

EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DE LAS CORONTAS DE *Zea mays* L. “MAÍZ MORADO”

Extraction of anthocyanins from purple corn cobs of *Zea mays* L.

Arilmí Gorriti G¹, Fredy Quispe J², Jorge L. Arroyo A³, Augusta Córdova R¹, Bertha Jurado T¹, Ilario Santiago A¹ y Evelyn Taype E¹

¹Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. ²Unidad de I-D+I. Empresa AGRONEGOCIOS PERUAGRO S.R.L. ³Facultad de Medicina UNMSM.

RESUMEN

En el presente trabajo se investigaron las condiciones óptimas de extracción de antocianinas de las corontas del maíz morado mediante el empleo de un diseño completo al azar con arreglo factorial 2A3B4C4D. Los factores estudiados fueron pH, solvente, tiempo y temperatura. Los resultados mostraron antocianinas entre 8,404 y 47,984 mg/g de coronta, determinados según el método de pH diferencial. Se presenta el análisis de los cuatro factores.

Palabras clave: *Zea mays*, maíz morado, antocianinas, análisis factorial, coronta.

SUMMARY

At the present investigation the good conditions for the extraction of anthocyanins from purple corn cobs were investigated, by means of the employment of a complete design at random with factorial arrangement 2A3B4C4D. The factors studied were pH, solvent, time and temperature. The results showed anthocyanins between 8,404 and 47,984 mg/g of cob according to the method of differential pH. Analysis of four factors were presented.

Keywords: *Zea mays*, purple corn, anthocyanins, factorial analysis, cob.

INTRODUCCIÓN

Los colorantes naturales presentan demanda considerable en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica para reemplazar a los colorantes sintéticos, debido a su naturaleza química, inocuidad y funcionalidad. Entre estos colorantes naturales se encuentran las antocianinas que se distribuyen ampliamente en el reino vegetal y están presentes en raíces, tallos, hojas, flores y frutos de las plantas superiores ^(1,2,3,8). El maíz morado es una variedad pigmentada del *Zea mays* L., cuyos granos y coronta presentan color morado. Investigaciones recientes han revelado la presencia de compuestos tales como: un dímero de cianidina, derivados mono y di-glicosidados de cianidina, pelargonidina, peonidina y otros fenólicos ^(1,2,3). Las características estructurales de las antocianinas, su relativa estabilidad en medio acuoso según el pH, con la presencia de estructuras tales como el catión flavilium, una base quinoidal, una pseudo base carbinol y una chalcona ^(4,5,6), determinan una mayor estabilidad frente a cambios de pH, temperatura y exposición a la luz, debido a procesos de copigmentación y asociación intermolecular e intramolecular que se desarrollan en el medio ^(1,7), convirtiendo a estos compuestos en fuentes potenciales de colorantes natu-

rales ^(1,8,9), sustancias activas de alimentos funcionales, nutracéuticos y medicamentos ^(10,11). En este trabajo se investigaron los factores pH, solvente, temperatura y tiempo relacionados a la extracción de antocianinas, siendo el objetivo la identificación de las condiciones óptimas para la extracción de antocianinas de las corontas de maíz morado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las corontas de maíz morado del cultivar testigo Joya (TJ), utilizados en la investigación, se obtuvieron de mazorcas recolectadas en un campo experimental del distrito de la Joya de la Región de Arequipa-Perú, ubicado en latitud sur 16°25'27" y longitud oeste 71°48'43" sobre los 1644 msnm, entre los meses de febrero y abril del 2008. Todos los reactivos y solventes utilizados fueron de grado analítico Sigma Aldrich Chemical Co. y Merck.

Preparación del extracto y determinación de antocianinas según el método de pH diferencial

Se pesó 2,5 g de coronta de maíz morado molienda y tamizada a Ø de 1 mm extraídos con 200 mL de agua destilada y solución etanólica al 20 y 40%, pH 2 y

4 ajustados con HCl concentrado, durante tiempos de extracción de 30, 60, 120 y 240 minutos, a temperaturas de 25, 60, 75 y 90 °C según un diseño completo al azar con arreglo factorial 2A3B4C4D. Los extractos obtenidos fueron filtrados utilizando papel filtro Whatman N°1 con la ayuda de un equipo de vacío. Una alícuota del extracto se diluyó en una fiola de 25 mL con soluciones buffer de cloruro de potasio (pH 1) y acetato de sodio (pH 4,5). En las soluciones preparadas se determinó el contenido de antocianinas según el método de pH diferencial, de acuerdo a Giusti & Wroslstad (2001) utilizando espectrofotómetro UV-VIS y su contenido se expresó como cianidina-3-glucósido de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{Total antocianinas (mg/L)} = A \times PM \times FD \times 1000 / (\epsilon \times l)$$

Donde: $A = (A_{510} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{pH\ 4,5}$; PM (Peso molecular) = 449,2 g/mol para cianidina-3-glucósido; FD = factor de dilución; l = longitud de paso de celda en cm; ϵ = 26900 coeficiente de extinción molar para cianidina-3-glucósido; 1000 = factor de conversión de g a mg. Todos los análisis fueron realizados por triplicado ($n = 3$)^(5,12).

Análisis estadístico. Todos los resultados fueron analizados en el paquete estadístico SAS V7 (SAS Institute Inc.); el análisis factorial implementado a nivel de laboratorio para la preparación de los extractos contempló los factores: solvente de extracción (agua, EtOH 20%, EtOH 40%), medio de extracción (pH 2 y 4), temperatura de extracción (25, 60, 75 y 90 °C) y tiempo de extracción (30, 60, 120 y 240 minutos). Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan ($p \leq 0,05$) empleando el procedimiento GLM en un diseño completo al azar con arreglo factorial en el programa SAS. La hipótesis planteada en los experimentos fue que todos los tratamientos a la muestra (solvente de extracción, medio de extracción, temperatura de extracción y tiempo de extracción) tienen el mismo efecto sobre la concentración de antocianinas. Los gráficos interactivos en tres dimensiones fueron realizados en SPSS V10.07^(13,14).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracción de antocianinas del maíz morado

Se expresa como mg de antocianina/g de coronta, de acuerdo al diseño completo al azar con arreglo factorial que evaluó los factores: solvente de extracción en los niveles: agua, EtOH al 20 y 40%; medio de ex-

tracción a pH 2 y 4; temperatura de extracción a 25, 60, 75 y 90 °C; y tiempo de extracción a 30, 60, 120 y 240 min, para así determinar las mejores condiciones de extracción de antocianinas del testigo TJ (Tabla 1). El número de experimentos realizados de acuerdo a la combinación de factores fue de 96, que en triplicado hacen un total de 288 determinaciones. Al evaluarse los valores promedio según el análisis de varianza (ANOVA) se observa que existen diferencias altamente significativas, $p < 0,0001$ en el modelo experimental planteado (Tabla 2).

