Na_2C_2O_4} \times V_{Na_2C_2O_4}}{V_{KMnO_4}} \quad (6)$$

$$N_{Ca_2C_2O_4} = \frac{N_{KMnO_4} \times V_{KMnO_4}}{V_{muestra}} \quad (7)$$

$$N^{\circ} \text{ de equivalentes gramo de permanganato} = N_{KMnO_4} \times V_{KMnO_4} \quad (8)$$

Cada equivalente g de permanganato es igual al peso molecular

### 3.3 Diseño experimental

Empleando el software Statgraphics Centurion XVI.I, se analizó estadísticamente los resultados experimentales de concentración de antocianinas obtenidos al aplicar un diseño experimental  $2^3$ . Los factores evaluados fueron relación materia vegetal-solvente (1:160 y 1:80; M/V), tiempo de extracción (1 h y 3 h), y la temperatura (50 y 90°C). Se aplicó además un diseño compuesto central de los tres factores para predecir el comportamiento del proceso y analizar la estabilidad de las antocianinas al variar los factores establecidos.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Análisis y discusión de resultados

##### 4.1.1 Análisis Físico-Químico de la coronta molida de Maíz Morado

##### 4.1.1.1 Tamaño de partícula de la coronta molida de Maíz Morado

Mediante la utilización de tamices estándar se calculó el tamaño de partícula promedio. A continuación se detalla un ejemplo de los cálculos realizados para la determinación del tamaño de partícula de la coronta molida de Maíz Morado.

##### Abertura promedio $d_i$ ( $\mu\text{m}$ ), ecuación (9)

$$d_i = \frac{At_0 - At_1}{2} \quad (9)$$

**Dónde:**

$At_0$  = abertura del tamiz anterior

$At_1$  = abertura del tamiz sobre el cual se retiene el material.

$$d_i = \frac{(2800 - 2360)\mu\text{m}}{2}$$

$$d_i = 2580\mu\text{m}$$

**Nota:** Para  $At_0$  se consideró una abertura de 2800  $\mu\text{m}$  correspondiente al tamiz estándar ASTM N° 7. **(INEN, 2004).**

##### Fracción retenida $Fr$ , ecuación (10)

$$Fr = \frac{W_i}{\sum W_i} \quad (10)$$

**Dónde:**

$W_i$  = Cantidad retenida en cada tamiz en gramos

$\sum W_i$  = Sumatoria de la cantidad retenida en cada tamiz en gramos

$$Fr = \frac{20,7 \text{ g}}{98,7 \text{ g}}$$

$$Fr = 0,209$$

### Diámetro promedio de las partículas de coronta molida de Maíz Morado

$$d_p = \frac{\sum W_i \times d_i}{\sum W_i} \quad (6)$$

**Dónde:**

$\sum W_i \times d_i$  = Sumatoria del producto de la cantidad retenida en cada tamiz en gramos por la abertura promedio de cada tamiz

$\sum W_i$  = Sumatoria de la cantidad retenida en cada tamiz en gramos

$$d_p = \frac{88731,4}{98,7}$$

$$d_p = 899 \mu\text{m}$$

**Nota:** La sumatoria de los pesos retenidos es de 98,7 g debido a que no se puede recuperar el 100% de la cantidad colocada en los tamices, porque la misma se queda adherida a las paredes de los tamices.

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos luego del proceso de reducción de tamaño de partícula y tamizado:

**Tabla 1. Tamiz estándar ASTM, tamaños de abertura, aberturas promedio, y diámetro promedio de las partículas de coronta molida de Maíz Morado.**

| Nº Tamiz Estandar ASTM | Abertura de Tamiz ( $\mu\text{m}$ ) | Abertura promedio ( $d_i$ , $\mu\text{m}$ ) | Gramos retenidos ( $W_i$ ) | Fracción retenida | $W_i \times d_i$ | $d_p$ ( $\mu\text{m}$ ) |
|------------------------|-------------------------------------|---|----------------------------|-------------------|------------------|-------------------------|
| 8                      | 2360,0                              | 2580,0                                      | 0,0                        | 0,000             | 0,00             | 899,00                  |
| 14                     | 1400,0                              | 1880,0                                      | 20,7                       | 0,209             | 38916,00         |                         |
| 18                     | 1000,0                              | 1200,0                                      | 15,6                       | 0,158             | 18720,00         |                         |
| 20                     | 850,0                               | 925,0                                       | 4,5                        | 0,046             | 4162,50          |                         |
| 30                     | 600,0                               | 725,0                                       | 17,8                       | 0,180             | 12905,00         |                         |
| 40                     | 425,0                               | 512,5                                       | 14,5                       | 0,147             | 7431,25          |                         |
| 60                     | 250,0                               | 337,5                                       | 13,7                       | 0,139             | 4623,75          |                         |
| 100                    | 150,0                               | 200,0                                       | 7,6                        | 0,077             | 1520,00          |                         |
| 140                    | 106,0                               | 128,0                                       | 3,0                        | 0,030             | 384,00           |                         |
| Base                   | 0,0                                 | 53,0  | 1,3                        | 0,013             | 68,90            |                         |

Se obtuvo un tamaño promedio de partícula de 899  $\mu\text{m}$ , por lo que se considera una partícula mediana, lo cual facilita el proceso de extracción de antocianinas y ayuda a tener una mejor concentración del colorante en la solución resultante. La mayor fracción de partículas retenida se encuentra entre los 1880 y 337  $\mu\text{m}$ , lo que beneficia a la extracción de antocianinas, como demostró **Medina (2012)** en su investigación en la cual determinó que la extracción de antocianinas mejora cuando el tamaño de partícula se encuentra entre 1900 y 500  $\mu\text{m}$ .

#### **4.1.1.2 Contenido de humedad de la coronta molida de Maíz Morado.**

El contenido promedio ( $n = 3$  réplicas) de humedad y desviación estándar de la coronta molida de Maíz Morado a utilizarse para el proceso de extracción de antocianinas fue de  $8,87 \pm 0,02$ .

**Tabla 2. Porcentaje de humedad en la coronta molida de Maíz morado.**

| <b>Porcentaje de humedad</b>               |
|--|
| 8,89                                       |
| 8,85                                       |
| 8,87                                       |
| <b>Promedio <math>8,87 \pm 0,02</math></b> |

El bajo contenido de humedad en la muestra resultó beneficioso, porque la humedad es un factor que facilita la putrefacción y degradación de las muestras, por esta razón la coronta molida no presentó señales de daño debido a este factor al ser almacenada para la realización de este trabajo; a fin de asegurar su conservación óptima, la muestra fue almacenada en un desecador con un agente que elimina la humedad del ambiente y evita el daño de la coronta molida durante la realización de este trabajo.

#### **4.1.2 Análisis Físico-Químico del extracto de Antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado**

##### **4.1.2.1 Contenido de Antocianinas en el extracto de coronta de Maíz Morado**

La técnica del pH diferencial es un método espectrofotométrico que se basa en la transformación de las estructuras de las antocianinas mediante el cambio de



pH (soluciones de pH 1 y pH 4.5); se evalúa midiendo su absorbancia a diferentes longitudes de onda (510 y 700 nm) (**Gorriti et al. 2009**).

A continuación se detalla un ejemplo de los cálculos realizados para la determinación de la concentración de antocianinas en mg de cianidin-3-glucósido/L, contenido del colorante por g de coronta y rendimiento de extracción:

### Concentración de antocianinas en mg de cianidin-3-glucósido/L

$$C_A(mg/L) = \frac{[(A_{510}-A_{700})_{pH1}-(A_{510}-A_{700})_{pH4.5}] \times PM \times FD \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (2)$$

**Dónde:**

$C_A$  = concentración de antocianinas en mg/L,

$A_{510}$  y  $A_{700}$  = absorbancias a 510 y 700 nm, respectivamente a pH 1 y pH 4,5

**PM** = peso molecular de la cianidina-3-glucósido correspondiente a 449,2 g/mol,

**FD** = factor de dilución equivalente a 10,

**1000** = factor de conversión de g a mg,

$\epsilon$  = coeficiente de extinción molar para la cianidina-3-glucósido con un valor de 26900 reportado por **Gorriti et al. (2009)**, **Rojano et al. (2012)** y **Zapata et al. (2014)**.

