

# **ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL**

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y  
AGROINDUSTRIA**

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL COLORANTE  
NATURAL DEL MAÍZ NEGRO (*Zea mays L.*) Y DETERMINACIÓN  
DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA  
AGROINDUSTRIAL**

**JENNY FERNANDA ALMEIDA GUDIÑO  
fer\_almeida0403@hotmail.com**

**DIRECTOR: ING. ELENA VILLACRÉS POVEDA M.Sc.  
elenavillacres9@hotmail.com**

**CODIRECTOR: ING. JENNY RUALES Ph.D**

**Quito, Junio 2012**

© Escuela Politécnica Nacional 2012

Reservados todos los derechos de reproducción

## **DECLARACIÓN**

Yo, Jenny Fernanda Almeida Gudiño, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

---

Jenny Fernanda Almeida Gudiño

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Jenny Fernanda Almeida Gudiño, bajo mi supervisión.

---

Ing. Elena Villacrés M.Sc

**DIRECTORA DEL PROYECTO**

---

Ing. Jenny Ruales. Ph.D

**CODIRECTORA DEL PROYECTO**

## **AUSPICIO**

La presente investigación contó con el auspicio del proyecto (2100527033), “Valorización de cultivos y materias primas para respaldar las certificaciones de origen, a través de sistemas integrados de calidad, sanidad e inocuidad, a lo largo de la cadena agro productiva”, que se ejecutó en el Departamento de Nutrición y Calidad del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias – Estación Experimental Santa Catalina.

## DEDICATORIA

*A mis padres Fernando y Jenny a quienes debó todo lo que soy y podré llegar a ser, que con amor incondicional, esfuerzo, dedicación y sacrificio me han enseñado grandes valores como el respeto, disciplina, honestidad, perseverancia y me han dejado el mejor regalo que un padre le puede dar a un hijo “La educación”.*

*A Dios dedicó y ofrezco este logro alcanzado, siendo el cimiento espiritual más valioso, que me guía por el camino correcto, para sentirme y hacer sentir orgullo a las personas que confiaron y me apoyaron siempre.*

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por darme la vida y la fuerza para cumplir con todo lo propuesto

A mis padres por sus consejos y apoyo incondicional en los momentos más difíciles.

A mis hermanas por estar junto a mí todos los momentos importantes de mi vida.

A la Escuela Politécnica Nacional y los maestros de la Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria que con sus conocimientos me permitieron crecer como persona y profesional, durante mi vida estudiantil.

Al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, y por su intermedio al Departamento de Nutrición y Calidad que me brindó la oportunidad para desarrollar mi Proyecto de Titulación.

A la Ing. Ms. MSc. Elena Villacrés Poveda por darme la apertura para realizar el trabajo de investigación, y por el apoyo brindado durante el tiempo que dura el mismo.

A Luis Miguel Acosta por estar a mi lado, ayudándome y dándome ánimo siempre.

A mis compañeros y amigos, Josethe, Dany, Franz, Eduardito, Stalin, Burro, Víctor, Andrés por brindarme su amistad y un sinfín de momentos inolvidables y por su ayuda oportuna y desinteresada siempre que lo necesite.



## ÍNDICE DE CONTENIDO

	PÁGINA
<b>RESUMEN</b>	viii
<b>INTRODUCCIÓN</b>	ix
<b>GLOSARIO</b>	x
<b>ABREVIATURAS</b>	xii
<b>1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Cultivo del maíz negro (<i>Zea mays</i>. L.)</b>	<b>1</b>
1.1.1 Origen y distribución del maiz	1
1.1.2 Color del maiz morado	1
1.1.3 Clasificación taxonómica	2
1.1.4 Descripción botánica	2
1.1.5 Composición química	5
1.1.6 Usos y alternativas de procesamiento	5
<b>1.2 Los colorantes</b>	<b>6</b>
1.2.1 Clasificación de los colorantes	7
1.2.2 Problemas en la utilización de colorantes sintéticos	9
1.2.3 Colorante del maíz negro	10
1.2.4 Medida del color	11
<b>1.3 Antocianinas</b>	<b>14</b>
1.3.1 Estructura de las antocianinas	14
1.3.2 Antocianinas del maíz morado	16
1.3.3 Factores que afectan la estructura de las antocianinas	17
1.3.4 Compuestos fenolicos	16
1.3.5 Flavonoides	19
<b>1.4 Extracción de colorantes</b>	<b>20</b>
1.4.1 Factores que determinan la extracción.	20
<b>1.5 Secado</b>	<b>22</b>
1.5.1 Liofilización	22
1.5.2 Envasado	23
1.5.3 Envasado en atmósfera modificada	24
1.5.4 Envasado al vacío	24
<b>1.6 Actividad antioxidante</b>	<b>25</b>
1.6.1 Los antioxidantes	25
1.6.2 Beneficios de los antioxidantes	26
<b>2 MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>28</b>
<b>2.1 Materia prima</b>	<b>28</b>
<b>2.2 Materiales y equipos</b>	<b>28</b>
2.2.1 Materiales	28
2.2.2 Equipos	28
<b>2.3 Extracción del colorante</b>	<b>29</b>
2.3.1 Evaluacion del rendimiento de la extraccion del colorante de maiz negro	31
2.3.2 Evaluación del contenido de antocianinas en el colorante del maiz negro	31

2.3.3	Determinación del índice de degradación del colorante en los extractos de los granos y las corontas	31
2.3.4	Determinación de las coordenadas del color	32
<b>2.4</b>	<b>Caracterización del colorante</b>	<b>33</b>
2.4.1	Evaluación del contenido de antocianinas en el colorante del maíz negro	33
2.4.2	Determinación del contenido de nitratos en el colorante del maíz negro	33
2.4.3	determinación del contenido de oxalatos en el colorante del maíz negro	34
2.4.4	Determinación del contenido de compuestos fenólicos en los extractos colorantes del maíz negro	34
<b>2.5</b>	<b>Estabilidad del colorante</b>	<b>35</b>
2.5.1	Evaluación la estabilidad del colorante en el proceso de extracción	35
2.5.2	Evaluación de la estabilidad del colorante en el almacenamiento	36
<b>2.6</b>	<b>Actividad antioxidante</b>	<b>37</b>
<b>2.7</b>	<b>Estimación del costo de producción del extracto colorante a nivel de planta piloto</b>	<b>38</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>39</b>
<b>3.1</b>	<b>Determinación las condiciones óptimas para la extracción del colorante a partir de las corontas y granos del maíz negro</b>	<b>39</b>
<b>3.2</b>	<b>Caracterización físico-química del extracto colorante sólido</b>	<b>49</b>
<b>3.3</b>	<b>Estabilidad del extracto colorante, a diferentes condiciones de proceso proceso y almacenamiento</b>	<b>52</b>
3.3.1	Evaluación de la estabilidad en el proceso de extracción	52
3.3.2	Evaluación de la estabilidad del extracto colorante	57
<b>3.4.</b>	<b>Determinación de la actividad antioxidante del</b>	<b>70</b>
<b>3.5</b>	<b>Estimación del costo de extracción</b>	<b>71</b>
3.5.1	Inversión	71
3.5.2	Costo unitario del producto	72
3.5.3	Ventas netas	73
3.5.4	Estado de pérdidas y ganancias	73
3.5.5	Punto de equilibrio	74
<b>4</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>77</b>
<b>4.1</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>77</b>
<b>4.2</b>	<b>Recomendaciones</b>	<b>78</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>79</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>88</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica del maíz	2
<b>Tabla 2.</b> Composición de los granos y las corontas de maíz negro en base seca (%)	5
<b>Tabla 3.</b> Principales radicales de las antocianinas	15
<b>Tabla 4.</b> Niveles de los factores y codificaciones en el proceso para la extracción del colorante	29
<b>Tabla 5.</b> Tratamientos para la determinación de las condiciones apropiadas de proceso para la extracción del colorante	30
<b>Tabla 6.</b> Tratamientos para la determinación de la estabilidad del extracto colorante en el proceso de extracción	36
<b>Tabla 7.</b> Tratamientos para la determinación de la estabilidad del extracto colorante líquido, durante el almacenamiento	36
<b>Tabla 8.</b> Tratamientos para la evaluación de la estabilidad del extracto colorante sólido, durante el almacenamiento	37
<b>Tabla 9.</b> Análisis de varianza para el rendimiento de extracción del colorante, a partir de los granos del maíz negro	40
<b>Tabla 10.</b> Análisis de varianza para el rendimiento de extracción del colorante, a partir de las corontas del maíz negro	41
<b>Tabla 11.</b> Prueba de tukey al 5% para el rendimiento de obtención del extracto colorante, a partir de los granos y las corontas de maíz negro	43
<b>Tabla 12.</b> Prueba de Tukey al 5% para el contenido de antocianinas de los extractos de los granos y las corontas del maíz negro	44
<b>Tabla 13.</b> Prueba de Tukey al 5% para el índice de degradación del color, del extracto del grano y las corontas del maíz negro	46
<b>Tabla 14.</b> Tratamientos seleccionados para la determinación de las coordenadas colorimétricas	47
<b>Tabla 15.</b> Parámetros de color de los extractos de granos y corontas, preparados con los tratamientos seleccionados	49
<b>Tabla 16.</b> Composición química del extracto sólido proveniente de los granos y de las corontas analizadas en base seca	50
<b>Tabla 17.</b> Caracterización física del colorante de los granos y de las corontas	52
<b>Tabla 18.</b> Análisis de varianza para el índice de degradación del color en el extracto del grano de maíz negro	55
<b>Tabla 19.</b> Prueba de Tukey al 5% para el índice de degradación del color del extracto del grano en la interacción pH vstemperatura	55