El ANOVA de los factores que participan en el modelo experimental, así como las interacciones derivadas de los factores se muestran en la Tabla 3.

De acuerdo a la tabla presentada, el ANOVA para las fuentes de variabilidad: *solv.* (solvente de extracción), *pH* (medio de extracción), *temp* (temperatura de extracción), *tiempo* (tiempo de extracción), *interacción solv.xpH*, *interacción pHxtemp*, *interacción solv.xtemp* e *interacción solv.xpHxtemp*, indican diferencias altamente significativas para $p < 0,0001$. Las interacciones *solv.xtiempo* y *tempxtiempo* muestran diferencias significativas para $p < 0,01$, y la interacción de 4 factores *solv.xpHxtempxtiempo* muestra diferencias significativas, $p < 0,05$. Las interacciones *pHxtiempo*; *solv.xpHxtiempo*; *pHxtempxtiempo*, y *solv.xtempxtiempo* no presentan diferencias significativas.

Análisis de un factor

Al analizar la significancia de los factores individuales según la prueba de rangos múltiples de Duncan para $p < 0,05$ y conocer las mejores condiciones de extracción de antocianinas, para el factor “*solvente de extracción*” las mejores condiciones se logran con EtOH al 20% (Figura 1a); y para el factor “*medio de extracción*” las mejores condiciones se obtienen a pH 2 (Figura 1(b)). Yang *et al.*⁽¹⁶⁾ en una investigación sobre extracción de antocianinas de un cultivar de China en un análisis factorial utilizando los ácidos cítrico y acético al 0,25; 0,50 y 1% (v/v) en medio etanólico y metanólico al 80, 90 y 100% (v/v) encontró antocianinas entre 0,78 y 5,90 mg/g coronta, inferiores a lo hallado en la presente investigación.

El análisis del factor “*temperatura de extracción*” indica que las mejores condiciones se dan a 90 °C. La prueba de rangos múltiples de Duncan para $p < 0,05$ ordena al factor de la siguiente manera: 90 °C > 75 °C > 60 °C > 25 °C, el valor de $R^2 = 0,9997$ indica una relación altamente significativa entre la temperatura y

Tabla 1. Extracción de antocianinas en los diferentes experimentos.

No.	Solv.	pH	T (°C)	t (min)	A (mg/g)	No.	Solv.	pH	T (°C)	t (min)	A (mg/g)	No.	Solv.	pH	T (°C)	t (min)	A (mg/g)
1	A	2	25	30	20,373 ± 1,325	33	B	2	25	30	11,567 ± 1,272	65	C	2	25	30	10,686 ± 1,281
2	A	2	25	60	22,655 ± 0,919	34	B	2	25	60	15,322 ± 0,563	66	C	2	25	60	10,687 ± 1,882
3	A	2	25	120	23,545 ± 1,874	35	B	2	25	120	15,721 ± 0,717	67	C	2	25	120	11,689 ± 3,199
4	A	2	25	240	23,666 ± 2,557	36	B	2	25	240	21,999 ± 0,839	68	C	2	25	240	12,524 ± 4,234
5	A	2	60	30	17,556 ± 1,272	37	B	2	60	30	21,130 ± 2,039	69	C	2	60	30	18,787 ± 0,923
6	A	2	60	60	23,931 ± 2,285	38	B	2	60	60	29,437 ± 3,329	70	C	2	60	60	21,323 ± 1,340
7	A	2	60	120	27,409 ± 1,420	39	B	2	60	120	34,629 ± 2,289	71	C	2	60	120	28,930 ± 3,287
8	A	2	60	240	30,041 ± 2,051	40	B	2	60	240	34,734 ± 3,793	72	C	2	60	240	29,501 ± 4,683
9	A	2	75	30	30,879 ± 0,946	41	B	2	75	30	25,939 ± 1,543	73	C	2	75	30	21,371 ± 1,138
10	A	2	75	60	31,007 ± 1,427	42	B	2	75	60	32,649 ± 0,986	74	C	2	75	60	29,341 ± 4,373
11	A	2	75	120	32,769 ± 2,744	43	B	2	75	120	35,233 ± 0,733	75	C	2	75	120	31,478 ± 1,076
12	A	2	75	240	33,008 ± 3,407	44	B	2	75	240	37,127 ± 10,226	76	C	2	75	240	32,228 ± 1,653
13	A	2	90	30	32,094 ± 2,101	45	B	2	90	30	26,177 ± 3,493	77	C	2	90	30	28,109 ± 3,256
14	A	2	90	60	33,180 ± 2,717	46	B	2	90	60	32,841 ± 4,605	78	C	2	90	60	28,388 ± 3,777
15	A	2	90	120	33,398 ± 0,728	47	B	2	90	120	33,286 ± 2,705	79	C	2	90	120	34,901 ± 9,948
16	A	2	90	240	33,509 ± 3,637	48	B	2	90	240	34,010 ± 10,421	80	C	2	90	240	35,179 ± 10,241
17	A	4	25	30	10,131 ± 1,112	49	B	4	25	30	11,773 ± 0,973	81	C	4	25	30	9,321 ± 0,839
18	A	4	25	60	17,423 ± 0,461	50	B	4	25	60	14,417 ± 0,409	82	C	4	25	60	8,404 ± 0,204
19	A	4	25	120	14,743 ± 1,383	51	B	4	25	120	14,472 ± 2,179	83	C	4	25	120	10,505 ± 0,307
20	A	4	25	240	15,467 ± 0,461	52	B	4	25	240	15,817 ± 1,862	84	C	4	25	240	15,697 ± 6,232
21	A	4	60	30	19,367 ± 0,726	53	B	4	60	30	20,067 ± 2,254	85	C	4	60	30	14,948 ± 0,988
22	A	4	60	60	22,655 ± 0,420	54	B	4	60	60	22,989 ± 0,704	86	C	4	60	60	18,232 ± 2,115
23	A	4	60	120	26,974 ± 0,482	55	B	4	60	120	25,694 ± 1,961	87	C	4	60	120	22,627 ± 0,326
24	A	4	60	240	28,351 ± 0,657	56	B	4	60	240	31,562 ± 1,056	88	C	4	60	240	28,326 ± 0,878
25	A	4	75	30	24,547 ± 1,261	57	B	4	75	30	27,943 ± 5,909	89	C	4	75	30	18,401 ± 2,105
26	A	4	75	60	24,658 ± 3,103	58	B	4	75	60	30,017 ± 1,963	90	C	4	75	60	20,874 ± 1,645
27	A	4	75	120	30,983 ± 1,863	59	B	4	75	120	30,958 ± 0,365	91	C	4	75	120	22,941 ± 1,492
28	A	4	75	240	31,779 ± 1,268	60	B	4	75	240	31,031 ± 3,527	92	C	4	75	240	30,893 ± 1,095
29	A	4	90	30	20,150 ± 1,061	61	B	4	90	30	27,361 ± 2,261	93	C	4	90	30	41,560 ± 2,218
30	A	4	90	60	21,041 ± 1,016	62	B	4	90	60	36,561 ± 3,328	94	C	4	90	60	44,335 ± 1,299
31	A	4	90	120	21,396 ± 1,005	63	B	4	90	120	47,138 ± 5,154	95	C	4	90	120	45,255 ± 0,110
32	A	4	90	240	23,424 ± 0,548	64	B	4	90	240	47,984 ± 5,445	96	C	4	90	240	46,534 ± 1,769

Solv. A= agua, Solv. B= EtOH 20%, Solv. C= EtOH 40%, T= temperatura, t= tiempo, A= antocianina (mg/g muestra), valores promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar.