$l$  = longitud de paso de la celda en cm (1 cm)

$$C_A(mg/L) = \frac{[(0,514 - 0,003) - (0,097 - 0,023)] \times 449,2 \times 10 \times 1000}{26900 \times 1}$$

$$C_A(mg/L) = \frac{1963004}{26900}$$

$$C_A(mg/L) = 72,974$$

### Contenido del colorante por g de coronta

$$mg/g \text{ coronta} = \frac{C^*(mg/L)}{C^{**}(g/L)} \quad (3)$$

**Dónde:**

**C\*** = concentración de las antocianinas obtenidas

**C\*\*** = concentración de materia vegetal en relación al volumen de solvente

$$mg/g \text{ coronta} = \frac{72,557}{6,250}$$

$$mg/g \text{ coronta} = 11,609$$

**Nota:** El valor de 6,250 corresponde a la relación 1:160 = 0,00625 g/mL = 6,250 g/L.

### Porcentaje de rendimiento de extracción

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{C^*(mg/L)}{C^{**}(mg/L)} * 100 \quad (4)$$

**Dónde:**

**C\*** = concentración de las antocianinas obtenidas

**C\*\*** = concentración de materia vegetal en relación al volumen de solvente

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{72,557}{6250} * 100$$

$$\% \text{ Rendimiento} = 1,161$$

**Nota:** El valor de 6250 corresponde a la relación 1:160 = 0,00625 g/ml = 6250 mg/L.

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la cuantificación de las antocianinas en el extracto de coronta de Maíz Morado obtenidas con las combinaciones de factores del diseño experimental 2<sup>3</sup>:

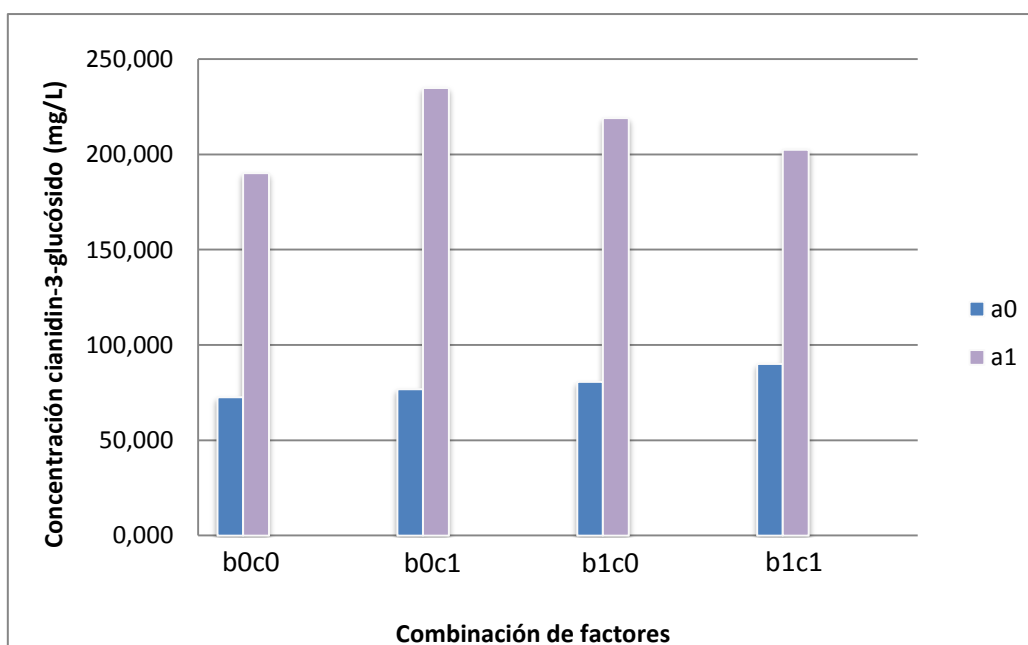
**Tabla 3. Concentración de antocianinas en el extracto de coronta de Maíz Morado en mg de cianidin-3-glucósido /L, contenido del colorante por g de coronta y rendimiento de extracción.**

|    |    |    | Réplicas | pH 1   |        | pH 4.5 |        | mg/L<br>(cianidin-3-<br>glucósido) | Promedio<br>mg/L<br>(cianidin-<br>3-<br>glucósido) | mg/g<br>coronta | % de<br>Rendimiento |
|----|----|----|----------|--------|--------|--------|--------|------------------------------------|--|-----------------|---------------------|
|    |    |    |          | Abs510 | Abs700 | Abs510 | Abs700 |                                    |  |                 |                     |
| a0 | b0 | c0 | R1       | 0,514  | 0,003  | 0,097  | 0,023  | 72,974                             | 72,557   | 11,609          | 1,161               |
|    |    |    | R2       | 0,510  | 0,002  | 0,096  | 0,020  | 72,139                             |  |                 |                     |
|    |    | c1 | R1       | 0,552  | 0,004  | 0,075  | -0,015 | 76,481                             | 76,898   | 12,304          | 1,230               |
|    |    |    | R2       | 0,550  | 0,002  | 0,073  | -0,012 | 77,316                             |  |                 |                     |
|    | b1 | c0 | R1       | 0,599  | 0,002  | 0,150  | 0,040  | 81,324                             | 80,656   | 12,905          | 1,290               |
|    |    |    | R2       | 0,610  | 0,001  | 0,160  | 0,030  | 79,988                             |  |                 |                     |
|    |    | c1 | R1       | 0,760  | 0,024  | 0,218  | 0,026  | 90,842                             | 90,090   | 14,414          | 1,441               |
|    |    |    | R2       | 0,750  | 0,022  | 0,217  | 0,024  | 89,339                             |  |                 |                     |
| a1 | b0 | c0 | R1       | 1,314  | 0,002  | 0,210  | 0,034  | 189,699                            | 190,200  | 15,216          | 1,522               |
|    |    |    | R2       | 1,310  | 0,003  | 0,200  | 0,035  | 190,701                            |  |                 |                     |
|    |    | c1 | R1       | 1,672  | 0,016  | 0,382  | 0,132  | 234,786                            | 234,870  | 18,790          | 1,879               |
|    |    |    | R2       | 1,674  | 0,017  | 0,380  | 0,130  | 234,953                            |  |                 |                     |
|    | b1 | c0 | R1       | 1,546  | 0,007  | 0,319  | 0,091  | 218,922                            | 219,006  | 17,520          | 1,752               |
|    |    |    | R2       | 1,545  | 0,006  | 0,320  | 0,093  | 219,089                            |  |                 |                     |
|    |    | c1 | R1       | 1,421  | 0,016  | 0,346  | 0,155  | 202,724                            | 202,474  | 16,198          | 1,620               |
|    |    |    | R2       | 1,419  | 0,017  | 0,345  | 0,154  | 202,223                            |  |                 |                     |

a0\* y a1\*: Niveles de la relación material vegetal-volumen de solvente, equivalentes a 1:160 y 1:80, respectivamente. b0\* y b1\*: Niveles del tiempo de extracción, equivalentes a 1 y 3 horas respectivamente. c0\* y c1\*: Niveles de la temperatura de extracción, equivalentes a 50 y 90°C respectivamente.

De acuerdo con lo reportado por **Medina (2012)**, la mayor cantidad de antocianinas obtenidas a partir de la coronta de Maíz morado fue de 104,36 mg por cada 100 g de muestra, lo que equivale a 1,044 mg/g, valor evidentemente más bajo que el obtenido en este estudio, cuya mayor concentración fue de 18,79 mg/g de coronta, a pesar de esto, el rendimiento alcanzando en este estudio (1,879 %) es mucho menor que el reportado por **Almeida (2012)**, el cual presenta un rendimiento de 3,2%, sin embargo, en el estudio realizado por **Gorriti et al. (2009)** las cantidades de antocianinas variaron entre 8,40 y 47,98 mg/g de coronta. La diferencia con estos resultados, en relación a la mayor concentración de antocianinas, se puede deber al contenido de humedad de la coronta utilizada o al lugar de donde fue recolectada la muestra así como la variedad de maíz utilizada, ya que los estudios de **Gorriti et al. (2009)** fueron realizados en Perú, lo cual puede ocasionar una variación en el contenido de antocianinas en el residuo agrícola.

En la Figura 3 se puede evidenciar la combinación de factores con la que se obtuvo la mejor concentración de antocianinas, expresadas como mg de cianidin-3-glucósido/L.