<b>Tabla 20.</b> Análisis de varianza para el índice de degradación del color en el extracto de las corontas del maíz negro	56
<b>Tabla 21.</b> Prueba de Tukey para el índice de degradación del color del extracto de las corontas en la interacción pH vs temperatura	57
<b>Tabla 22.</b> Variación del color de los extractos de los granos y las corontas en base a la interacción pH vs temperatura	57
<b>Tabla 23.</b> Análisis de varianza para el índice de degradación del extracto líquido del grano a diferentes condiciones de almacenamiento	62
<b>Tabla 24.</b> Prueba de Tukey al 5% para el índice de degradación del extracto líquido del grano a diferentes condiciones de almacenamiento	63
<b>Tabla 25.</b> Análisis de varianza para el índice de degradación del extracto líquido de las corontas a diferentes condiciones de almacenamiento	63
<b>Tabla 26.</b> Prueba de Tukey al 5% para el índice de degradación del extracto líquido de las corontas a diferentes condiciones de almacenamiento	64
<b>Tabla 27.</b> Análisis de varianza para el índice de degradación del color en el extracto sólido del grano, a diferentes condiciones y tiempos de almacenamiento	66
<b>Tabla 28.</b> Prueba de Tukey al 5% para el índice de degradación del color en el extracto sólido del grano, a diferentes condiciones de almacenamiento	66
<b>Tabla 29.</b> Análisis de varianza para el índice de tonalidad del color en el extracto sólido de las corontas, a diferentes condiciones y tiempo de almacenamiento	68
<b>Tabla 30.</b> Prueba de Tukey para el índice de degradación del extracto colorante sólido de las corontas, a diferentes condiciones de almacenamiento	69
<b>Tabla 31.</b> Variación de color de los extractos sólidos y líquidos de los granos, a diferentes condiciones de almacenamiento	70
<b>Tabla 32.</b> Variación de color de los extractos sólidos y líquidos de las corontas, a diferentes condiciones de almacenamiento	70
<b>Tabla 33.</b> Detalle de la inversión inicial calculada en la planta piloto	72
<b>Tabla 34.</b> Costos unitarios de la planta piloto	72
<b>Tabla 35.</b> Ventas netas anuales de la planta piloto	73
<b>Tabla 36.</b> Estado de pérdidas y ganancias de la planta piloto	74
<b>Tabla 37.</b> Punto de equilibrio de la planta piloto	75

## ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
<b>Figura 1.</b> Morfología de la planta de maíz (Anderung, 2003)	3
<b>Figura 2.</b> Clasificación de los colorantes (Quintero, 2002)	7
<b>Figura 3.</b> Apariencia del maíz negro (El maíz peruano, 2011)	11
<b>Figura 4.</b> Diagrama cromático ( Proyectacolor, 2011)	12
<b>Figura 5.</b> Estructura química del catión flavilio (Durst y Wrolstad, 2001)	15
<b>Figura 6.</b> Efecto del pH en la estructura de las antocianinas (Wrolstad, 2004)	17
<b>Figura 7.</b> Diagrama de las coordenadas colorimétricas, según el sistema Cielab	32
<b>Figura 8.</b> Efecto del tipo de solvente, tiempo de contacto y temperatura en el rendimiento del extracto colorante de los granos y corontas del maíz negro	42
<b>Figura 9.</b> Contenido de antocianinas de los extractos del maíz negro, por efecto de varios tratamientos	44
<b>Figura 10.</b> Índice de degradación del color de los extractos del maíz negro, por efecto del tipo del solvente, el tiempo y la temperatura de extracción	45
<b>Figura 11.</b> Coordenadas del color según el sistema Cielab (El abc de los sistemas, 2010)	49
<b>Figura 12.</b> Efecto del pH en el índice de degradación del color, de los extractos obtenidos a partir de los granos y corontas del maíz negro	53
<b>Figura 13.</b> Efecto de la temperatura en el índice de degradación del color, de los extractos obtenidos a partir del grano y las corontas del maíz negro	54
<b>Figura 14.</b> Rastreo de la longitud de onda máxima de absorción del extracto colorante del maíz negro	58
<b>Figura 15.</b> Índice de tonalidad del extracto líquido de los granos sometido a diferentes condiciones de almacenamiento	59
<b>Figura 16.</b> Índice de degradación del extracto líquido de los granos sometidos a diferentes condiciones de almacenamiento	60
<b>Figura 17.</b> Índice de tonalidad del extracto líquido de las corontas sometido a diferentes condiciones de almacenamiento	61
<b>Figura 18.</b> Índice de degradación del extracto líquido de las corontas sometido a diferentes condiciones de almacenamiento	62
<b>Figura 19.</b> Variación del índice de tonalidad del color, en el extracto sólido del grano, con el tiempo de almacenamiento	65
<b>Figura 20.</b> Variación del índice de degradación del color en el extracto sólido del grano, con el tiempo de almacenamiento	65

<b>Figura 21.</b> Variación del índice de tonalidad del color en el extracto sólido de las corontas, a diferentes condiciones de tiempo y almacenamiento	67
<b>Figura 22.</b> Variación del índice de degradación del color en el extracto sólido de las corontas, a diferentes condiciones de tiempo y almacenamiento	68
<b>Figura 23.</b> Punto de equilibrio	76

**ÍNDICE DE ANEXOS**

	<b>PÁGINAS</b>
<b>Anexo 1.</b> Descripción de métodos	888
<b>Anexo 2.</b> Resultados	100
<b>Anexo 3.</b> Análisis estadístico	104

## RESUMEN

En la presente investigación, se estudió la extracción del colorante del maíz negro tanto de los granos como de las corontas, se evaluó la estabilidad del mismo, a diferentes valores de pH, temperaturas de extracción y condiciones de almacenamiento.

El mayor rendimiento en la extracción del extracto colorante (3,2 %), se obtuvo a partir de las corontas, en un medio acuoso, manteniendo una relación corontas: agua igual a 1:6, con un tiempo de contacto de 120 minutos y a 50 °C.

El extracto colorante de las corontas en estado sólido presentó un menor tiempo de humectabilidad (129 s), mayor índice de solubilidad (0,290) y mayor dispersabilidad en agua (96,72 %), que el extracto colorante proveniente del grano. Igualmente el contenido de antocianinas (22,68 mg/g muestra, expresado como cianidina 3- $\beta$  glucósido) y compuestos fenólicos (277,34 mg GAE/100 g de muestra seca), registrados en el extracto de las corontas, superó al encontrado en el extracto del grano con 13,92 mg/g muestra para las antocianinas y 193,85 mg GAE/100 g de muestra seca, para los compuestos fenólicos.

A través del índice de degradación del color, se determinó que el extracto colorante presenta mayor estabilidad en un rango de pH entre 2 a 6 y a temperaturas entre 10 °C y 50 °C.

Durante el almacenamiento, se determinó para el extracto colorante en estado sólido y sellado al vacío una durabilidad promedio de 60 días. La actividad antioxidante se determinó en base a mediciones del poder reductor, expresado como concentración inhibitoria media (IC<sub>50</sub>), registrándose un valor de 0,387 mg/mL, para el extracto de los granos y 0,361 mg/mL para el extracto de las corontas, teniendo presente que un menor valor IC<sub>50</sub>, significa una mayor actividad antioxidante.

## INTRODUCCIÓN

Este trabajo está enfocado al aprovechamiento integral del fruto de la planta de maíz morado ya que se extrae el colorante de los granos y de las corontas, estas últimas son consideradas un desecho. La importancia del colorante del maíz morado (granos y corontas) se debe a que contiene antocianinas, las mismas que son consideradas un importante antioxidante y puede ser utilizado como un aditivo natural para alimentos.

El maíz es un producto básico a nivel mundial, tanto para la alimentación como para la agroindustria. Es considerado uno de los productos agrícolas más importantes en la economía mundial por su incidencia social debido a que el 75 % de la producción total viene de unidades familiares campesinas y para muchas de ellas es la base de su economía. Además, es la principal materia prima para la elaboración de concentrados para la alimentación animal en especial en el sector avícola (Yúfera, 1995).