Tabla 2. ANOVA para la extracción de antocianinas en el modelo planteado.

Fuente de variabilidad	GL	SC	CM	F	Pr > F
Modelo	95	216,717,039	2,281,232	22,14	< 0,0001
Error	178	18,343,670	103,054		
Total	273	235,060,709			

R² = 0,9219, CV = 12,3392, GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = cuadrado medio, F = valor de F, Pr = probabilidad

Tabla 3. ANOVA de la extracción de antocianinas en los factores e interacciones del modelo experimental.

Fuente de variabilidad	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr > F
Solv.	2	4,278,767	2,139,383	20,76	< 0,0001
pH	1	2,266,746	2,266,746	22,00	< 0,0001
Temp	3	121,552,093	40,517,364	393,17	< 0,0001
Tiempo	3	25,076,040	8,358,680	81,11	< 0,0001
Solv. × pH	2	6,031,690	3,015,845	29,26	< 0,0001
pH × tiempo	3	283,624	94,541	0,92	< 0,4337
pH × temp	3	581,862	1,939,540	18,82	< 0,0001
Solv. × tiempo	6	1,812,433	302,072	2,93	< 0,0094
Solv. × temp	6	22,040,112	3,673,352	35,64	< 0,0001
Temp × tiempo	9	2,742,699	304,744	2,96	< 0,0027
Solv. × pH × tiempo	6	475,553	79,259	0,77	< 0,5952
Solv. × pH × temp	6	16,120,438	2,686,739	26,07	< 0,0001
pH × temp × tiempo	9	948,235	105,359	1,02	< 0,4239
Solv. × temp × tiempo	18	2,993,452	166,303	1,61	< 0,0607
Solv. × pH × temp × tiempo	18	3,619,146	201,064	1,95	< 0,0147

GL= grados de libertad, SC= suma de cuadrados, CM= cuadrado medio, F= valor de F, Pr= probabilidad, Solv.= solvente, temp= temperatura

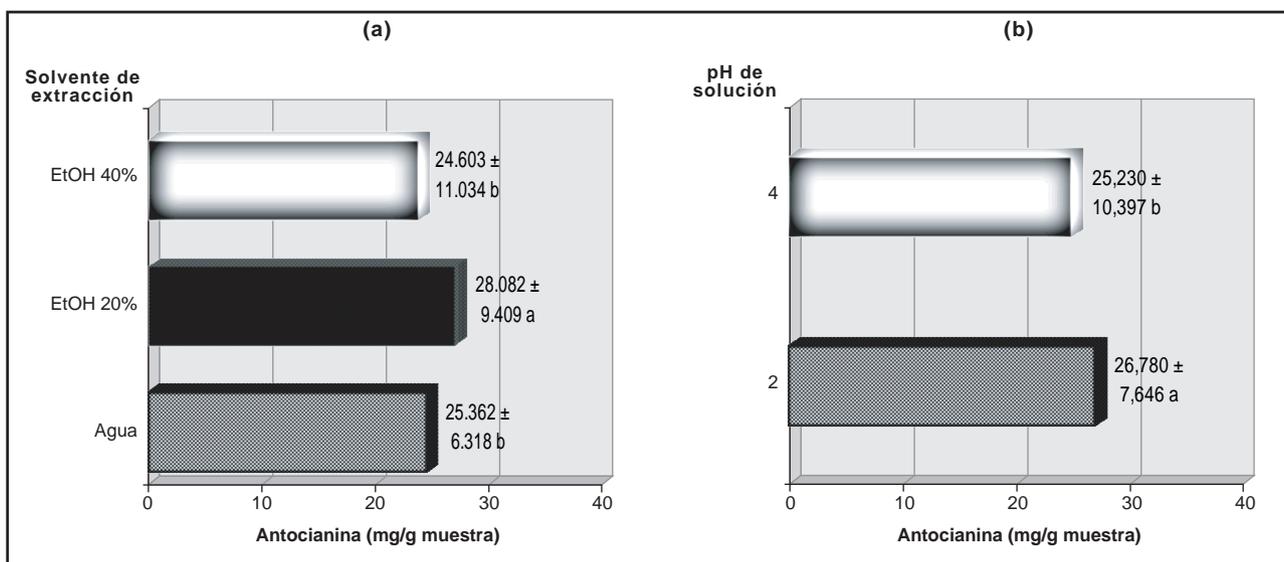


Figura 1. Extracción de antocianinas según el factor solvente y factor pH.