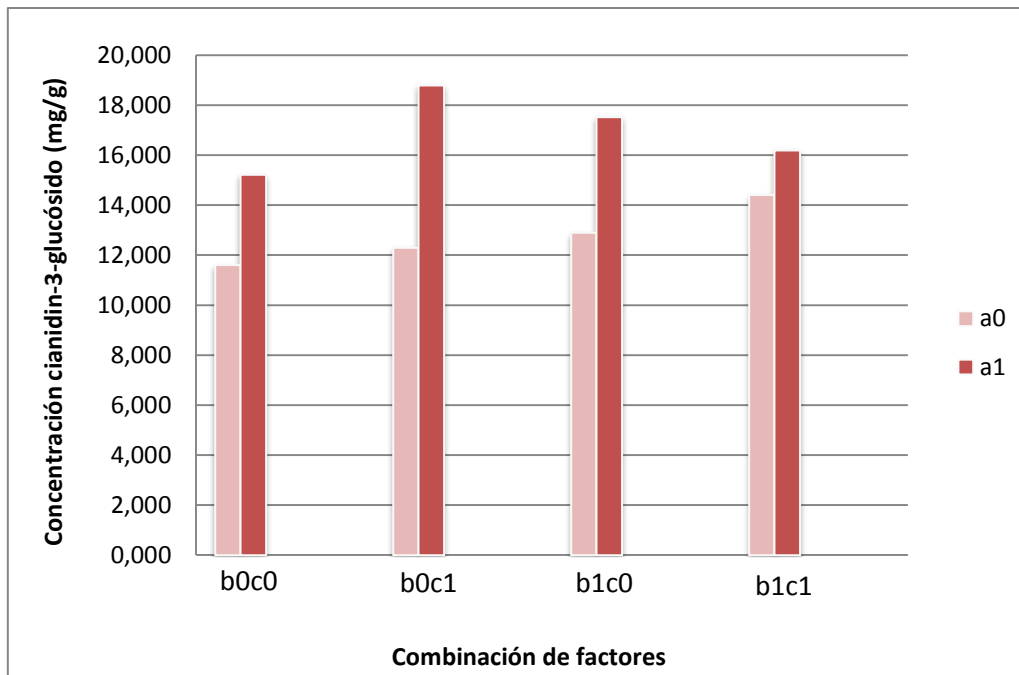
**Figura 3.** Concentración de antocianinas (mg/L) en función de las combinaciones de los factores estudiados.

**Medina (2012)** menciona que la extracción de antocianinas aumenta a medida que el volumen de solvente utilizado se incrementa, contrario a lo que se observa en la Figura 3, sin embargo, aclara que este efecto se muestra en relación a cantidades de volumen bajas, ya que si la relación materia vegetal-volumen de solvente es mayor a 1:12, la mejor extracción se obtiene al utilizar una cantidad menor de solvente como lo ocurrido en este estudio, en donde se obtuvo la mayor cantidad de antocianinas (234,870 mg/L) con una relación materia vegetal-volumen de solvente de 1:80 y con la combinación de factores b0c1, correspondiente a un tiempo de extracción de 1 hora y 90°C.

De acuerdo a lo anterior, se evidencia que al utilizar una relación materia vegetal-volumen de solvente de 1:160 la cantidad de antocianinas obtenidas disminuye notablemente, encontrándose su mayor concentración (90,090 mg/L) con los tratamientos b1c1, correspondientes a un tiempo de extracción de 3 horas y 90°C, pero este valor no es altamente diferente a los otros que comparten el factor a0.

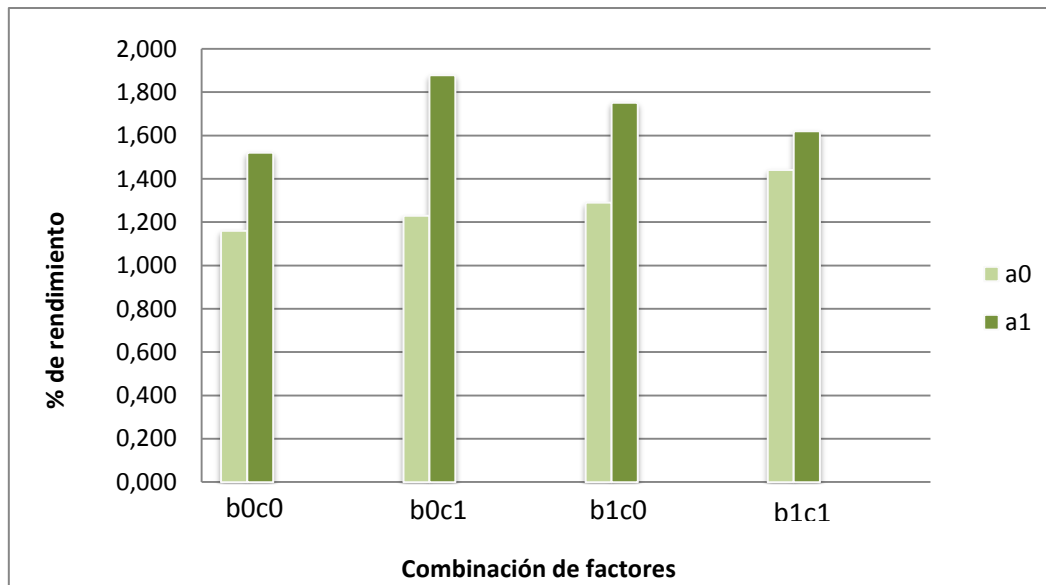
La mayor concentración de colorante se obtuvo con la combinación a1b0c1, que corresponde a una relación material vegetal-volumen de solvente de 1:80, con un tiempo de extracción de 1 hora a 90°C, ya que el uso de un volumen de extracción menor facilita la operación de concentración del colorante. En comparación con el estudio de **Gorriti et al. (2009)** cuyo mejor resultado se alcanza con una relación material vegetal-solvente de 1:80, tiempo de extracción de 1 y 2 horas a 90°C, condiciones similares a las del presente trabajo, la variación puede deberse posiblemente a las razones antes explicadas (procedencia de la muestra, contenido de humedad, variedad de maíz).

La cantidad de antocianinas expresadas en mg/g de coronta (Figura 4) presenta una diferencia menos significativa, a la mostrada en la Figura 3, en relación a los factores estudiados para la extracción de antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado, sin embargo, se mantiene el hecho de que los mejores resultados se obtienen con las combinaciones de factores a1b0c1.



**Figura 4.** Cantidad de antocianinas (mg/g de material vegetal) en función de las combinaciones de los factores estudiados.

Se obtuvo el mayor porcentaje de rendimiento con la combinación de factores a1b0c1, que representa una relación materia vegetal-volumen de solvente de 1:80, con un tiempo de extracción de 1 hora y una temperatura de 90°C (Figura 5), condiciones similares a las reportadas por **Gorriti et al. (2009)** para obtener el mayor rendimiento en la extracción del colorante. Se puede evidenciar en las Figuras 3, 4 y 5 que si se sobrepasa el tiempo de extracción de 1 hora la concentración de antocianinas en el extracto comienza a descender, lo que corrobora lo expresado por **Medina (2012)**, quien recomienda aplicar un tratamiento a alta temperatura por corto tiempo, porque la velocidad de degradación de las antocianinas aumenta al elevar la temperatura.



**Figura 5.** Porcentaje de rendimiento en función de las combinaciones de los factores estudiados.

#### 4.1.2.2 Contenido de oxalatos, nitratos y compuestos fenólicos en el extracto de coronta de Maíz Morado

El contenido de ácido oxálico debe ser bajo, ya que este compuesto puede formar sales de calcio, ocasionando daños renales en humanos y animales. La mayor parte del calcio de la planta se puede encontrar en forma de oxalato de calcio y éste puede representar más del 85% del peso seco de algunas especies (**Pérez, 2015**).

Se determinó el contenido de oxalatos estandarizando una solución de Permanganato de potasio con una solución de concentración conocida de oxalato de calcio. A continuación se detalla un ejemplo de los cálculos realizados para la estandarización de la solución de permanganato de potasio empleada en la determinación de contenido de oxalatos:

#### Estandarización de la solución de permanganato de potasio

$$N_{\text{KMnO}_4} = \frac{N_{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4} \times V_{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4}}{V_{\text{KMnO}_4}} \quad (6)$$

**Dónde:**

$N_{\text{KMnO}_4}$  = Normalidad del permanganato de potasio

$N_{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4}$  = Normalidad del oxalato de sodio

$V_{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4}$  = Volumen de oxalato de sodio a ser titulado

$V_{\text{KMnO}_4}$  = Volumen de permanganato de potasio usado para titular el oxalato de sodio

$$N_{\text{KMnO}_4} = \frac{0,0178 \times 50}{8,2}$$

$$N_{\text{KMnO}_4} = 0,109$$

La Tabla 4 muestra la normalidad de la solución estandarizada de Permanganato de potasio.