En el Ecuador el maíz es uno de los cultivos más importantes ocupando un área de alrededor de 500 000 ha. Su cultivo se ha distribuido en casi todo el territorio, desde cerca al nivel del mar hasta las tierras altas de la serranía (3 200 msnm), en suelos fértiles, así como en terrenos pobres, pedregosos, planos o de pendiente, en colinas y en cerros. De estos el maíz amiláceo es un componente importante en la dieta de la población ecuatoriana, especialmente de la rural, por su aporte proteico y energético (Yáñez *et al.*, 2005).

Y al ser el Ecuador uno de los países con mayor diversidad genética de maíz por unidad de superficie, el preservarla representará el recurso natural renovable más importante para la supervivencia, sostenibilidad rural y seguridad alimentaria de las futuras generaciones (Yáñez *et al.*, 2003).

Entre los principales tipos de maíz que todavía se cultivan en la sierra del Ecuador se incluyen: cuzco y cangil ecuatoriano, racimo de uva, chillos huandango, morochón, patillo y kcello, y las variedades que han sido generadas tales como:

chaucho, mishca, blanco blandito, guagal, shima y chulpi (Yáñez *et al.*, 2003).

De los maíces anteriormente mencionadas el maíz nativo “racimo de uva” *Zea mays*. L. es de especial interés debido a la existencia de un pigmento natural denominado cianidina-3- $\beta$  glucosido, el cual pertenece a las denominadas antocianinas, pigmentos que dan color a las flores, frutas y vegetales (Callejo, 2002).

## GLOSARIO

- Aditivo** = Sustancia que se añade a un producto para conservarlo o mejorarlo.
- Adventicios** = Órgano animal o vegetal que se desarrolla en un lugar distinto del habitual y cuya presencia no es común: raíces adventicias.
- Brácteas** = Órgano foliáceo en la proximidad de las flores y diferente a las hojas normales.
- Extracto** = Sustancia muy concentrada que se obtiene de otra por distintos procedimientos.
- Lanceoladas** = Hoja de una planta que tiene forma de punta de lanza
- Raquis** = Nervio o eje principal de una hoja.
- Solvente** = Sustancia que contiene al soluto, el cual suele hallarse en menor proporción y el solvente o disolvente en mayor cantidad.
- Antioxidantes** = Moléculas capaces de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos. La oxidación de tales sustratos puede ser iniciada por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres y aquellas especies que sin ser radicales libres son suficientemente reactivas para inducir la oxidación de los sustratos mencionados.
- Sublimación** = La sublimación es el proceso que consiste en el cambio de estado de la materia sólida al estado gaseoso sin pasar por el estado líquido.

## ABREVIATURAS

AOAC	= Association of Official Analytical Chemistry
Aw	= Actividad de agua
IAA	= Índice de absorción de agua
cm	= Centímetros
min.	= Minutos
g	= Gramos
GAE	= Equivalentes de ácido gálico - Gallic acid equivalents
ha	= Hectáreas
INIAP	= Instituto Autónomo de Investigaciones Agropecuarias
ISA	= Índice de solubilidad en agua
kg	= kilogramos
mg	= miligramos
mL	= mililitros
msnm	= metros sobre el nivel del mar
nm	= nanómetros
pH	= Potencial de Hidrogeno
ppm	= Partes por millón
rpm	= Revoluciones por minuto
s	= Segundos
μ	= micra
° C	= Grados centígrados o Celsius

# **1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## **1.1 CULTIVO DEL MAÍZ NEGRO (*Zea mays* L.)**

### **1.1.1 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DEL MAIZ**

El origen de la planta de maíz continúa siendo un misterio, por más que los estudiosos se estén esforzando por aclararlo desde diferentes puntos de vista. Únicamente se puede asegurar que fue el alimento básico de las culturas americanas muchos siglos antes que los europeos llegaran al Nuevo Mundo (FAO, 2000).

El Perú, es el mayor consumidor de los productos obtenidos del maíz negro como por ejemplo la mazamorra morada, la principal materia prima para la elaboración de la misma son los pigmentos morado extraídos. Sus conocimientos vienen desde la época de la colonia, aquí los agricultores de los valles andinos clasificaron este maíz a partir de la raza kulli, este maíz corresponde al género *Zea*, especie *mayz* L., grupo amilaceae st (Manrique, 2002)

La distribución de algunos de los tipos de maíces mas cultivados en las provincias de la sierra del Ecuador; se debe a los agricultores. De esta manera, en el norte (Carchi, Imbabura y Pichincha) se consume maíces de tipo amarillo harinoso, en la parte central (Chimborazo y especialmente Bolívar) se cultivan los maíces denominados Zhina (blanco amorochado) (Yáñez *et al.*, 2003).

### **1.1.2 COLOR DEL MAIZ MORADO**

La coloración morada que presentan las plantas, corontas y pericarpio de los granos de maíz nativo, son el resultado del complejo trabajo realizado por muchos genes ubicados en diferentes cromosomas, lo que da como resultado la formación de pigmentos antocianicos de diferente color, los mismos que al combinarse

forman el color morado (combinación de pigmentos rojos y azules) (Manrique, 2000).

### 1.1.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

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

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica del maíz

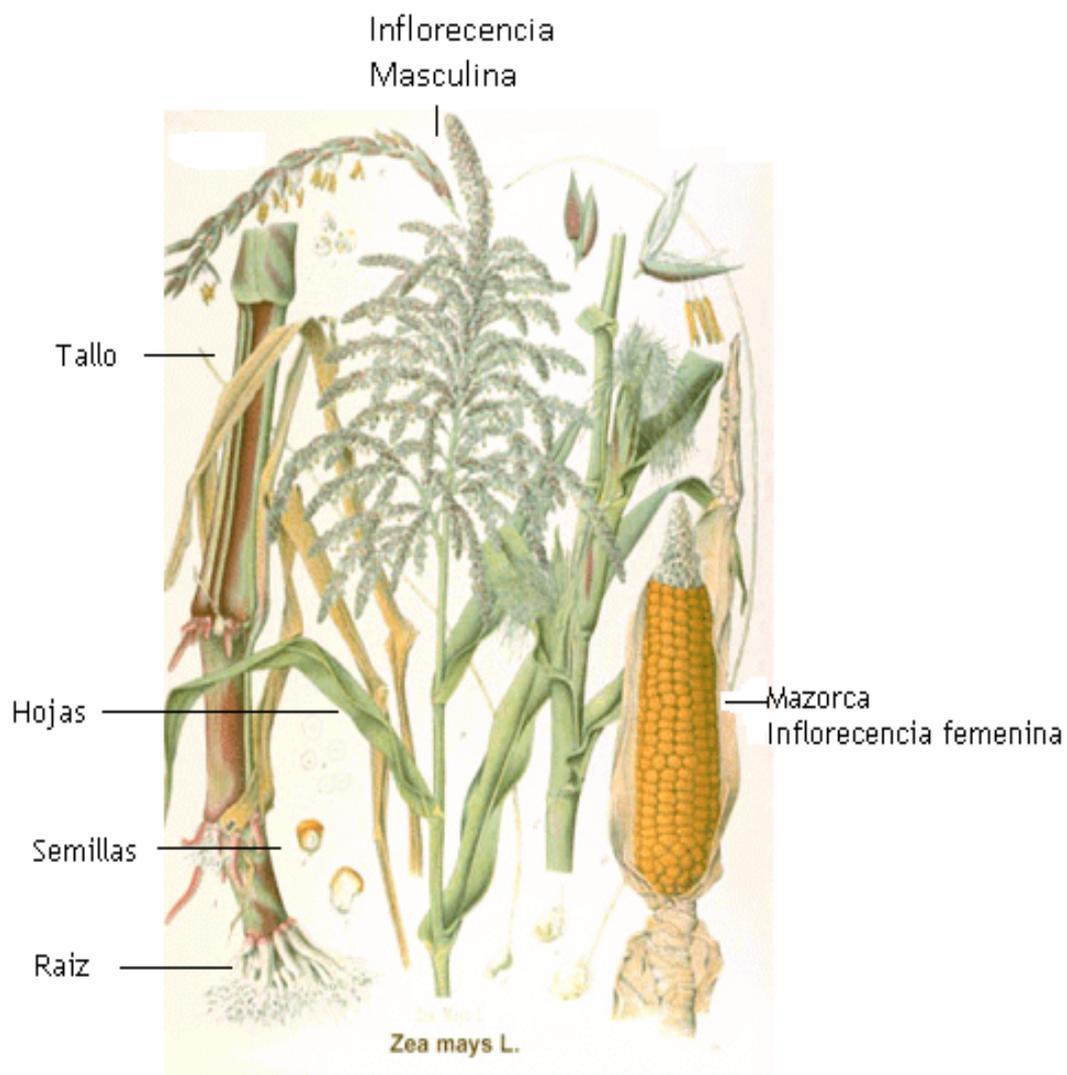
Reino:	Vegetal
División:	Angiosperma
Clase:	Monocotyledoneae
Orden:	Cereales
Familia:	Poaceae
Género:	<i>Zea</i>
Especie:	<i>Mays</i>
Nombre científico:	<i>Zea mays</i> L.