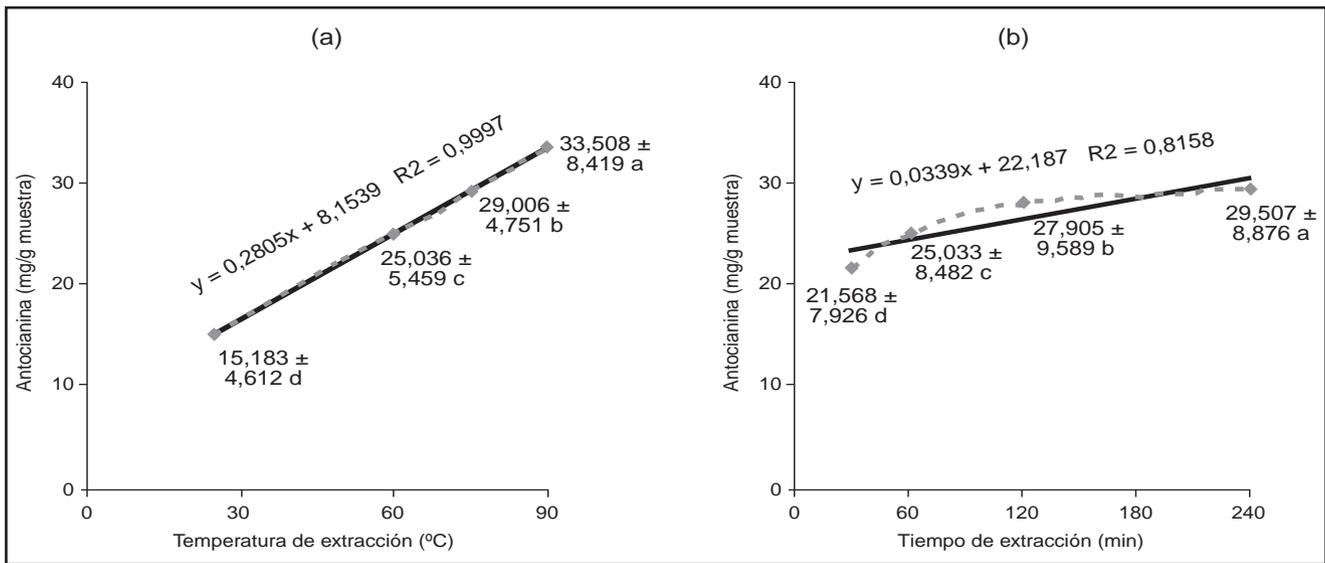


Figura 2. Extracción de antocianinas según el factor temperatura y factor tiempo.

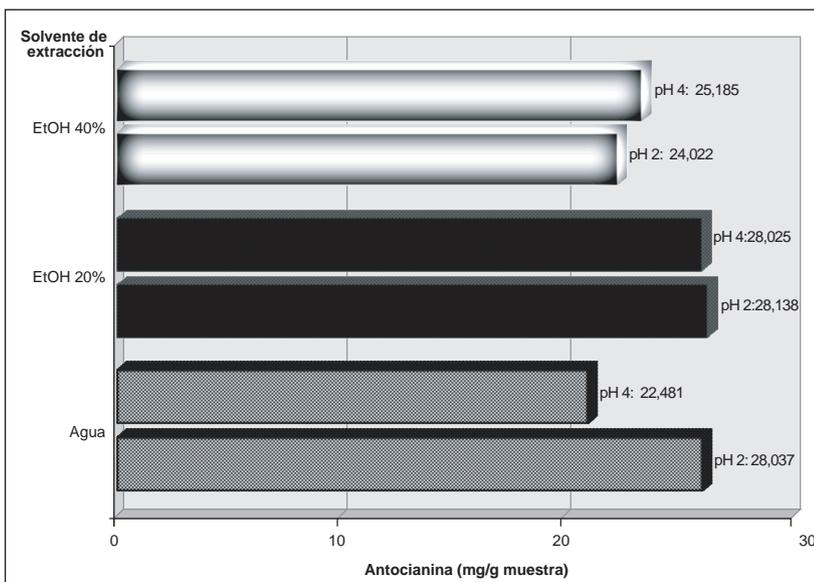


Figura 3. Extracción de antocianinas según factores solvente y pH.

la extracción de antocianinas, Figura 2(a). El análisis del factor “*tiempo de extracción*” indica que las mejores condiciones de extracción ocurren a los 240 minutos, la prueba de Duncan para $p < 0,05$ ordena el factor “*tiempo*” de la siguiente manera: 240 min > 120 min > 60 min > 30 min, el valor de $R^2 = 0,8158$ muestra una relación significativa entre el factor “*tiempo de extracción*” y extracción de antocianinas, Figura 2(b). Las condiciones de extracción en medio acuoso y mezclas hidroalcohólicas en medio ácido se consideran en la patente No. US 7,192,456 B2 (Method of preparing a

purified purple corn colour agent) que recomienda mezclas hidroalcohólicas y pHs ácidos, utilizados en la presente investigación ⁽¹⁵⁾.

Análisis de dos factores

La Tabla 3 muestra que la interacción de los 2 factores *solv. x pH*, presenta diferencias altamente significativas, $p < 0,0001$. De acuerdo a la Figura 3, las mejores condiciones de extracción ocurren en EtOH al 20% y agua ambos a pH 2, y en EtOH al 20% a pH 4, resultados que se encuentran dentro de lo observado cuando se analizó el factor “solvente” que reportó a EtOH al 20% como la mejor solución de extracción (Figura 1).

El análisis de varianza para la interacción de los factores *pH x tiempo* indica que no existen diferencias significativas para la interacción de los 2 factores; los resultados de la Figura 4 muestran que las mejores condiciones de extracción se encuentran a pH 2 a los 120 y 240 minutos, y a pH 4 los 240 minutos; resultados que concuerdan con el análisis de los factores individuales “tiempo” (Figura 2b) y “pH” (Figura 1b) analizados anteriormente.

Para la interacción entre los factores *pH x temperatura*, según el análisis de varianza indica diferencias altamente significativas, $p < 0,0001$. Las mejores condiciones de extracción considerando los 2

factores son 90 °C a pH 2 y 4, mientras que los valores mas bajos se encuentran a 25 °C a pH 2 y 4 (Figura 5); resultados que se encuentran de acuerdo con lo hallado para el factor “pH” (Figura 1) y el factor “temperatura” (Figura 2).

El análisis de varianza de la interacción de los factores *solvent* x *tiempo*, muestra diferencias significativas, $p < 0,01$. De acuerdo a los resultados de la Figura 6, las mejores condiciones de extracción fueron en EtOH al 20% a los 240 minutos y 120 minutos, sin embargo las condiciones de extracción que produjeron las cantidades mas bajas de antocianinas se dieron a los 30 minutos para EtOH al 20%, al 40% y agua.

Cuando se evaluaron los factores individuales *solvente* y *tiempo* se observaron que en EtOH al 20% (Figura 1a) y en el tiempo de 240 minutos (Figura 2b) se extrajeron las mayores cantidades de antocianinas, confirmando lo observado para la interacción de los 2 factores *solvent* x *tiempo*, Figura 6. La Figura 7, muestra la interacción entre los factores *solvent* x *temperatura*, que revela un comportamiento similar en los tres medios de extracción: agua, EtOH al 20% y al 40%; donde las mejores condiciones de extracción alcanzaron los $37,759 \pm 8,596$ mg de antocianina/g muestra en EtOH al 40% y $35,670 \pm 8,900$ mg de antocianina/g muestra en EtOH al 20%, ambos a 90 °C. El rendimiento más bajo se encontró en EtOH al 40% a los 25 °C, resultados que se encuentran de acuerdo con lo observado para el factor “temperatura” donde la extracción de antocianinas depende de la temperatura (Figura 2a), y el factor “solvente” (Figura 1a).