**Tabla 4. Estandarización de la solución de permanganato de potasio**

| $\text{KMnO}_4$ (ml) | $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (ml) | N $\text{KMnO}_4$  |
|----------------------|--|--------------------|
| 8,2                  | 50                                     | 0,109              |
| 8,7                  | 50                                     | 0,102              |
| 8,9                  | 50                                     | 0,100              |
| <b>Promedio</b>      |  | <b>0,104±0,005</b> |

Con la solución de Permanganato de potasio se obtuvo la normalidad de oxalato de calcio en el extracto de antocianinas de coronta de Maíz Morado.

$$N_{\text{CaC}_2\text{O}_4} = \frac{N_{\text{KMnO}_4} \times V_{\text{KMnO}_4}}{V_{\text{muestra}}} \quad (7)$$

**Dónde:**

$N_{\text{CaC}_2\text{O}_4}$  = Normalidad del oxalato de calcio

$N_{\text{KMnO}_4}$  = Normalidad del permanganato de potasio

$V_{\text{muestra}}$  = Volumen de muestra a ser titulada en mL

$V_{\text{KMnO}_4}$  = Volumen de permanganato de potasio usado para titular la muestra en mL

$$N_{\text{CaC}_2\text{O}_4} = \frac{0,104 \times 0,3}{50}$$

$$N_{\text{CaC}_2\text{O}_4} = 0,00062$$



Los resultados de la normalidad del oxalato de calcio se muestran en la Tabla 5.

**Tabla 5. Normalidad del oxalato de calcio en el extracto de antocianinas a partir de coronta de Maíz Morado.**

| KMnO <sub>4</sub> (ml) | CaC <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (mL) | N CaC <sub>2</sub> O <sub>4</sub> |
|------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| 0,3                    | 50                                   | 0,00062                           |
| 0,4                    | 50                                   | 0,00083                           |
| 0,3                    | 50                                   | 0,00062                           |
| <b>Promedio</b>        |                                      | 0,00069±0,0001                    |

Se convirtió la normalidad a Molaridad, luego a mg/L y mg/g de muestra, para una mejor visualización de los valores obtenidos con las expresiones 11, 12 y 13 respectivamente, a continuación se detalla un ejemplo de los cálculos realizados para la determinación de la Molaridad, mg/L y mg/g de muestra:

**Molaridad**

$$M_{CaC_2O_4} = \frac{N_{CaC_2O_4}}{2} \quad (11)$$

**Dónde:**

$M_{CaC_2O_4}$  = Molaridad del oxalato de calcio

$N_{CaC_2O_4}$  = Normalidad del oxalato de calcio

$$M_{CaC_2O_4} = \frac{0,00069}{2}$$

$$M_{CaC_2O_4} = 0,00035$$

**mg/L**

$$mg/L = M_{CaC_2O_4} \times PM^* \times 1000 \quad (12)$$

**Dónde:**

$M_{CaC_2O_4}$  = Molaridad del oxalato de calcio

PM = Peso molecular del oxalato de calcio

$$mg/L = 0,00035 \times 128,097 \times 1000$$

$$mg/L = 44,83$$

**mg/g de muestra**

$$mg/g \text{ de muestra} = \frac{mg/L_{CaC_2O_4}}{C^*(g/L)} \quad (13)$$

**Dónde:**

$mg/L_{CaC_2O_4}$  = concentración de oxalato de calcio en mg/L

$C^*$  = concentración de materia vegetal en relación al volumen de solvente

$$mg \text{ oxalato de calcio} / g \text{ de muestra} = \frac{44,83}{12,5}$$

$$mg \text{ de oxalato de calcio} / g \text{ de muestra} = 3,59$$

En la Tabla 6 se muestran las concentraciones de oxalato en las diferentes expresiones:

**Tabla 6. Concentración de oxalato de calcio en el extracto de antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado.**

| Unidad          | Valor     |
|-----------------|-----------|
| N               | 0,00069   |
| M               | 0,00035   |
| mg/L            | 44,83     |
| mg/g de muestra | 3,59±0,62 |

N = normalidad M = molaridad

El contenido de oxalatos (Tablas 5 y 6) (3,59 mg/g de muestra) es menor al reportado para acelga (7 mg/g) y espinaca (6 mg/g), vegetales que contienen la mayor cantidad de oxalatos en su composición (**Casalderrey, 2004**). Esto quiere decir que el extracto puede ser consumido regularmente, ya que el alto consumo de oxalatos puede ocasionar problemas en la salud porque el exceso de ácido oxálico forma oxalato cálcico, el cual retira el calcio presente en la sangre, esencial para que la sangre conserve su acidez y viscosidad constantes, para poder coagularse y transportar fosfatos por todo el cuerpo.

Esto representa una pequeña ventaja, ya que las antocianinas ofrecen varios beneficios, anteriormente mencionados.

Es muy importante conocer la presencia de nitratos en el extracto de antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado porque dichos compuestos pueden originarse en la planta por la excesiva fertilización de los campos con compuestos químicos que se reducen a nitritos y producen problemas toxicológicos muy graves como metahemoglobinemia (**ATSDR, 2015**).

Los compuestos fenólicos forman parte de la mayoría de las frutas, contribuyendo a su coloración y su sabor; las flavonas, antocianos y catequinas, entre otros, forman parte de este grupo (**Sotomayor, 2013**).

La Tabla 7 resume la composición química del extracto de antocianinas a partir de coronta de Maíz Morado.

**Tabla 7. Composición química del extracto de antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado.**

| Compuesto                                    | Valor           |
|--|-----------------|
| Antocianinas (mg de cianidin-3-glucósido)/L* | 234,870 ± 0,107 |
| Oxalatos (mg/g de muestra)*                  | 3,59 ± 0,62     |
| Nitratos (mg/L)*                             | 0,037 ± 0,0112  |
| Compuestos fenólicos (mg/L)*                 | 14,36± 0,001    |

Valor de antocianinas ver en Tabla 3, oxalatos ver en Tabla 6, Nitratos y compuestos fenólicos ver en anexo F

Los compuestos fenólicos se encuentran relacionados a la actividad antioxidante de las antocianinas, por lo cual es importante la presencia de los mismos en el extracto obtenido, ya que las corontas son consideradas desechos agrícolas, y pueden llegar a tener un gran interés comercial debido a los beneficios que se pueden obtener de las mismas como agentes potenciales para la obtención de productos para el consumo humano que contengan un valor agregado (**Bolívar et al., 2003**), sin embargo, el contenido existente en el extracto de antocianinas es menor que el reportado por autores como **Medina (2012)** y **Almeida (2012)**.

El contenido de nitratos se puede expresar en mg/g de coronta de acuerdo a los siguientes cálculos utilizando la expresión 14:

$$mg \text{ nitratos} / g \text{ de muestra} = \frac{mg/L_{\text{nitratos}}}{C^*(g/L)} (14)$$

**Dónde:**

$mg/L_{\text{nitratos}}$  = concentración de nitratos en mg/L

$C^*$  = concentración de materia vegetal en relación al volumen de solvente

$$mg \text{ nitratos} / g \text{ de muestra} = \frac{0,037}{12,5}$$

$$mg \text{ nitratos} / g \text{ de muestra} = 0,0030$$

Los resultados evidencian que el contenido de nitratos es inferior al máximo permisible para productos vegetales (2 mg/g) (Valle y Lucas, 2000).

#### 4.2 Verificación de hipótesis

La tabla ANOVA (Tabla 8) evalúa la variabilidad de cada uno de los efectos en la concentración de antocianinas (mg/L) extraídas a partir de la coronta del Maíz Morado, así como sus interacciones a un nivel de confianza del 95%.

**Tabla 8. Análisis de varianza para la concentración de antocianinas (mg/L).**

| Fuente                        | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón-F   | Valor-P |
|-------------------------------|-------------------|----|----------------|-----------|---------|
| EFECTOS PRINCIPALES           |                   |    |                |           |         |
| A: Material vegetal- solvente | 69260,3           | 1  | 69260,3        | 164193,51 | 0,000   |
| B: Tiempo                     | 78,3314           | 1  | 78,3314        | 185,7     | 0,000   |
| C: Temperatura                | 439,196           | 1  | 439,196        | 1041,19   | 0,000   |
| INTERACCIONES                 |                   |    |                |           |         |
| AB                            | 154,778           | 1  | 154,778        | 366,93    | 0,000   |
| AC                            | 51,5596           | 1  | 51,5596        | 122,23    | 0,000   |
| BC                            | 787,055           | 1  | 787,055        | 1865,85   | 0,000   |
| ABC                           | 1098,72           | 1  | 1098,72        | 2604,71   | 0,000   |
| RESIDUAL                      | 3,37457           | 8  | 0,421821       |           |         |
| TOTAL (CORRECTED)             | 71873,3           | 15 |                |           |         |

Los datos de la Tabla 3 fueron analizados mediante un diseño  $2^3$  en Statgraphics para determinar el efecto de la relación material vegetal-solvente, tiempo y temperatura en la extracción de antocianinas a partir de coronta de Maíz Morado. Los resultados se presentan en las Tablas 9, 10 y 11.