Fuente: Terranova, 1995

### 1.1.4 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Los especímenes típicos del maíz negro se encuentran desde los 1 200 a 2 580 msnm, tienen granos redondos con pericarpio rojo, morado, estrechamente agrupados para dar la apariencia de una racimo de uvas. Las mazorcas son de tamaño medio, de formas cónicas a ovals con ocho a catorce hileras en espiral. Color rojizo a púrpura en toda la tusa, incluidas las lemas, las glumas y la médula (Yáñez, 2003).

En la Figura 1 se puede observar la morfología de la planta de maíz.



**Figura 1.** Morfología de la planta de maíz (Anderung, 2003)

#### 1.1.4.1 Raíz

La raíz primaria, es decir, la que se desarrolla en la germinación tiene corta duración. En la planta adulta todo el sistema radicular es adventicio y brota de la corona, con el ápice en la parte inferior formado por 10 entrenudos muy cortos. El tamaño y la forma del sistema radicular cambian considerablemente de acuerdo al tipo de propagación y las condiciones ambientales (Terranova, 1995).

#### **1.1.4.2 Tallo**

El tallo del maíz es de caña vertical, la longitud varía entre 1 a 5 m con un diámetro que va entre 2 a 4 cm y tiene nudos y entrenudos que varían en un número de 8 a 24 (Mapes, 2009).

#### **1.1.4.3 Hojas**

Las hojas de maíz son largas, de gran tamaño, lanceoladas, alternas, paralelinervias. La vaina de la hoja forma un cilindro alrededor del entrenudo, pero con los extremos desunidos. El color de las hojas es usualmente verde, pero se puede encontrar hojas rayadas de blanco y verde o blanco y púrpura (Parsons, 1987)

#### **1.1.4.4 Inflorescencia pistilada (femenina)**

Se forma a partir de las ramas laterales de la planta, están cubiertas por hojas siendo más cortas que el tallo, aquí se forma la mazorca de la planta (León, 1968)

#### **1.1.4.5 Inflorescencia estaminada (masculina)**

Es la continuación del tallo de la planta, se ramifica en espigas laterales siendo la espiga central la más gruesa, en algunas inflorescencias se puede observar ramificaciones terciarias (León, 1968)

#### **1.1.4.6 Mazorca**

La mazorca del maíz es compacta y formada por hojas que la cubren totalmente. El eje de la inflorescencia recibe el nombre de tusa en América del sur y elote o coronta en México y América Central (Yáñez *et al.*, 2003).

### 1.1.4.7 Semillas

Cada semilla en la mazorca es un fruto independiente que está insertado en el raquis cilíndrico o coronta; la cantidad de granos producidos por mazorca está limitada por el número de granos por hilera y de hileras por mazorca, al igual que otros cereales, el grano de maíz está constituido por pericarpio, endospermo y embrión como se puede observar en la Figura 1 (Mapes, 2009).

### 1.1.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA

En la Tabla 2 podemos observar la composición de los granos y de las corontas del maíz negro.

**Tabla 2.** Composición de los granos y corontas de de maíz negro en base seca (%)

Componentes	Granos (%)	Corontas (%)
Carbohidratos	71,30	54,68
Proteína	8,41	1,48
Grasa	6,65	0,99
Fibra	3,35	40,71
Ceniza	1,55	2,14

Fuente: Jacho, 2009; LSAIA, 2011

### 1.1.5 USOS Y ALTERNATIVAS DE PROCESAMIENTO AGROINDUSTRIAL DEL MAIZ NEGRO

A partir del maíz negro se obtienen bebidas no alcohólicas como el pinolate guatemalteco (harina de maíz, azúcar y agua), el piloncillo costarricense u hondureño (harina de maíz y cacao), el atole mexicano (harina de maíz, agua, leche y azúcar) y en el caso de nuestro país la mazamorra morada o colada morada (Ramírez y Williams, 2005).

De los ecotipos negros se extraen los pigmentos conocidos como antocianinas,

las cuales aportan color a las bebidas, dulces y confites, productos de panadería, conservas de pescado, grasas y aceites, mermeladas y jaleas, frutas confitadas y en almíbar, jarabes de frutas, sopas y saborizantes, coloración de jugos de frutas (fresa), vinos y vinagres (Chávez, 2000).

El maíz, junto con la papa constituyen las materias primas más importantes para la obtención industrial de almidón, el cual se usa industrialmente como tal y para producir alcohol y edulcorantes alimentarios, ya sea por hidrólisis ácida o enzimática (FAO, 2006).

La molienda del maíz puede efectuarse en seco o en húmedo. En ambos casos, un primer objetivo es la separación del germen, muy voluminoso en este cereal y rico en aceite. La escarificación del grano de color negro, previo a la molienda, permite obtener almidón de color claro, similar al de las variedades de color blanco o amarillo. Los productos de la molienda son muy diversos, incluyendo germen, salvado (destinado a la elaboración de piensos) y una variedad de sémolas y harinas de distinta granulometría. Como subproducto de la molienda húmeda se obtiene el germen, que se destina a la extracción de aceite comestible y el gluten producto rico en proteína, que se utiliza para la elaboración de piensos (Yúfera, 1995).

## **1.2 COLORANTES**

El color y su uniformidad son componentes importantes en la calidad visual de los alimentos frescos y tienen un papel trascendental en la elección del consumidor el momento de comprar (Brennan, 2008).

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

## 1.2.1 CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES

Existen diversas maneras de clasificar a los colorantes, con base en su naturaleza u origen (naturales o artificiales), por su grupo cromóforo (radical que le confiere un determinado color), como se puede ver en la Figura 2 (Quintero *et al.*, 2002).

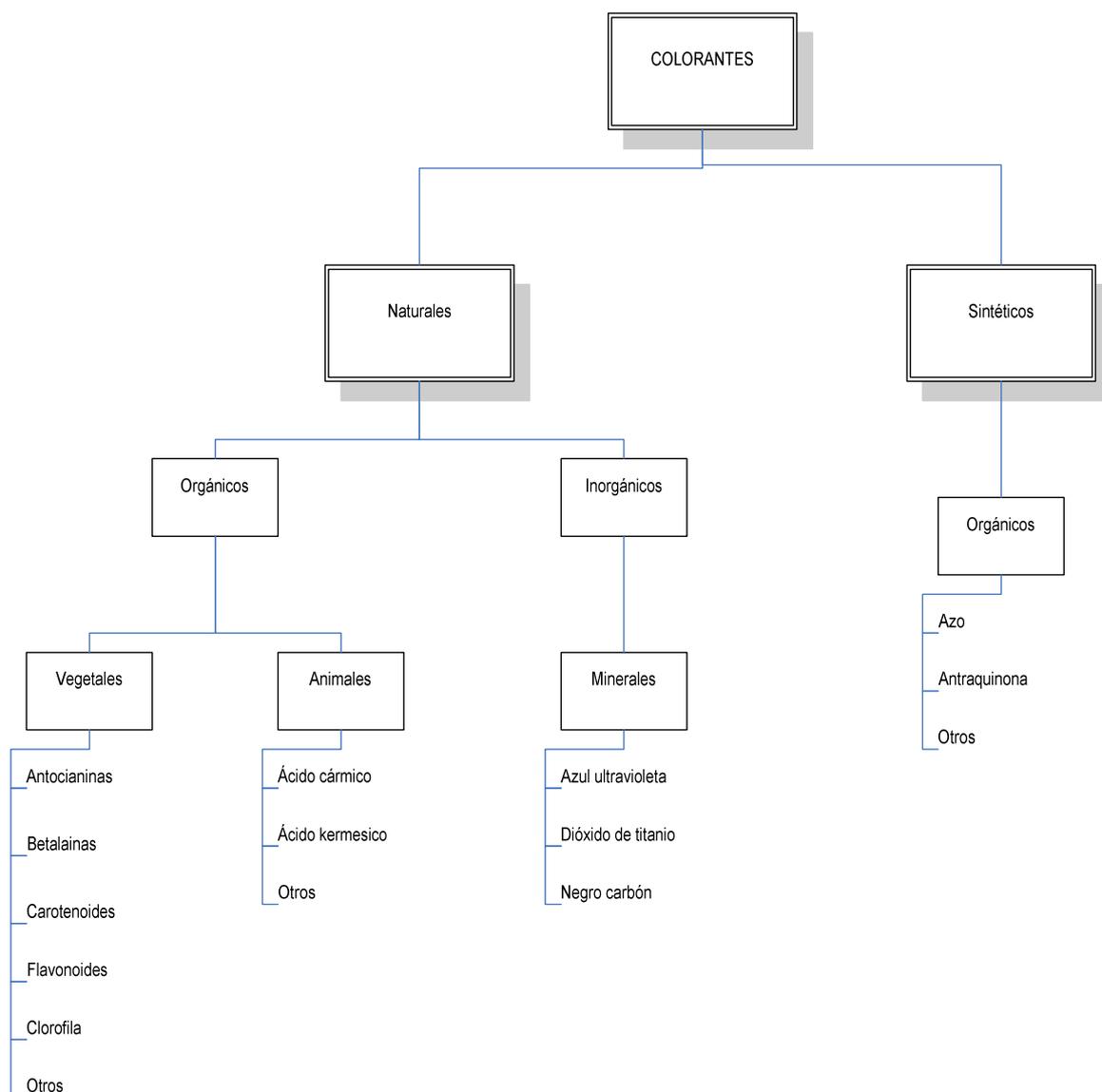


Figura 2. Clasificación de los colorantes (Quintero, 2002)

### 1.2.1.1 Colorantes naturales

Son pigmentos coloreados que se encuentran en la naturaleza y que se extraen por diferentes métodos (Cubero *et al.*, 2002).