La tabla 3 para los factores *temperatura* x *tiempo*, muestra diferencias significativas, $p < 0,01$, según el ANOVA. Los resultados promedio en la Figura 8, muestran que a 25 °C la mejor extracción de antocianinas se consigue a los 240 minutos; mientras que entre los 60 y 120 minutos no existen diferencias sustanciales. A las temperaturas de 60 y 75 °C las mejores condiciones de extracción de antocianinas se consiguen a los 240 minutos, mientras que a 90 °C

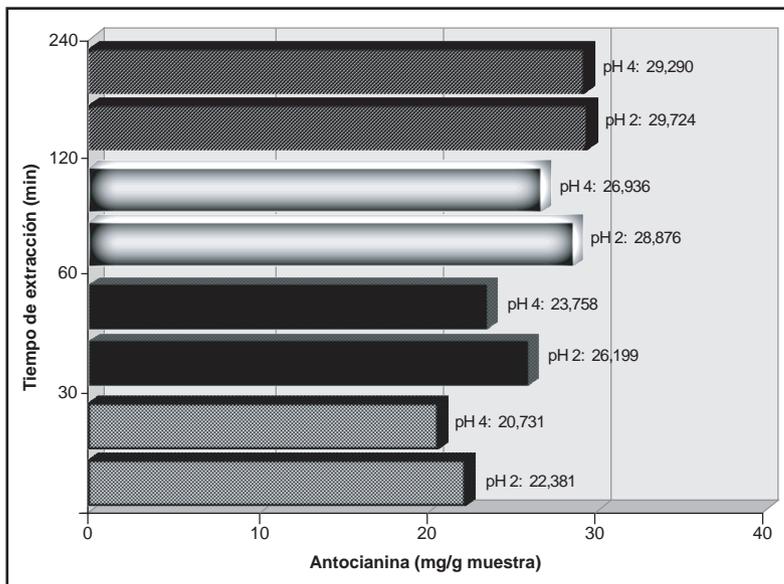


Figura 4. Extracción de antocianinas según factores tiempo y pH.

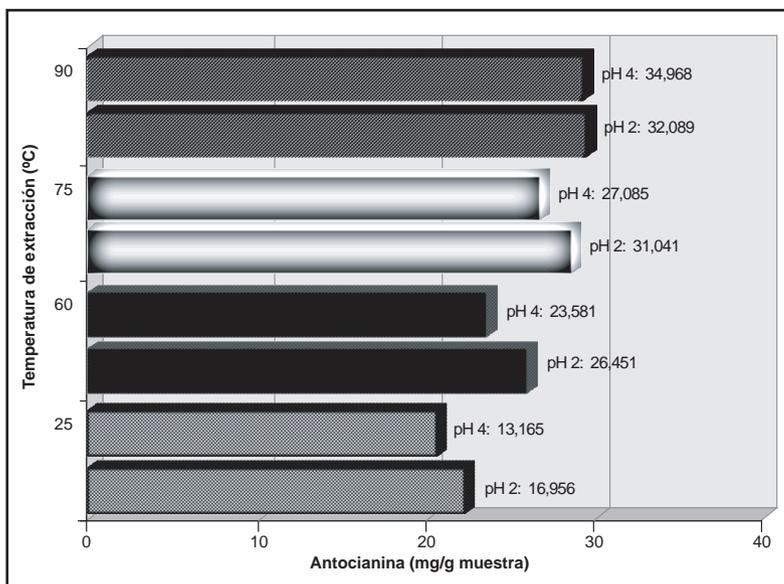


Figura 5. Extracción de antocianinas según factores pH y temperatura.

se encontraron resultados parecidos entre los 120 y 240 minutos, siendo este último el mejor ($36,773 \pm 10,231$). El comportamiento observado entre la interacción de los dos factores *temperatura* x *tiempo* es similar al reportado para el factor “temperatura” y el factor “tiempo” (Figura 2a y 2b).

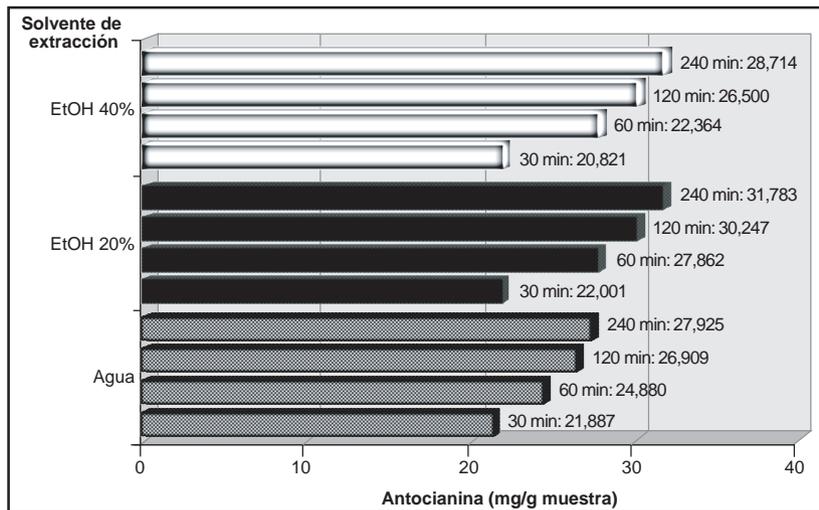


Figura 6. Extracción de antocianinas según factores solvente y tiempo.

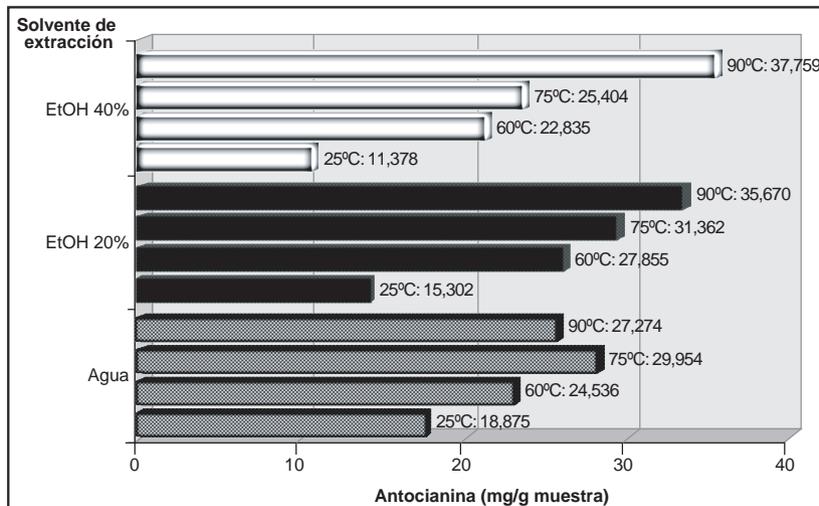


Figura 7. Extracción de antocianinas según factores solvente y temperatura.