#### 4.2.1 Efecto de la relación material vegetal-volumen de solvente en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado

##### Hipótesis nula

La relación material vegetal-volumen de solvente influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

##### Hipótesis Alternativa

La relación material vegetal-volumen de solvente no influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

**Tabla 9. Prueba de múltiples rangos para la relación de material vegetal-solvente**

| Material vegetal- solvente | Casos | Media   | LS       | Sigma | Grupos Homogéneos |
|----------------------------|-------|---------|----------|-------|-------------------|
| 0                          | 8     | 80,0504 | 0,229625 | X     |                   |
| 1                          | 8     | 211,637 | 0,229625 | X     |                   |

Con el análisis de varianza (Tabla 8) se observa que  $p < 0,05$ , por lo tanto existe diferencia significativa entre los niveles de la relación material vegetal-volumen de solvente, en consecuencia, a un nivel de confianza del 95%, se acepta la hipótesis nula. Mediante la prueba de múltiples rangos (Tabla 9) para la relación de material vegetal-solvente se evidencia que existe una diferencia significativa entre los niveles bajo y alto del factor a. La relación material vegetal-volumen de solvente 1:80 (M/V) produce mayor cantidad de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

#### 4.2.2 Efecto del tiempo en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado

##### Hipótesis nula

El tiempo influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

### Hipótesis Alternativa

El tiempo no influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

**Tabla 10. Prueba de múltiples rangos para el Tiempo de extracción**

| Tiempo | Casos | Media   | LS       | Sigma | Grupos Homogéneos |
|--------|-------|---------|----------|-------|-------------------|
| 0      | 8     | 143,631 | 0,229625 | X     |                   |
| 1      | 8     | 148,056 | 0,229625 | X     |                   |

Con el análisis de varianza (Tabla 8) se observa que  $p < 0,05$ , por lo tanto existe diferencia significativa entre los niveles de tiempo de extracción, por esta razón, a un nivel de confianza del 95%, se acepta la hipótesis nula. Mediante la prueba de múltiples rangos (Tabla 10) para el tiempo de extracción se evidencia que existe una diferencia significativa entre los niveles bajo y alto del factor b. El tiempo de extracción de 1 hora produce una mayor concentración de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

#### 4.2.3 Efecto de la temperatura en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado

##### Hipótesis nula

La temperatura influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

##### Hipótesis Alternativa

La temperatura no influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

**Tabla 11. Prueba de múltiples rangos para la Temperatura de extracción**

| Temperatura | Casos | Media   | LS       | Sigma | Grupos Homogéneos |
|-------------|-------|---------|----------|-------|-------------------|
| 0           | 8     | 140,605 | 0,229625 | X     |                   |
| 1           | 8     | 151,083 | 0,229625 | X     |                   |

Con el análisis de varianza (Tabla 8) se observa que  $p < 0,05$ , por tanto existe diferencia significativa entre los niveles de la temperatura de extracción, por ende, a un nivel de confianza del 95%, se acepta la hipótesis nula. Mediante la prueba de múltiples rangos (Tabla 11) para la temperatura de extracción se evidencia que existe una diferencia significativa entre los niveles bajo y alto del factor c. La temperatura de extracción de 90°C produce mayor cantidad de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

#### **4.2.4 Efecto de la relación material vegetal-volumen de solvente, tiempo de extracción y temperatura en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado**

##### **Hipótesis nula**

La relación material vegetal-volumen de solvente, tiempo de extracción y temperatura influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

##### **Hipótesis Alternativa**

La relación material vegetal-volumen de solvente, tiempo de extracción y temperatura no influye en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado.

De acuerdo con la Tabla 8 (ANOVA) los factores a, b y c presentan un valor  $p < 0,05$ , lo cual indica que a un nivel de confianza del 95% existe diferencia significativa entre los niveles de la relación material vegetal-solvente, tiempo y temperatura, así como la interacción entre todos los factores, influyendo en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado, por lo que se acepta la hipótesis nula: “La relación material vegetal-volumen de solvente, tiempo de extracción y temperatura influyen en la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado”.

## Estabilidad de las antocianinas y comportamiento del proceso de extracción de antocianinas al variar las condiciones de extracción

Se analizó estadísticamente los datos de la Tabla 12 con un diseño compuesto central para predecir el comportamiento de la extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado frente a la variación de los tres factores estudiados y se analizó la estabilidad de las antocianinas al variar los factores establecidos.

A continuación se detalla un ejemplo de los cálculos realizados para la determinación de la concentración de antocianinas en mg de cianidin-3-glucósido/L:

$$C_A(mg/L) = \frac{[(A_{510}-A_{700})_{pH1}-(A_{510}-A_{700})_{pH4.5}] \times PM \times FD \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (2)$$

**Dónde:**

$C_A$  = concentración de antocianinas en mg/L,

$A_{510}$  y  $A_{700}$  = absorbancias a 510 y 700 nm respectivamente a pH 1 y pH 4,5

**PM** = peso molecular de la cianidina-3-glucósido correspondiente a 449,2 g/mol,

**FD** = factor de dilución equivalente a 10,

**1000** = factor de conversión de g a mg,

$\epsilon$  = coeficiente de extinción molar para la cianidina-3-glucósido con un valor de 26900 reportado por **Gorriti et al. (2009)**, **Rojano et al. (2012)** y **Zapata et al. (2014)**.

$l$  = longitud de paso de la celda en cm (1 cm)

$$C_A(mg/L) = \frac{[(0,514 - 0,003) - (0,097 - 0,023)] \times 449,2 \times 10 \times 1000}{26900 \times 1}$$

$$C_A(mg/L) = \frac{1963004}{26900}$$

$$C_A(mg/L) = 72,97$$



**Tabla 12. Concentración de antocianinas en el extracto de coronta de Maíz Morado (mg de cianidin-3-glucósido/L) a diferentes condiciones de los factores a, b y c**