Las fuentes de las cuales se puede extraer estos colorantes son las plantas superiores, algas, insectos y hongos. A pesar de la gran cantidad de superficie cultivada de plantas superiores, su baja concentración de colorantes no permite realizar una extracción rápida y económica (Sing, 1997)

#### **1.2.1.2 Colorantes orgánicos**

Los colorantes orgánicos se caracterizan por tener en su estructura múltiples dobles enlaces conjugados, también se puede encontrar heteroátomos de nitrógenos y oxígeno (Molina, 2009).

Colorantes vegetales: Se pueden extraer de diferentes estructuras de los vegetales, como son las raíces, cortezas, partes leñosas, hojas, flores, frutos y semillas (Cubero et al., 2002).

Colorantes animales: El colorante más representativo de este grupo es el obtenido a partir de la cochinilla, ya que es considerado como el mejor de los colorantes naturales. Actualmente es utilizado para colorear jarabes, confituras y mermeladas (Pérez, 2004)

#### **1.2.1.3 Colorantes inorgánicos**

Los primeros colorantes orgánicos que se conocieron son los obtenidos de los óxidos de metales como el zinc y el hierro. (Molina, 2009).

Colorantes minerales: Entre los colorantes minerales más importantes están considerados el óxido de hierro, el dióxido de titanio, el azul ultramarino estos colorantes han sido prohibidos debido a la toxicidad que presenta (Artusi, 2007).

#### **1.2.1.4 Colorantes sintéticos**

Son pigmentos obtenidos por síntesis química. Pueden ser de dos clases: síntesis de moléculas nuevas o síntesis de moléculas iguales a las que se encuentran en el medio natural (Cubero *et al.*, 2002). En general, los colorantes sintéticos son más resistentes que los colorantes naturales; sin embargo, presentan problemas en su uso; por ejemplo, se decoloran por acción del ácido ascórbico, efecto importante en el caso de las bebidas refrescantes, en las que esta sustancia se utiliza como antioxidante. Los colorantes artificiales pueden utilizarse en forma soluble, como sales de sodio y potasio o bien absorbidos sobre hidróxido de aluminio formando lo que se conoce como laca. La utilización de un colorante soluble o insoluble depende de la forma en que se va a llevar a cabo la dispersión en el alimento (Grupo Latino, 2007).

#### **1.2.1.5 Colorantes azoicos**

Estos colorantes forman parte de una familia de sustancias orgánicas caracterizadas por la presencia de un grupo peculiar que contiene nitrógeno unido a anillos aromáticos. Todos se obtienen por síntesis química, no existiendo ninguno de ellos en la naturaleza. El número de colorantes de este grupo es pequeño, en comparación con los existentes, muchos de los cuales se utilizaron antiguamente y luego se prohibieron por su efecto potencialmente perjudicial para la salud (Grupo latino, 2007).

La mayoría de los colorantes sintéticos son azoicos; entre ellos se encuentra el amarillo N° 5 denominado también tartracina (Molina, 2009).

### **1.2.2 PROBLEMAS EN LA UTILIZACIÓN DE COLORANTES SINTÉTICOS**

Los colorantes sintéticos presentan diversas ventajas sobre los naturales; sin embargo, muchos causan problemas para la salud. Como ejemplo se puede citar

el “amarillo mantequilla”, utilizado hace tiempo para colorear este alimento, posteriormente se restringió su uso debido a sus efectos carcinogénicos (Grupo Latino, 2007).

En 1906 Bernard Hesse analizó en Estados Unidos aquellos colorantes utilizados en la industria de los alimentos y encontró que de una lista de 80 diferentes colorantes, 30 de ellos nunca habían sido probados en su seguridad, 26 tuvieron resultados diversos y ocho fueron considerados de alto riesgo para la salud (Corrales, 2001).

La FDA (Food and Drug Administration o Agencia de Drogas y Alimentos), en la Cláusula Delaney de 1958, determinó cierto riesgo de cáncer para algunos colorantes sintéticos, estableciendo que no puede utilizarse ningún tipo de aditivo si se demuestra que al ser ingerido por el hombre o por algún animal induce cáncer. Por medio de esta clausula se prohíben los colorantes: Azul N° 6, Rojo N° 10, 11, 12, 13, Amarillo N° 1 y por otro lado se prohíben para alimentos: Rojo N° 2, Violeta N° 1, Grafito y Anaranjado B (Lisco, 2000).

Actualmente solo existen 9 colorantes sintéticos aceptados bajo fuerte restricciones en su utilización y de acuerdo con la FDA solo 8 de estos pueden ser comercializados (Corrales, 2001).

### **1.2.3 COLORANTE DEL MAÍZ NEGRO**

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

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

La Figura 3, muestra la gran variedad de coloraciones del maíz morado.



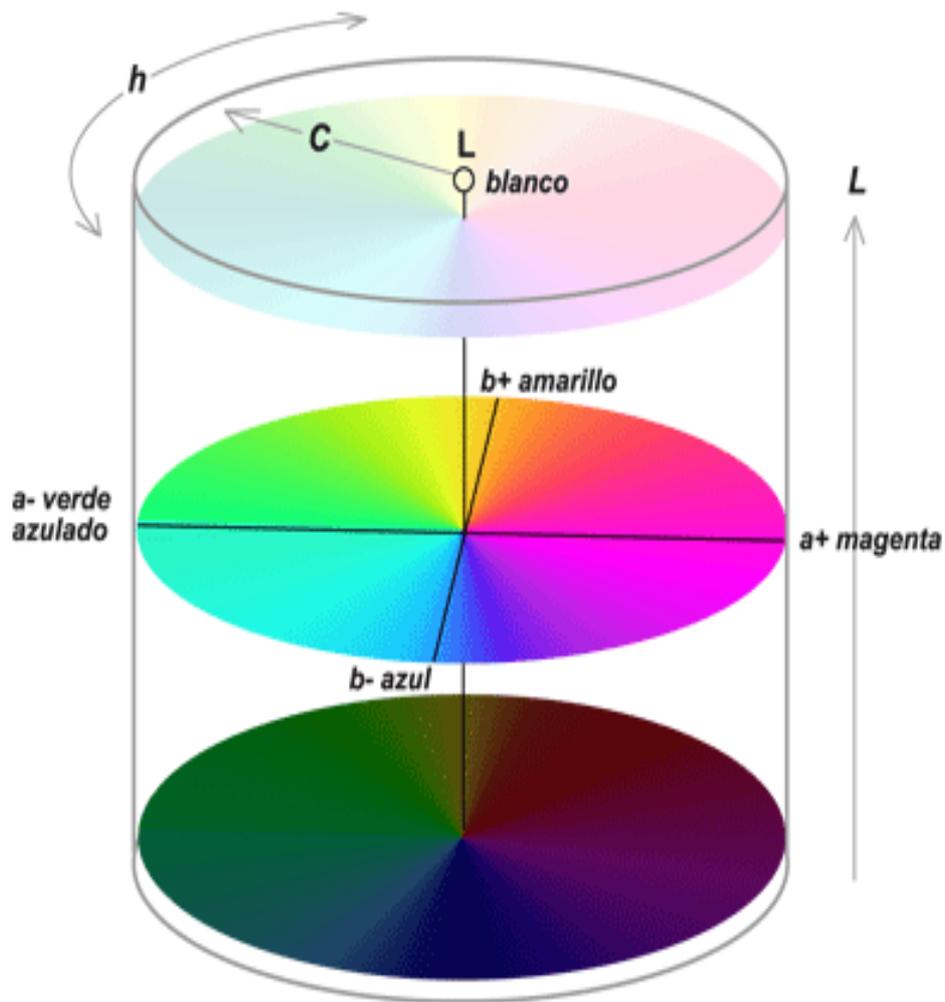
**Figura 3.** Apariencia del maíz morado (El maíz peruano, 2011)

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

#### **1.2.4 MEDIDA DEL COLOR**

Uno de los sistemas para medir este atributo es el CIELAB, en el que se define un espacio en coordenadas rectangulares ( $L^*, a^*, b^*$ ) junto con otro en coordenadas cilíndricas ( $L^*, H^*, C^*$ ), (Jiménez y Gutiérrez, 2001; Calvo y Duran, 2002).