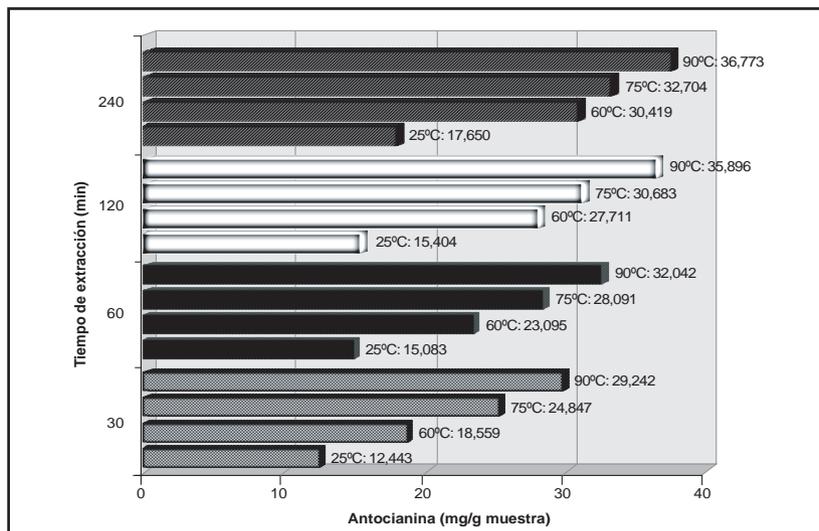


Figura 8. Extracción de antocianinas según factores tiempo y temperatura.

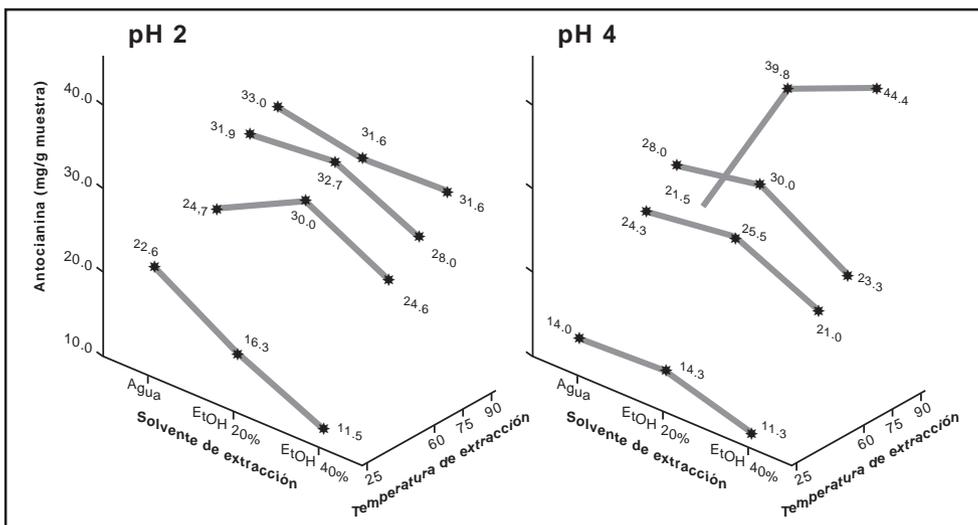


Figura 9. Extracción de antocianinas según los 3 factores solvente, temperatura y pH.

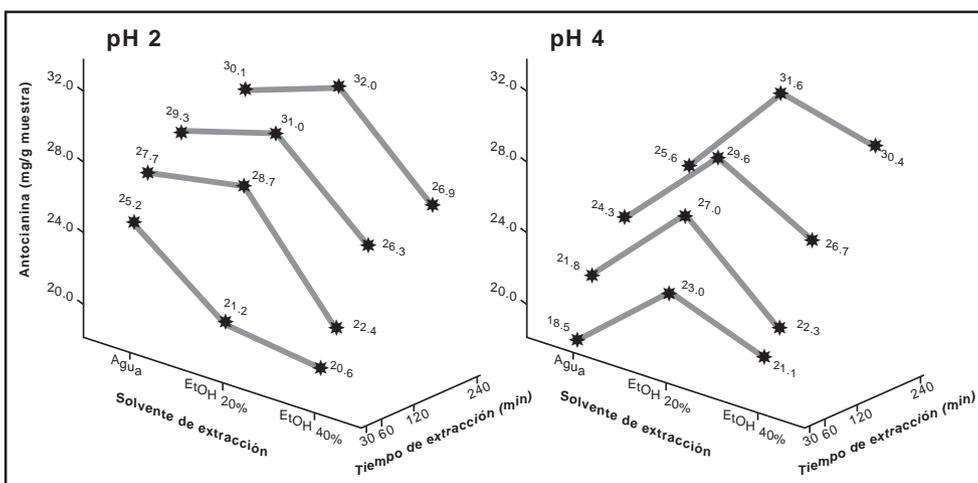


Figura 10. Extracción de antocianinas según los factores solvente, tiempo y pH.

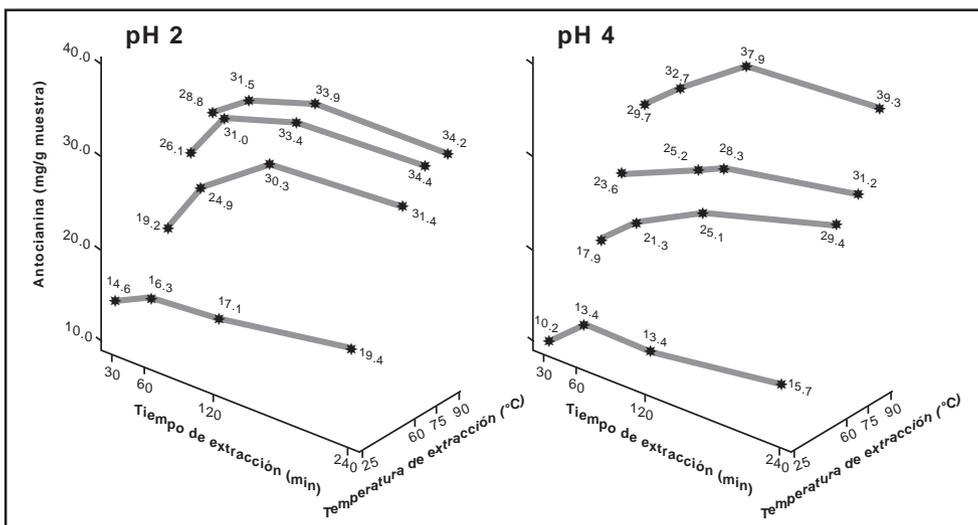


Figura 11. Extracción de antocianinas según los factores temperatura, tiempo y pH.