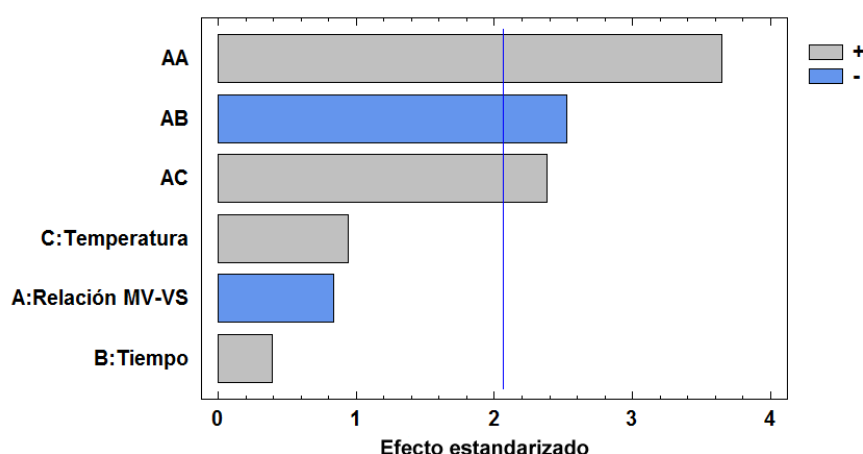
| R* | M.V : V.S* | t* | T* | pH 1               |                    | pH 4.5             |                    | mg/L   |
|----|------------|----|----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|
|    |            |    |    | Abs <sub>510</sub> | Abs <sub>700</sub> | Abs <sub>510</sub> | Abs <sub>700</sub> |        |
| 1  | 1          | 1  | 1  | 0,514              | 0,003              | 0,097              | 0,023              | 72,97  |
| 1  | -1         | 1  | 1  | 1,314              | 0,002              | 0,210              | 0,034              | 189,7  |
| 1  | 1          | 1  | -1 | 0,599              | 0,002              | 0,150              | 0,04               | 81,32  |
| 1  | -α         | 0  | 0  | 1,546              | 0,007              | 0,319              | 0,091              | 218,92 |
| 1  | 0          | -α | 0  | 0,552              | 0,004              | 0,075              | -0,015             | 76,48  |
| 1  | +α         | 0  | 0  | 1,672              | 0,016              | 0,382              | 0,132              | 234,79 |
| 1  | 1          | -1 | -1 | 0,76               | 0,024              | 0,218              | 0,026              | 90,84  |
| 1  | -1         | -1 | -1 | 1,421              | 0,016              | 0,346              | 0,155              | 202,72 |
| 1  | -1         | -1 | 1  | 0,448              | 0,002              | 0,069              | 0,007              | 64,12  |
| 1  | 1          | -1 | 1  | 1,609              | 0,011              | 0,364              | 0,129              | 227,61 |
| 1  | -1         | 1  | -1 | 1,099              | 0,006              | 0,266              | 0,017              | 140,94 |
| 1  | 0          | +α | 0  | 1,166              | 0,003              | 0,200              | 0,021              | 164,32 |
| 1  | 0          | 0  | -α | 0,724              | 0,023              | 0,198              | 0,017              | 86,83  |
| 1  | 0          | 0  | +α | 1,026              | 0,003              | 0,251              | 0,007              | 130,08 |
| 1  | 0          | 0  | 0  | 1,127              | 0,005              | 0,263              | 0,014              | 145,78 |
| 1  | 0          | 0  | 0  | 1,129              | 0,005              | 0,267              | 0,017              | 145,95 |
| 2  | 1          | 1  | 1  | 0,512              | 0,002              | 0,097              | 0,019              | 72,14  |
| 2  | -1         | 1  | 1  | 1,318              | 0,002              | 0,209              | 0,038              | 191,2  |
| 2  | 1          | 1  | -1 | 0,594              | 0,002              | 0,156              | 0,043              | 79,99  |
| 2  | -α         | 0  | 0  | 1,543              | 0,008              | 0,318              | 0,091              | 218,42 |
| 2  | 0          | -α | 0  | 0,554              | 0,003              | 0,071              | -0,017             | 77,32  |
| 2  | +α         | 0  | 0  | 1,673              | 0,017              | 0,381              | 0,13               | 234,62 |
| 2  | 1          | -1 | -1 | 0,76               | 0,024              | 0,218              | 0,026              | 90,84  |
| 2  | -1         | -1 | -1 | 1,419              | 0,017              | 0,344              | 0,153              | 202,22 |
| 2  | -1         | -1 | 1  | 0,45               | 0,003              | 0,068              | 0,005              | 64,12  |
| 2  | 1          | -1 | 1  | 1,608              | 0,012              | 0,362              | 0,127              | 227,27 |
| 2  | -1         | 1  | -1 | 1,096              | 0,005              | 0,263              | 0,015              | 140,77 |
| 2  | 0          | +α | 0  | 1,167              | 0,005              | 0,200              | 0,024              | 164,65 |
| 2  | 0          | 0  | -α | 0,721              | 0,024              | 0,197              | 0,016              | 86,17  |
| 2  | 0          | 0  | +α | 1,024              | 0,004              | 0,253              | 0,008              | 129,42 |
| 2  | 0          | 0  | 0  | 1,123              | 0,006              | 0,261              | 0,013              | 145,11 |
| 2  | 0          | 0  | 0  | 1,128              | 0,004              | 0,268              | 0,017              | 145,78 |

R\*=Réplica. M.V-V.S\*= materia vegetal-volumen de solvente, M.V-V.S.+1= relación 1:80, M.V-V.S.-1= relación 1:160, M.V-V.S. +α = relación 1:69, M.V-V.S. -α = relación 1:250, M.V-V.S. 0 = relación 1:107. t\*=tiempo, t+1= 3 horas, t-1= 1 hora, t+α = 3,68 horas, t-α = 0,30 horas, t 0= 2 horas. T\*=Temperatura, T+1= 90°C, T-1= 50°C, T+α = 103,6°C, T-α = 36°C, T0 = 70°C

**Tabla 13. Análisis de varianzas para la concentración de antocianinas (mg/L) para el diseño compuesto central**

| Fuente           | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón-F | Valor-P |
|------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| A:Relación MV-VS | 1448,4            | 1  | 1448,4         | 0,70    | 0,4120  |
| B:Tiempo         | 322,682           | 1  | 322,682        | 0,16    | 0,6970  |
| C:Temperatura    | 1852,84           | 1  | 1852,84        | 0,89    | 0,3545  |
| AA               | 27598,1           | 1  | 27598,1        | 13,28   | 0,0013  |
| AB               | 13199,3           | 1  | 13199,3        | 6,35    | 0,0188  |
| AC               | 11799,7           | 1  | 11799,7        | 5,68    | 0,0254  |
| bloques          | 0,348566          | 1  | 0,348566       | 0,00    | 0,9898  |
| Error Total      | 49875,1           | 24 | 2078,13        |         |         |
| Total            | 106096,           | 31 |                |         |         |

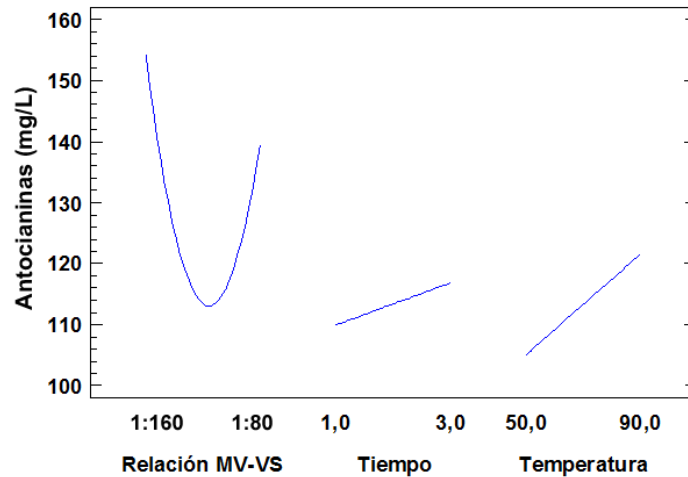
La tabla ANOVA para la concentración de antocianinas (mg/L) (Tabla 13) evalúa la variabilidad de cada uno de los efectos. En este caso las interacciones entre los factores AB, AC y la interacción cuadrática del factor A obtuvieron un valor-P menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95 %, por lo que ejercen un efecto significativo en la extracción de antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado, mientras que los factores A, B y C por si solos presentan un valor-P mayor a 0,05, por lo que no ejercen un efecto significativo sobre la concentración de antocianinas. El ajuste del modelo presenta un valor de  $R^2 = 52,99\%$ , por lo que se recomienda realizar un estudio ampliado sobre el efecto de los factores en la extracción de antocianinas.



**Figura 6.** Diagrama de Pareto estandarizado para la concentración de antocianinas (mg/L).

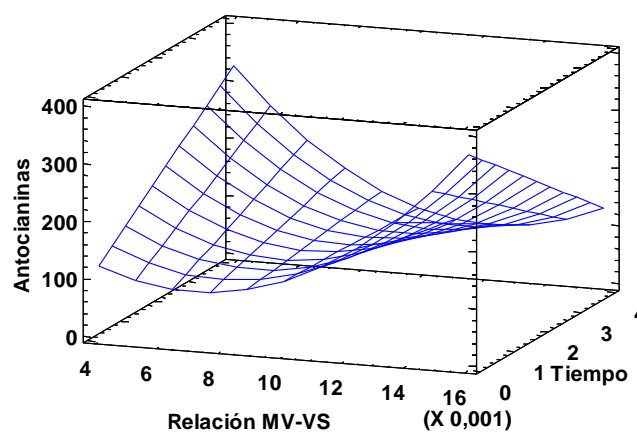
La interacción cuadrática del factor A, así como la interacción de los factores AB y AC registran un valor-P menor a 0,05 (línea vertical en el diagrama de

Pareto), por lo que representan un efecto independiente y significativo sobre el proceso de extracción de antocianinas, mientras que cada factor por sí solo no genera efectos significativos (Figura 6).



**Figura 7.** Gráfico de efectos principales de los factores estudiados.

Al incrementar el tiempo y temperatura, de extracción, la concentración de antocianinas tiende a aumentar, y al reducir la cantidad de solvente primero se observa una disminución en la concentración de antocianinas, para luego registrar un aumento (Figura 7), pero el proceso de extracción se ve optimizado con una relación materia vegetal-volumen de solvente de 1:250, tiempo de 3,6 horas y a una temperatura de 36,4°C (Figura 8).