Este sistema tiene base en la teoría de la apreciación de los colores opuestos, esta dice que un color no puede ser amarillo y azul al mismo tiempo ni tampoco puede ser rojo y verde, esto se muestra en la Figura 4 (Iñiguez *et al.*, 1995).



**Figura 4.** Diagrama cromático (Proyectacolor, 2011)

El sistema CIELAB, trabaja con los valores triestimulo del sistema CIE (Iñiguez *et al.*, 1995).

Luminosidad (Value): Es considerado como la claridad u oscuridad de un color es decir el brillo que tengan los objetos, es resultado de la cantidad de luz reflejada por dicho objeto, dicho de otra manera, cuanto luz es reflejada otra vez al ojo (Rosenstiel *et al.*, 2009).

Matiz (Hue): Es una propiedad que ayudan a clasificar a los colores en azules, verdes, amarillos, rojos, etc., físicamente esta característica tiene relacion con la longitud de onda de una luz de espectro continuo (Carrasco, 2002).

Saturación (Chroma): Se considera como la intensidad del color o la cantidad de color puro que está mezclado con blanco. Es la medida en que un matiz está concentrado (Jiménez y Gutiérrez, 2001).

En la Figura 4, se presenta el diagrama cromático, que simboliza el área donde tienen lugar todos los colores reales según la transformación CIELAB

En la parte central se encuentra el iluminante sobre el cual el eje vertical  $L^*$  marca el eje de la luminosidad del color cuyo valor va entre 0 a 100 %, en la mitad de dicho eje se forma un plano horizontal con los valores de las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$ , un valor positivo en la coordenada colorimétrica  $a^*$  indica que hay un componente rojo y si es negativo indica que hay un componente verde, si la coordenada  $b^*$  es positiva significa que el color tiene componente amarillo mientras que si es negativo el color contiene azul (Íñiguez *et al.*, 1995).

#### **1.2.4.1 Degradación del color**

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

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

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

### **1.3 ANTOCIANINAS**

Las antocianinas son pigmentos con características químicas de glucósidos. Generalmente, son de color rojo, rosado, azul y violeta, solubles en agua y están ampliamente distribuidas en la naturaleza, formadas por una molécula de antocianidina (aglucon) que se une a una fracción de carbohidrato a través de un enlace glucosídico (Zeiger *et al.*, 2006). Si las antocianinas no poseen la molécula de azúcar toma el nombre de antocianidinas (Badui, 1988).

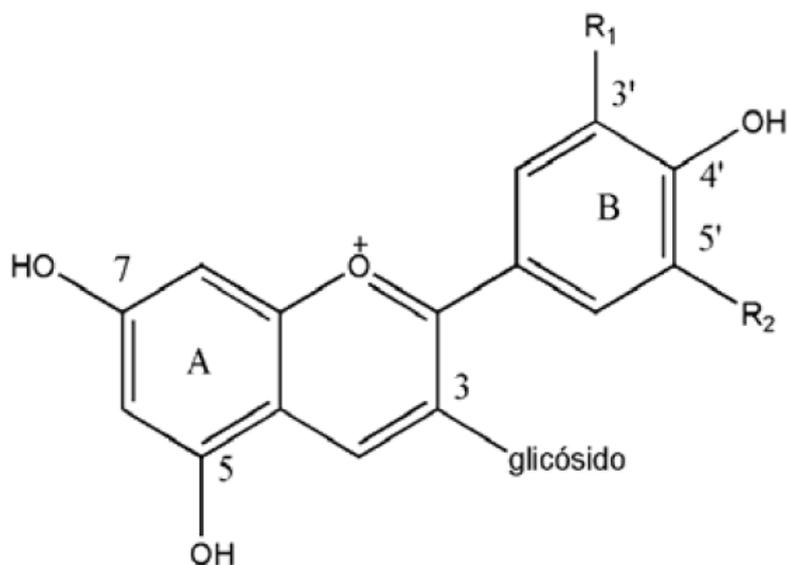
Las antocianidinas más importantes son la pelargonidina, la cianidina, la delphinidina, la peonidina, la petunidina y la malvidina. Generalmente una misma antocianidina forma interacciones diferentes clases de carbohidratos para formar diferentes antocianinas (Fennema, 1985).

El color de las antocianinas depende de la cantidad de grupos hidroxilo (OH) y metóxilo (OCH<sub>3</sub>) que se encuentran en el anillo B de cada antocianina (Zeiger, 2006), esto se muestra en la Figura 5.

#### **1.3.1 ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS**

Todas las antocianinas están formadas por el catión flavilo básico (Fennema, 1985) como se muestra en la Figura 5, contienen 2 anillos bencénicos unidos por medio de un anillo heterocíclico y según el tipo de antocianina existen variaciones

en algunos de los carbonos de los anillos bencénicos o del anillo heterocíclico antes mencionados (Rebolo, 2003).



**Figura 5.** Estructura química del Cation Flavilio (Durst y Wrolstad, 2001).

Están compuestas por un aglicon (antocianidina) la cual está unida a una o varias moléculas de azúcar, esta puede ser glucosa, galactosa, ramnosa, arabinosa, etc (Fennema, 1985)

En la Tabla 3, se presentan los radicales (R1 y R2) anteriormente mostrados en la Figura 5.

**Tabla 3.** Principales radicales de las antocianinas

Aglicona	R1	R2
Petunidina	OH	OCH3
Malvidina	OCH3	OCH3
Pelargonidina	H	H
Delfinidina	OH	OH
Cianidina	OH	H
Peonidina	OCH3	H

Fuente: Durst y Wrolstad, 2001

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

### 1.3.2 ANTOCIANINAS DEL MAÍZ MORADO

En la estructura química de las semillas y las corontas del maíz negro se ha encontrado en forma predominante, el compuesto cianidina 3- $\beta$ -glucósido (Arroyo *et al.*, 2007).

También se han encontrado en variedades de maíz negro: pelargonidina 3-glucósido, peonidina 3-O-glucósido, cianidina 3-malonilglucósido, pelargonidina 3-malonilglucósido y peonidina 3-malonilglucósido, además, cianidina 3-dimalonilglucósido como compuesto minoritario en algunas variedades (Aoki *et al.*, 2002).

Las antocianinas en los granos de maíz negro, son de tipo simple y no aciladas, esto quiere decir que su estructura está formada por el grupo cromóforo y únicamente un azúcar, que es la glucosa (Salinas *et al.*, 2005).

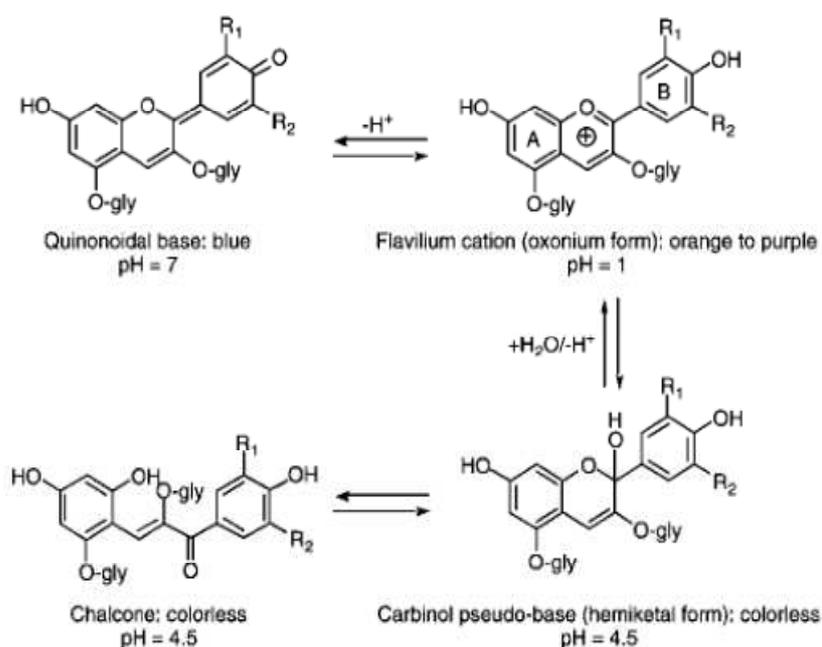
Al tener esta estructura se minimiza su potencial de uso como colorante alimenticio debido a que son menos estables a cambios de pH que las aciladas; sin embargo, poseen una actividad antioxidante sobresaliente, por lo que las antocianinas del maíz negro pueden considerarse valiosas como agentes antioxidantes (Salinas *et al.*, 2005).

### 1.3.3 FACTORES QUE AFECTAN LA ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS

El color de las antocianinas se modifica fácilmente por efecto de gran cantidad de reacciones que ocurren en los alimentos y se presenta mayores variaciones durante el almacenamiento debido a su inestabilidad producida por diversos factores como: pH, temperatura, oxígeno, luz, entre otras (Fossen *et al.*, 1998).