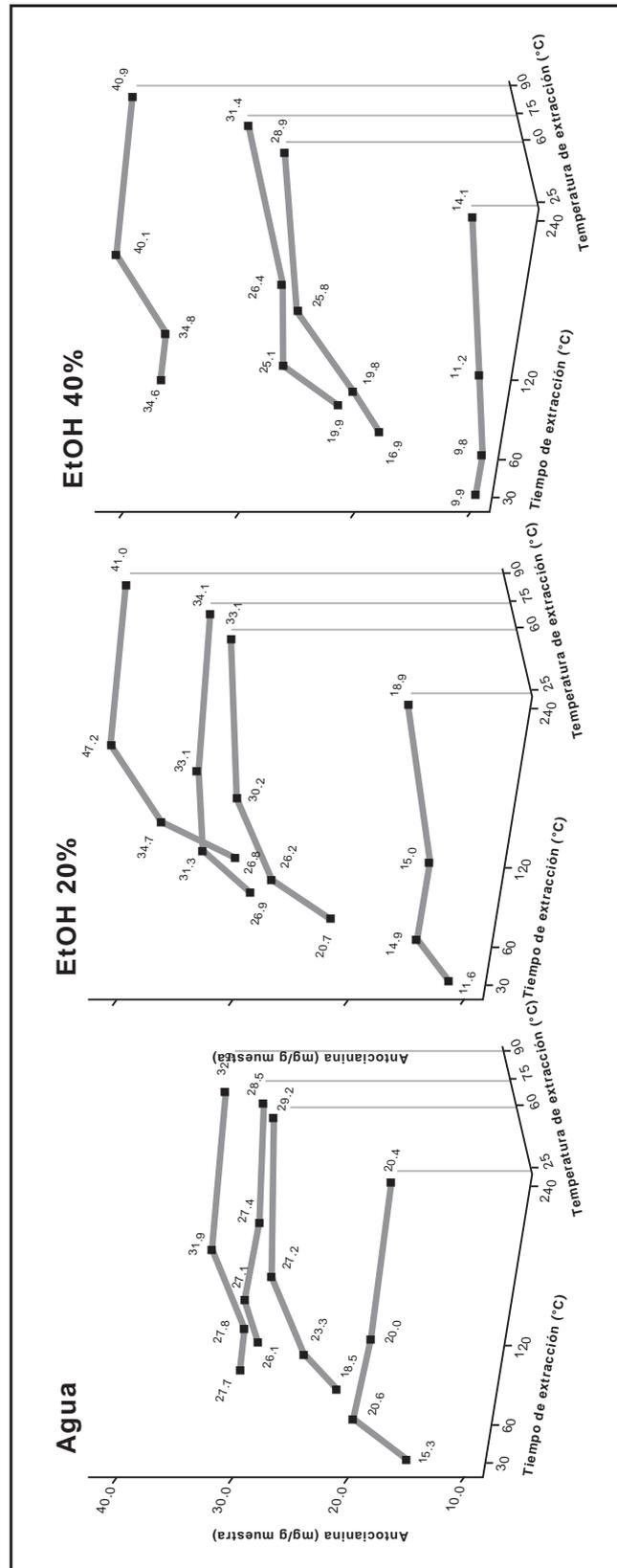


Figura 12. Antocianinas según los factores temperatura, tiempo y solvente.

Análisis de tres factores

Entre las consideraciones del modelo experimental planteado en la investigación, que consta de 4 factores con sus niveles correspondientes, se procedió a evaluar la interacción entre 3 factores, dentro de los que se encuentran: *solvente* × *pH* × *tiempo*, *solvente* × *pH* × *temp*, *pH* × *tiempo* × *temp* y *solvente* × *temp* × *tiempo*.

La figura 9 muestra la interacción de los factores: *solvente* × *temperatura* × *pH*, donde se observa que las mejores condiciones de extracción de antocianinas se alcanzaron a pH 4 y 90 °C en EtOH al 20 y 40%. En el medio de extracción a pH 2 se alcanzaron las mayores extracciones de antocianinas a las temperaturas de 60, 75 y 90 °C en EtOH al 20% y en medio acuoso. Los valores más bajos de antocianinas se encontraron en EtOH al 40% a la temperatura de 25 °C a pH 2 y 4; resultados que concuerdan con lo observado para el factor “temperatura” donde la extracción de antocianinas dependen significativamente de la temperatura (Figura 2a).

El análisis de los factores *solvente* × *pH* × *tiempo* revela que las mejores extracciones de manera general se dan en EtOH al 20% para los tiempos de 30, 60, 120 y 240 minutos a pH 2 y 4, con excepción del promedio observado a pH 2 para los 30 minutos (Figura 10). Cuando se analizó el factor “*solvente*” (Figura 1a) la conclusión fue similar para la mezcla EtOH al 20%, otra coincidencia del presente análisis es con el factor “*temperatura*” (Figura 2a) donde la extracción de antocianinas depende de la temperatura y que en la Figura 10 se muestra para la interacción de los 3 factores. En ambos pH se observó que la extracción de antocianinas decae al utilizar EtOH al 40%.

La interacción de los 3 factores *tiempo* × *temperatura* × *pH*, que se describen en la Figura 11, revela que la extracción de antocianinas se incrementa en general con el aumento de la temperatura y el tiempo de extracción. Al comparar los valores encontrados según el pH se observa que a 25, 60 y 75 °C a un pH 2 se extraen mayores cantidades de antocianinas a los 30, 60, 120 y 240 minutos, mientras que a 90 °C a pH 4 en los tiempos de 30, 60, 120 y 240 minutos se observaron las mayores extracciones, resultados que confirman el análisis de los factores *tiempo* y *temperatura* reportados en la Figura 2a y 2b, y los que se discuten en las Figuras 4-10.

El efecto de los factores *temperatura* × *tiempo* × *solvente* sobre la extracción de antocianinas, Figura 12, muestra que se incrementan a medida que aumenta la temperatura y el tiempo de extracción en medio acuoso, EtOH al 20% y al 40%, al evaluar el medio de

extracción más favorable según la interacción de los 3 factores se observa que a 25 °C el medio acuoso favorece la extracción de antocianinas, a 60, 75 y 90 °C. El EtOH al 20% presenta los valores más altos de extracción de antocianinas a los 30, 60, 120 y 240 minutos de manera general, con excepción de los 30 minutos a 90 °C; estos resultados se encuentran de acuerdo al análisis de un 1 factor para “*tiempo*”, “*temperatura*” y “*solvente*” de las Figuras 1-11.

Análisis de cuatro factores

El análisis de varianza para la interacción de los factores: *solvente* × *pH* × *temperatura* × *tiempo*, de acuerdo a la Tabla 3, indica diferencias significativas, $p < 0,05$.