**Figura 8.** Superficie de respuesta estimada para la concentración de antocianinas (mg/L)

La Tabla 14 muestra los coeficientes de regresión obtenidos para la obtención de antocianinas. La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{Antocianinas} = 513,322 - 78560,2 \cdot \text{Relación MV-VS} + 89,6034 \cdot \text{Tiempo} - 3,66167 \cdot \text{Temperatura} + 3,42383\text{E}6 \cdot \text{Relación MV-VS}^2 - 9191,07 \cdot \text{Relación MV-VS} \cdot \text{Tiempo} + 434,505 \cdot \text{Relación MV-VS} \cdot \text{Temperatura}$$

**Tabla 14. Coeficientes de regresión de antocianinas**

| <b>Coeficiente</b> | <b>Estimado</b> |
|--------------------|-----------------|
| constante          | 513,322         |
| A:Relación MV-VS   | -78560,2        |
| B:Tiempo           | 89,6034         |
| C:Temperatura      | -3,66167        |
| AA                 | 3,42383E6       |
| AB                 | -9191,07        |
| AC                 | 434,505         |

El diseño compuesto central también predice el comportamiento del proceso de extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado al variar los valores de los factores estudiados, la Tabla 15 muestra los valores óptimos de cada factor para obtener la mejor concentración de antocianinas en el extracto.

**Tabla 15. Respuesta óptima**

| <b>Factor</b>                     | <b>Bajo</b> | <b>Alto</b> | <b>Óptimo</b> |
|-----------------------------------|-------------|-------------|---------------|
| Material vegetal-solvente         | 1:250       | 1:68        | 1:250         |
| Tiempo                            | 0,318207    | 3,68179     | 3,64455       |
| Temperatura                       | 36,3641     | 103,636     | 36,4343       |
| <b>Valor óptimo = 368,18 mg/L</b> |             |             |               |

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- Se extrajo antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado (*Zea mays L.*) para el aprovechamiento de residuos agrícolas, logrando una concentración de 234,870 mg/L, o 18,79 mg/g de coronta, con un porcentaje de rendimiento de 1,879%.
- Las condiciones de extracción de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado (*Zea mays L.*) que generaron los mejores resultados de concentración de antocianinas y rendimiento fueron: una relación material vegetal-volumen de solvente de 1:80 (M/V), un tiempo de 1 hora y una temperatura de 90°C.
- Se analizó la estabilidad del extracto de antocianinas al cambio de temperatura, tiempo de extracción y relación material vegetal-solvente mediante un diseño compuesto central, observándose que cada factor por sí solo no influye significativamente en la estabilidad de este metabolito, sino más bien las interacciones entre la relación materia vegetal-volumen de solvente con el tiempo y con la temperatura por separado, obteniendo un efecto negativo en la estabilidad al interactuar el volumen de solvente utilizado con el tiempo de extracción, lo contrario al unirse el volumen de solvente con la temperatura, ya que esta interacción ejerce un efecto positivo a la extracción.
- El mayor efecto para el proceso de extracción lo produce la relación materia vegetal-volumen de solvente, ya que una interacción cuadrática de este factor ejerce el mejor efecto positivo para este proceso.
- La caracterización del extracto de antocianinas a partir de la coronta del Maíz Morado (*Zea mays L.*) señala que contiene un nivel de oxalatos (3,59 mg/g de muestra) menor al reportado para acelga (7 mg/g) y

espinaca (6 mg/g), lo que sugiere una adición moderada de este producto en la dieta; un nivel bajo de nitratos (0,0030 mg/g), lo cual es una ventaja, ya que no hay riesgo de enfermedades y, un contenido bajo de fenoles (14,36 mg/L) con relación a lo reportado en otros estudios sobre antocianinas.

## **5.2 Recomendaciones**

- Estudiar la estabilidad de las antocianinas obtenidas a partir de la coronta de Maíz Morado en diferentes condiciones de almacenamiento.
- Ampliar los estudios de estabilidad de las antocianinas a los cambios de condiciones como pH y tipo de solvente, ya que éstos no fueron evaluados en el presente trabajo y pueden tener una influencia en la concentración final de antocianinas obtenidas.
- Aplicar procesos de estabilización de las antocianinas obtenidas, como secado, cristalización o microencapsulación.
- Continuar con el estudio del potencial industrial de las antocianinas obtenidas a partir de la coronta del Maíz Morado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). (2015). RESUMEN DE SALUD PÚBLICA: NITRATO Y NITRITO. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU., Servicio de Salud Pública Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades
- Aguilera, M., Reza, M., Chew, R. & Meza, J. (2011). PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS ANTOCIANINAS. *Revista Biotecnía*, 12(2), 16-22.
- Almeida, J. (2012). EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL COLORANTE NATURAL DEL MAÍZ NEGRO (*Zea mays L.*) Y DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE. Ingeniería Agroindustrial Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional, Quito.
- Bolívar, A., Cevallos, C. & Cisneros, L. (2013). STOICHIOMETRIC AND KINETIC STUDIES OF PHENOLIC ANTIOXIDANTS FROM ANDEAN PURPLE CORN AND RED-FLESHED SWEETPOTATO. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 51 (11), 3313–3319.
- Callejo, M. (2002). INDUSTRIAS DE CEREALES Y DERIVADOS. Editorial Mundi-Prensa libros, S.A. Madrid-España. 18-19.
- Carpio, C., Escobar, F., Batista-Viera, F., Ruales, J. (2011). BONE-BOUND GLUCOAMYLASE AS A BIOCATALYST IN BENCH-SCALE PRODUCTION OF GLUCOSE SYRUPS FROM LIQUEFIED CASSAVA STARCH. *Food Bioprocess Technol.* 4,566–577.
- Casalderrey, M. (2004). EL ÁCIDO OXÁLICO DE LAS ESPINACAS. La voz de Galicia S.A, Polígono de Sabón, España.

- Comisión para la Cooperación Ambiental (CCA). (2014), LA QUEMA DE RESIDUOS AGRÍCOLAS: FUENTE DE DIOXINAS. Montreal, Canadá, 6 pp.
- Devia, J. & Saldarriaga, L. (2002). PLANTA PILOTO PARA OBTENER COLORANTE DE LA SEMILLA DEL ACHIOTE (*Bixa orellana*). *REVISTA Universidad EAFIT*. 39(131), 8-22. Medellín-Colombia.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2013). SCIENTIFIC OPINION ON THE RE-EVALUATION OF ANTHOCYANINS (E 163) AS A FOOD ADDITIVE. [SCIENTIFIC OPINION]. *EFSA Journal*. 11(4), 3145-3205. doi: 10.2903/j.efsa.2013.3145.
- Figueroa, R., Tamayo, J., González, S., Moreno, G. & Vargas, L. (2011). ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ANTOCIANINAS PRESENTES EN CÁSCARA DE PITAHAYA (*Hylocereus undatus*). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 12(1), 44-55.
- Garzón, G. (2008). LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS: REVISIÓN. Departamento de Química. 13(3), 27-36. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Gorriti, A., Quispe, F., Arroyo, J., Córdova, A., Jurado, B., Santiago, I., & Taype, E. (2009). EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DE LAS CORONTAS DE *Zea mays L.* "MAÍZ MORADO". Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.
- Giusti, M., & Wroslad, R. (2001). CHARACTERIZATION AND MEASUREMENT OF ANTHOCYANINS BY UV-VISIBLE SPECTROSCOPY. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. (pp 13). New York: John Wiley & Sons, Inc. (Unit F1.2.1-F1.2.13).



- Hrazdina, G. (1974). REACTION OF ANTHOCYANIN IN FOOD PRODUCTS. *Lebesm. Wiss Technol*, 7(4), 193-198.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). (2004). TAMICES DE ENSAYO. DIMENSIONES NOMINALES DE LAS ABERTURAS. Norma Técnica Ecuatoriana. INEN 154. Primera Revisión 1986-12
- Martínez, J., Rojas, H., Borda, G., Hastamorir, A. & Medina, M. (2011). ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS EN JUGO Y CONCENTRADO DE AGRAZ (VACCINIUM MERIDIONALE SW.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. 64(1)
- Medina, G. (2012). EXTRACCIÓN DEL COLORANTE ANTOCIANINA A PARTIR DEL MAÍZ MORADO Y SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Huacho – Perú.
- Ministerio de Salud de la República de Chile. (2012). NÓMINA DE COLORANTES PERMITIDOS EN PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y COSMÉTICOS. Santiago – Chile.
- Natural Products Chemistry (NPC). (2006). ANTHOCYANINS AS FOOD DYES.
- Ortega, G., Guerra, M. (2006). SEPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS MEDIANTE MÉTODOS QUÍMICO-FÍSICOS. PARTE II. *Revista ICIDCA*. 40(3), 3-11.
- Ortiz, M., Reza, M., Chew, R., Aguilar, J. & Ramírez, P. (2012). ANTOCIANINAS DE HIGO COMO COLORANTES PARA YOGUR NATURAL. Facultad de Ciencias Químicas. 14(1), 18-24. México: Universidad Juárez del Estado de Durango.
- Pérez, G. (2015). ALIMENTOS CON OXALATO Y ÁCIDO OXÁLICO. Recuperado de: [http://www.oxalato.com/alimentos\\_con\\_oxalato\\_y\\_cido\\_oxlico](http://www.oxalato.com/alimentos_con_oxalato_y_cido_oxlico)
- Reyes, G. (2013). EFECTO DE PASTEURIZACIÓN Y ALMACENAMIENTO EN LA ESTABILIDAD QUÍMICA Y ANTIOXIDANTE DE JUGO DE AÇAÍ

(*Euterpe oleracea* Mart.). Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano-Honduras.