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

#### 1.3.3.1 Efecto del pH



**Figura 6.** Efecto del pH en la estructura de las antocianinas (Wrolstad, 2004)

Las antocianinas tienen cambios importantes de color con las variaciones de pH, cuando el pH es ácido su color es rojo intenso mientras que a pH neutro se encuentra de manera incolora y a pH alcalino su coloración es amarilla y pasa posteriormente a ser azul (Cuevas *et al.*, 2008). En la Figura 6, se muestra el comportamiento de la antocianina a diferentes pH's.

### **1.3.3.2. Efecto de la temperatura**

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

Algunos tipos de peras desarrollan un color rosado durante tratamientos térmicos, estas frutas provienen de tierras donde el pH es bajo y el contenido de taninos alto. El pigmento rosado es una antocianina, como la cianidina, cuyo precursor es una leucoantocianidina incolora que se descompone a altas temperaturas (Fennema, 2000).

### **1.3.4 COMPUESTOS FENÓLICOS**

Los fenoles son los compuestos básicos de los sistemas en los cuales un grupo hidroxilo se une a un anillo bencénico (Flanzy, 2003).

Los compuestos fenólicos se encuentran en la mayoría de las frutas y en muchos casos contribuyen al color y al sabor de las mismas, en este grupo se encuentran las flavonas, flavononas, flavonoles, chalconas, isoflavonoides, antocianos y catequinas (Aranceta, 2006).

El enlace C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, fenilpropano, de la fenilalanina y la tirosina, puede hallarse en muchos compuestos fenólicos naturales. La lactona estable del ácido o-cumárico, la cumarina y sus ésteres carbohidratados, se encuentran ampliamente

distribuidos en los vegetales. El éster del ácido cafeico y el ácido quínico es el ácido clorogénico, una sustancia muy difundida en las frutas y verduras (papas, manzanas, peras). El ácido gálico es un importante constituyente de los taninos. Sus ésteres se encuentran ampliamente difundidos (Fennema, 2000).

### **1.3.5 FLAVONOIDES**

Los flavonoides corresponden al grupo de los compuestos fenólicos dentro de los cuales existe un rango de sustancias coloreadas (Zeiger *et al.*, 2006).

La clasificación de los flavonoides se realiza con base en sus variaciones estructurales, los más importantes son las flavonas, isoflavonas, flavonoles y antocianinas (Iglesias, 2003).

Estos compuestos tienen buena solubilidad en agua y etanol, debido a que cuentan con la presencia de grupos aromáticos conjugados, tienen una intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro (Sing, 1997).

### **1.3.6 ACIDO OXÁLICO**

El ácido oxálico está presente en diversas plantas en forma de sales tanto solubles (sódicas o potásicas) como insolubles (cálcicas) (Gil, 2010).

El consumo de alimentos que contengan gran cantidad de ácido oxálico puede provocar carencias nutricionales debido a que este puede formar enlaces con minerales como hierro, sodio magnesio, potasio. Es letal en cantidades elevadas, ya que el precipitado de oxalato cálcico provoca obstrucción renal. (Valle, 2000; Gil, 2010).

El ácido oxálico posibilita la formación de cálculos renales por precipitar cristales de oxalato cálcico en el tubo renal (Gil, 2010).

## **1.4 EXTRACCIÓN DE COLORANTES**

Además de las consideraciones relativas a la estabilidad, debe tenerse en cuenta que el aprovechamiento tecnológico de un producto también depende de su extractabilidad. La extracción de los pigmentos a partir de los tejidos vegetales suele realizarse con solventes orgánicos, Los solventes empleados para el proceso depende de la naturaleza de los pigmentos y su polaridad (Ibarz, 2005).

La extracción sólido-líquido, es una operación unitaria básica que consiste en la separación de uno o varios componentes presentes en una fase sólida, para esto se utiliza una fase líquida o un solvente (Ibarz, 2005).

Para la extracción de pigmentos a partir de los vegetales, se debe tomar en cuenta las siguientes condiciones:

- El rendimiento o recuperación máxima de los colorantes para un óptimo aprovechamiento de la materia prima.
- Concentración de los extractos, lo que incide en el menor gasto de solvente por unidad de peso de la materia prima. También hay que considerar el ahorro en las operaciones de filtración y concentración.
- Baja o nula toxicidad del solvente empleado, para facilitar la seguridad del personal que participa en el proceso y porque el producto final está destinado para el consumo humano.
- Bajo nivel de extracción de impurezas, o bien, que estas sean de fácil remoción (Quintero *et al.*, 2002)

### **1.4.1 FACTORES QUE DETERMINAN LA EXTRACCIÓN.**

#### **1.4.1.1 Tamaño de partícula**

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

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

#### **1.4.1.2 Solvente**

El solvente escogido debe ser altamente selectivo, de baja viscosidad que circule libremente (Ibarz, 2005), pero conforme la extracción transcurre, la cantidad de soluto aumentará y el gradiente de concentración disminuye, incrementando progresivamente la viscosidad (Ullauri, 2010).

Generalmente se utiliza etanol para la extracción de los principios activos de las plantas, sin embargo el agua es considerada el solvente universal por su capacidad de extracción en fase sólido-líquido (Ullauri, 2010).

#### **1.4.1.3 Temperatura**

A medida que se incrementa la temperatura la extracción es mejor pero si el rango de temperatura está entre 70 y 100 °C el rendimiento no aumenta de forma significativa por lo que es más importante encontrar un equilibrio en el cual se reduzca el gasto de energía y el tiempo de extracción (Centeno, 2003).

#### **1.4.1.4 Agitación del Sistema**

La transferencia de materia entre un líquido en movimiento y un sólido es importante en una gran variedad de aplicaciones de procesamiento biológico. La agitación del sistema sólido-líquido es importante porque aumenta la difusión y como consecuencia la transferencia de masa aumenta desde las partículas sólidas al líquido o solución y de esta forma también se evita sedimentaciones (Ullauri, 2010).

#### **1.4.1.5 Tiempo de extracción**

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

### **1.5 SECADO**

El secado es una operación unitaria que consiste en la eliminación de la humedad de un producto (Ibarz, 2005), es el método más antiguo de conservación de los productos perecederos (Casp, 2008).

#### **1.5.1 LIOFILIZACIÓN**

La liofilización consiste en eliminar el agua de un producto congelado sin pasar por el estado líquido (Montoya, 2008). Al congelar la solución que contiene el elemento que se desea extraer, la baja temperatura impide que existan cambios químicos que puedan causar deterioro y se somete a un alto vacío el mismo que evita que la solución pase por el estado líquido, este es un método que permite secar un producto evitando el deterioro que se produce por el calentamiento (Montoya, 2008).

Este proceso implica 3 etapas: congelación del alimento, sublimación del hielo (secado primario) y eliminación de la pequeña cantidad de agua enlazada a los sólidos (secado secundario) (Casp, 2003).

Al congelar los productos se incrementa la cantidad de sólidos solubles presentes en la fase líquida lo que disminuye el punto de congelación, para poder realizar este proceso debería estar en estado sólido (hielo) el 95% del agua que presente en el alimento (Brennan 2008).

La etapa de sublimación se inicia en la superficie exterior y termina en la parte interior dejando una masa porosa de material seco, el calor latente de sublimación del hielo, se transfiere por conducción a través de la corteza de material seco, el vapor de agua que se forma se transfiere a través de la capa superior, el agua congelada se sublima a menos 0°C y a una presión de 627 Pa o menos (Ramírez, 2006).

La liofilización al ser comparada con otros métodos de deshidratación presenta ciertas ventajas, no existe movimiento de líquidos dentro del sólido y no hay encogimiento, el producto seco se rehidrata con facilidad debido a su estructura porosa, el daño producido por el calor es bajo (Brennan 2008).

Sin embargo, la congelación también puede producir algunos daños estructurales que dificultarían la rehidratación del producto seco (Brennan 2008).

### **1.5.2 ENVASADO**

El envasado es considerado un aspecto importante en la conservación y el procesamiento de los alimentos, razón por la cual es primordial pensar en el envasado desde que se inicia a desarrollar un producto, no solo por el aspecto técnico sino por los costos que este puede generar (Brennan, 2008).

Las funciones del envasado son de contener y proteger el producto de varios riesgos que puedan afectar la calidad del mismo (Brennan, 2008).

En la actualidad la búsqueda de envases que permitan ofrecer a los consumidores productos frescos e higiénicamente almacenados ha llevado al desarrollo de diferentes métodos de envasado con diversos materiales y tipos de tratamientos de conservación (López, 2011).