Al observar los datos se concluye que, las mejores condiciones de extracción de antocianinas (mg/g muestra) considerando los 4 factores se consiguen a 90 °C para EtOH al 20% a pH 4 y en los tiempos de 120 y 240 minutos, y EtOH al 40% a pH 4, a los 30, 60, 120 y 240 minutos; mientras que las condiciones experimentales en las que se extrajeron las menores cantidades fueron EtOH al 40% a pH 4, temperatura de 25 °C y a los 30 y 60 minutos, EtOH al 40% a pH 2, a 25 °C en 30 y 60 minutos, y en medio acuoso a pH 4, 25 °C y 30 minutos (Tabla 1).

Yang *et al.* ⁽¹⁶⁾ en un trabajo relacionado con la extracción óptima de antocianinas de corontas del maíz morado de un cultivar de la China en mezclas etanólicas y metanólicas al 80, 90 y 100% (v/v) acondicionadas convenientemente en medio ácido con los ácidos acético y cítrico al 0,25, 0,5 y 1% (v/v) encontraron valores cercanos a 6 mg/g muestra (5,90 mg de antocianina/g muestra) en un diseño factorial 22x33, siendo estos inferiores a los encontrados en la presente investigación ⁽¹⁶⁾; ese mismo año Yang *et al.* ⁽¹²⁾ en una investigación relacionada con la cinética de degradación térmica de antocianinas del maíz morado en medio acuoso reportó el valor de 0,680 mg de antocianina/g muestra, siendo inferior a los encontrados en medio acuoso en la presente investigación ⁽¹²⁾. Escribano-Bailón *et al.* ⁽¹⁾ en una revisión de antocianinas en cereales menciona contenidos de 1642 mg/100 g en base húmeda para el maíz morado y 1779 mg/100 g en base seca ⁽¹⁾, cercanos a los encontrados en la investigación. Una investigación reciente de Pedreschi y Cisneros-Zevallos ⁽¹⁷⁾ sobre antocianinas en un extracto comercial de antocianinas del maíz morado proveniente de Perú determinaron contenidos de antocianina/g de la fracción acuosa (FA) según HPLC-DAD en los niveles de 15,43 mg de cianidina 3-glucósido/g de FA; 2,33 mg de

pelargonidina 3-glucósido/g de FA; 4,44 mg de peonidina 3-glucósido/g de FA; 10,37 mg de cianidina acilada 3-glucósido/g de FA; 2,83 mg de pelargonidina acilada 3-glucósido/g de FA y 4,85 mg de peonidina acilada 3-glucósido/g de FA, que hacen un total de 40,25 mg de antocianinas/g de FA, valores en algunos casos superiores a los encontrados en la investigación, pero similares a los encontrados en EtOH al 40% y que se justifican por la naturaleza de la muestra investigada y además porque la determinación de antocianinas por el método de pH diferencial cuantifica otros flavonoides del tipo antocianina, que por el HPLC son excluidos⁽¹⁷⁾.

CONCLUSIÓN

El análisis individual de los factores y sus interacciones corroboran que la extracción de antocianinas de las corontas del maíz morado depende de la temperatura y el tiempo de extracción, siendo favorecidas por el medio etanólico al 20% y pH entre 2 y 4, alcanzando valores de 46,534 mg de antocianina/g muestra.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresamos nuestro agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología del Perú – CONCYTEC, por el financiamiento a la presente investigación del Proyecto No. 317-2007-CONCYTEC.

BIBLIOGRAFÍA

1. Escribano-Bailón MaT, Santos Buelga C, Rivas-Gonzalo JC. Anthocyanins in cereals. *Journal of Chromatography A* 2004; 1054: 129-141.
2. Pascual-Teresa S, Santos-Buelga, C, Rivas-Gonzalo JC. LC-MS Analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2002; 82: 1003-1006.
3. Schwarz M, Hillebrand S, Habben S, Degenhardt A, Winterhalter P. Application of high-speed countercurrent chromatography to the large-scale isolation of anthocyanins. *Biochemical Engineering Journal* 2003; 14: 179-189.
4. Mazza G & Miniati E. Introduction. In *Anthocyanin in fruit, vegetables and grains* (pp 1-28)1993, Boca Raton, FL: CRC Press (Chapter 1).
5. Giusti MM, Wrosltd RE. Characterization and measurements of anthocyanins by UV-VIS spectroscopy. In *Current protocols in Food Analytical Chemistry* (pp 13) 2001, New York: John Wiley & Sons, Inc. (Unit F1.2.1-F1.2.13).
6. Cabrita L, Fossen T, Andersen ØM. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. *Food Chemistry* 2000; 68: 101-107.
7. Salas E, Guernevé C, Fulcrand H, Poncet-Legrand C, Cheynier V. Structure determination and colour properties of a new directly linked flavonol-anthocyanin dimer. *Tetrahedron Letters* 2004; 45: 8725-8729.
8. Bolivar A, Cevallos-Casals, Cisneros-Zevallos L. Stability of anthocyanins-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry* 2004; 86: 69-77.
9. Giusti MM, Wrosltd RE. Acylated anthocyanin from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal* 2003; 14: 217-225.
10. Korhonen H. Technology options for new nutritional concepts. *International Journal of Dairy Technology* 2002; 55: 79-88.
11. Duhard V, Garnier C, Megard D. Comparison of the stability of selected anthocyanin colorants in drink model systems. *Agro Food Industry Hi Tech* 1997; 8: 28-34.
12. Yang Z, Han Y, Gu Z, Fan G, Chen Z. Thermal degradation kinetics of aqueous anthocyanins and visual color of purple corn (*Zea mays L.*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2007a; INNFO-00478, No of pages 7. Article in press.
13. Salinas FJ, Daza PL. Manual de SAS para PC'S. Departamento de Estadística e Informática, Facultad de Economía y Planificación, UNALM. Lima, 1996 (pp 114).
14. Chipana QO. Guía SAS aplicado a diseños experimentales. Centro de Cómputo, Escuela de Post – Grado, UNALM. 40. Lima, 1997 (pp 40).
15. Ichi TT, Sakata TM, Auki TH, Koda TT. Method of preparing a purified purple corn colouring agent. *United States Patent* 2007; Patent No. US 7,192,456 B2
16. Yang Z, Fan G, Gu Z, Han Y, Chen Z. Optimization extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays L.*) cob using tristimulus colorimetry. *Eur Food Res Technol* 2007b; DOI 10.1007/S 00217-007-0735-4: Springer-Verlag.
17. Romina Pedreschi, Luis Cisneros-Zevallos. Phenolics profiles of Andean purple corn (*Zea mays L.*). *Food Chemistry* 2007; 100: 956-963.

Manuscrito recibido el: 30/11/2009

Aceptado para su publicación el: 23/02/2010

Correspondencia:

Nombre: Arilmí Gorriti Gutiérrez

Dirección: Block N° 47, dpto 417, Residencial San Felipe - Lima 11.

e-mail: arilmigorritig@gmail.com