Rodríguez-Saona, L. & Wrolstad, R. 2001. EXTRACTION, ISOLATION, AND PURIFICATION OF ANTHOCYANINS. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. F:F1:F1.1.

Rojano, B., Zapata, I. & Cortes, F. (2012). ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS Y VALORES DE CAPACIDAD DE ABSORBANCIA DE RADICALES OXÍGENO (ORAC) DE EXTRACTOS ACUOSOS DE COROZO (*Bactris guineensis*). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 17(3), 1028-4796

Sierra Exportadora. (2013). PERFIL COMERCIAL DE ANTOCIANINA DE MAÍZ MORADO. Perú: Presidencia del Consejo de Ministros.

Sociedad Española de Fitoterapia (SEFIT). (2003). ANTOCIANOS, COLORANTES NATURALES DE APLICACIÓN INDUSTRIAL. *Revista de Fitoterapia*, 3(2), 147-152.

Sotomayor, R. (2013). EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS A PARTIR DE LOS GRANOS DE *Zea mays* L. (MAÍZ MORADO). Perú: Universidad Alas Peruanas.

Voguel, A. (2007). QUÍMICA ANALÍTICA CUANTITATIVA. Buenos Aires, Argentina. 1(1), 384-385.

Xu, Z., & Howard, L. R. (2012). ANALYSIS OF ANTIOXIDANT-RICH PHYTOCHEMICALS. John Wiley & Sons.

Zapata, L., Heredia, A., Quinteros, C., Malleret, A., Clemente, G. & Cárcel, J. (2014). OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DE ARÁNDANOS. *Ciencia, docencia y tecnología*. 1(49), 1851-1716.

## ANEXOS

### Anexo A. Extracción de antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado.



### Anexo B. Cuantificación de antocianinas a partir de la coronta de Maíz Morado.



**Anexo C. Determinación de tamaño de partícula de la coronta molida de Maíz Morado.**



Tamices estándar ASTM para determinar el tamaño de partícula

**Anexo D. Determinación de humedad de la coronta molida de Maíz Morado.**

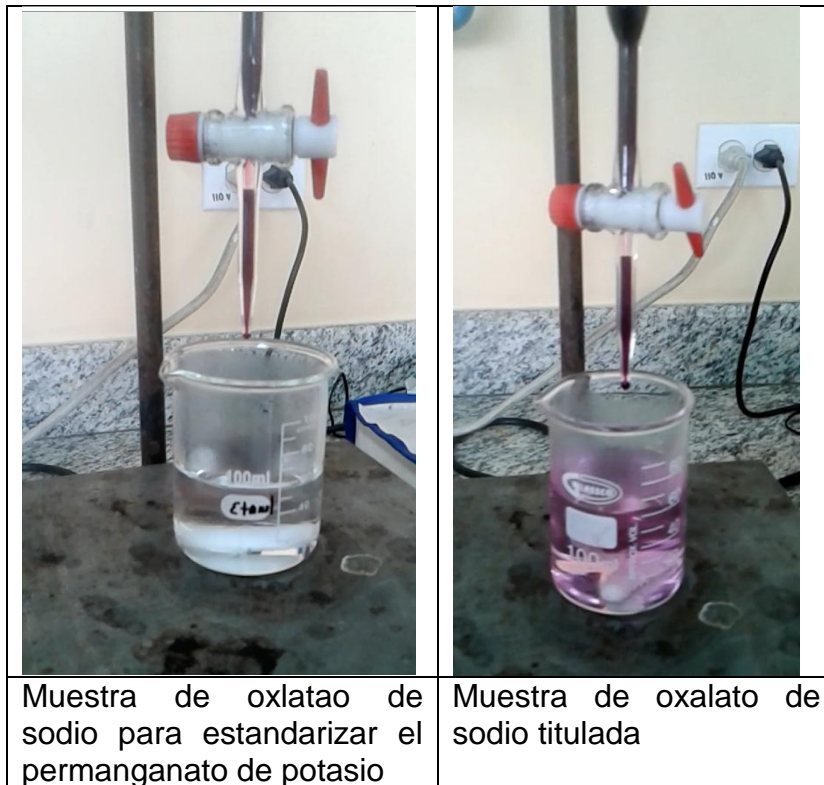


Balanza de humedad



Muestra de coronta molida para la determinación de humedad

**Anexo E. Determinación de oxalatos en el extracto de antocianinas.**



# Anexo F



## INFORME DE RESULTADOS

| <b>LABORATORIO DE ENSAYO, ACREDITADO POR OAE CON ACREDITACIÓN</b><br>N° OAE LE C 11-010 | DATOS DEL CLIENTE     |  | <b>Versión:</b> 7<br><b>Pág.:</b> 1 de 1<br><b>Código:</b> REG TEC 018<br><b>Fecha formato:</b> 26/03/2014<br><b>NÚMERO DE INFORME:</b><br>LACQUA 16-152 |
|---|-----------------------|--|--|
|   | <b>CLIENTE:</b>       |  |  |
|   | <b>REPRESENTANTE:</b> | Sr. ANDRÉS MANZANO                           |  |
|   | <b>DIRECCIÓN:</b>     | Av. Julio César Cañar y Marco Vinicio Bedoya |  |
|   | <b>TELÉFONO:</b>      | 032 406 039                                  |  |
|   | <b>CELULAR:</b>       | 098 451 3361                                 |  |
|   | <b>e - mail:</b>      | nano0191@gmail.com                           |  |

|                                |                        |                               |
|--------------------------------|------------------------|-------------------------------|
| <b>CONDICIONES AMBIENTALES</b> | <b>HUMEDAD (%):</b> 49 | <b>TEM. AMBIENTE (°C):</b> 18 |
|--------------------------------|------------------------|-------------------------------|

|                                  |                                  |                               |                     |
|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|---------------------|
| <b>TIPO DE MUESTRA:</b>          | Agua residual desechos agrícolas | <b>FECHA TOMA DE MUESTRA:</b> | 11 de julio de 2016 |
| <b>RESPONSABLE MUESTREO:</b>     | Cliente                          |                               |                     |
| <b>TIPO DE TOMA DE MUESTRA:</b>  | Puntual                          |                               |                     |
| <b>FECHA DE ANÁLISIS:</b>        | Desde el 12 al 22 julio de 2016  |                               |                     |
| <b>FECHA EMISIÓN DE INFORME:</b> | 22 de julio de 2016              |                               |                     |

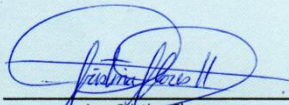

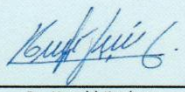
## INFORME ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

| PARÁMETROS | UNIDAD | RESULTADO | MÉTODO                  | INCERTIDUMBRE DEL MÉTODO |
|------------|--------|-----------|-------------------------|--------------------------|
| Nitratos   | mg/L   | 0,037     | PRO TEC 034 / HACH 8192 | ± 11,24 %                |
| Fenoles**  | mg/L   | 14,36     | PRO TEC 055 / HACH 8047 | ----                     |

<sup>#</sup> Norma de Referencia: N/A  
<sup>\*</sup> Parámetro acreditado  
<sup>\*</sup> Parámetro acreditado fuera del alcance

<sup>\*\*</sup> Parámetro No acreditado  
<sup>\*\*\*</sup> Parámetro lab. Subcontratado Acreditado:  
 Certificado: N/A

### PERSONAL RESPONSABLE:

|   |   |  |
|---|---|--|
| <br>Ing. Cristina Flores<br>ANALISTA |  | <br>Dr. Harold Jiménez<br>DIRECTOR TÉCNICO |
|---|---|--|

**NOTA:**  
 El informe solo afecta a las muestras sometidas a ensayo.  
 Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio sin el permiso escrito del laboratorio

Dirección: Edif. Plaza Ficoa, local 202, Av. Rodrigo Pachano s/n y Montalvo  
 Teléfono: 09-5363620 / 03-2420106 www.lacquanalisis.com info@lacquanalisis.com  
 Ambato, Ecuador - Sud América