### 1.5.3 ENVASADO EN ATMÓSFERA MODIFICADA

El envasado en atmósfera modificada (MAP) es un procedimiento que consiste en la sustitución del aire del interior del envase por una determinada mezcla de gases antes de su cierre (Brennan 2008). Se utiliza esta técnica para no utilizar aditivos para la conservación de los alimentos, los gases que se utilizan para en este proceso son el nitrógeno ( $N_2$ ), oxígeno ( $O_2$ ) y anhídrido carbónico ( $CO_2$ ) o una mezcla de estos gases (Armendaris, 2002).

El método que elimina el oxígeno del aire sustituyéndolo por nitrógeno tiene muchas ventajas, no modifica la estructura química del producto, no hay modificaciones en el producto (Madrid *et al.*, 2003).

El nitrógeno no tiene sabor ni color y es poco soluble. No forma nuevos productos y no ocasiona pérdida de sustancias volátiles por arrastre, ya que es muy puro (impurezas inferiores a 500 volúmenes por millón) (Madrid *et al.*, 2003).

Es un método eficaz ya que elimina del 90 al 95 % del oxígeno disuelto, el sistema es económico, ya que la inversión es muy reducida y el consumo de nitrógeno es de aproximadamente 1 litro por litro de producto (Madrid *et al.*, 2003)

### 1.5.4 ENVASADO AL VACÍO

El envasado al vacío es la técnica más simple y sencilla de modificar la atmósfera en el interior del empaque. El envasado al vacío es útil para eliminar la mayor cantidad de bacterias nocivas, aumentando el tiempo de duración del producto durante el almacenamiento, ya que estas bacterias necesitan de oxígeno para su crecimiento normal (Ranken, 2003; Guevara, 2010).

El envasado al vacío aísla al producto del contacto con el exterior con lo que se elimina la posibilidad de cualquier tipo de contaminación, también se descarta la deshidratación del producto y la oxidación del mismo (Armendáris, 2002).

El envasado al vacío se realiza en un film de baja permeabilidad al oxígeno y el sellado después de realizar la evacuación del aire, si el vacío se lo realiza bajo condiciones favorables la concentración del oxígeno puede estar debajo del 1 %, (López, 2004).

## **1.6 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

El término antioxidante hace referencia a cualquier sustancia que, estando presente a una concentración más baja comparada con la de un sustrato oxidable, es capaz de retrasar o prevenir la oxidación de dicho sustrato. Los radicales libres se definen como especies químicas que poseen uno o más electrones desapareados, lo cual las hace altamente inestables y reactivas (Halliwell y Whiteman, 2004).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos depende del número y de la posición de los grupos hidroxilos, de la cantidad de electrones donadores que contenga el anillo estructural, y de la capacidad que tiene el grupo aromático de resistir el desapareamiento de electrones (Kuskoski *et al.*, 2004).

EL  $IC_{50}$  (concentración inhibitoria media), es la concentración de muestra que causa una disminución en la concentración inicial de algún oxidante en un 50 %, un valor  $IC_{50}$  es inversamente proporcional a la actividad antioxidante, es decir, valores mayores de  $IC_{50}$  indican un menor poder antioxidante y viceversa (Huang, 2005).

### **1.6.1 LOS ANTIOXIDANTES**

Los antioxidantes dificultan la posibilidad que otras moléculas se unan al oxígeno, al interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con otras moléculas presentes, en un organismo, la

acción del antioxidante es perder de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas de lípidos, proteínas, ADN, etc. (Venereo, 2002).

Los aditivos antioxidantes se usan para conservar los alimentos retardando el deterioro, para disminuir la decoloración o rancidez que se da como consecuencia de la oxidación (Cubero *et al.*, 2002).

Para la neutralización de los radicales libres, existen antioxidantes endógenos y exógenos

Los endógenos: son las enzimas con capacidad antioxidante que no se consumen al reaccionar con los radicales libres y son dependientes de sus cofactores tales como el cobre, el hierro, el zinc, el magnesio y el selenio (Halliwell y Whiteman, 2004)

Los antioxidantes exógenos: provienen de la dieta y a diferencia de las enzimas se consumen al reaccionar con los radicales libres y deben ser reemplazados. Estos se dividen según la zona donde actúan. Los que ejercen su acción a nivel de la membrana lipídica son: la vitamina E, los carotenos, los polifenoles o flavonoides, el ubiquinol 10. Los que actúan en medio acuoso: el ácido ascórbico. Los relacionados con los metales pesados: ferritina, transferrina, ceruloplasmina (Venereo, 2002; Halliwell y Whiteman, 2004)

Los compuestos fenólicos que se encuentran de manera representativa en los vegetales como los pertenecientes al grupo de los flavonoles y las flavonas tienen un importante papel como antioxidantes (Belitz *et al.*, 1997).

### **1.6.2 BENEFICIOS DE LOS ANTIOXIDANTES**

La acción de los antioxidantes sobre la salud es impedir la oxidación de moléculas biológicas, facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno; formar

complejos que atenúan las reacciones producidas por radicales libres y desempeñando una función fundamental en la prevención de las enfermedades derivadas del estrés oxidativo (Lahoz *et al.*, 2000).

Con respecto al cáncer, se ha encontrado la posible relación fisiopatológica entre dicha enfermedad y las alteraciones encontradas en el metabolismo de los lípidos; por lo que los antioxidantes son considerados una forma de prevención para diferentes tipos de cáncer (Pita *et al.*, 2000).

Se ha asociado una reducción en la incidencia de enfermedades degenerativas en aquellas personas que han incrementado en el consumo de frutas y vegetales, debido al elevando contenido de diferentes antioxidantes presentes en éstos alimentos, los que neutralizan la acción de los radicales libres, razón por la cual juegan un papel importante en la prevención de estas enfermedades, logrando un efecto positivo en la salud pública (Keith *et al.*, 2001).

## **2 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 MATERIA PRIMA**

Para este estudio se utilizaron 50 kg de maíz del ecotipo “racimo de uva”, que fue transportado al laboratorio cuando alcanzó la madurez fisiológica de cosecha, y fue deshidratado en una estufa de aire forzado, hasta un contenido de humedad del 12 % y se almacenó (17 °C, 60 % HR) en recipientes herméticos, previo a la realización de los diferentes ensayos.

### **2.2 MATERIALES Y EQUIPOS**

#### **2.2.1 MATERIALES**

- Probetas de 10 mL, 50 mL, 100 mL y 500 mL
- Pipetas de 0,5 a 20 mL
- Vasos de precipitación 50 mL, 100 mL, 250 mL, 500 mL, 1 000 mL y 2 000 mL
- Frascos Erlenmeyer de 250 mL y 500 mL
- Balones de 25 mL, 50 mL, 100 mL, 200 mL, 500 mL y 1 000 mL
- Viales
- Tubos para centrifuga

#### **2.2.2 EQUIPOS**

- Liofilizador *LABCONCO*
- Colorímetro *COLOR TEC PCM/PSM*
- Cromatografo líquido de alta eficiencia *SHIMADZU RID-64*
- Reflectómetro *RQflex plus 10*
- Rotavapor *BUCHI 461*
- Baño María *SYBRON Thernolyne*
- pHmetro *Inolab wtw*

- Balanza *METTLER* de capacidad hasta 1 000 g
- Espectrofotómetro SPECTRONIC 20-D UV- Visible
- Centrifuga *Internacional Equipment CO*

### 2.3 EXTRACCIÓN DEL COLORANTE

Para el estudio del método apropiado de extracción del colorante a partir de las corontas y los granos, se consideraron como factores, el tipo de solvente, tiempo de extracción y la temperatura. En la Tabla 4 se muestran los niveles de los factores en estudio.

**Tabla 4.** Niveles de los factores y codificaciones en el proceso para la extracción del colorante

Factor	Descripción del Factor	Descripción del Nivel	Código
A	Tipo de solvente	Agua destilada	a <sub>0</sub>
		Etanol (90 %)	a <sub>1</sub>
		Solución acuosa de ácido cítrico 0,08M	a <sub>2</sub>
B	Tiempo de contacto	1 h	b <sub>0</sub>
		2 h	b <sub>1</sub>
C	Temperatura de extracción	30 °C	c <sub>0</sub>
		40 °C	c <sub>1</sub>
		50 °C	c <sub>2</sub>

Para el proceso de extracción, la unidad experimental estuvo constituida por 150 g de granos y 50 g de corontas, para estas se utiliza menor cantidad debido a la poca disponibilidad de materia prima.

Se mantuvo una relación solvente: grano de 4:1 y solvente: coronta de 8:1.

Los tratamientos experimentales se describen en forma detalla en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Tratamientos para la determinación de las condiciones apropiadas de proceso para la extracción del colorante

<b>TRATAMIENTOS</b>		
<b>T1</b>	a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	Agua destilada; 1 h; 30 °C
<b>T2</b>	a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	Agua destilada; 1 h; 40 °C
<b>T3</b>	a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	Agua destilada; 1 h; 50 °C
<b>T4</b>	a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	Agua destilada; 2 h; 30 °C
<b>T5</b>	a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	Agua destilada; 2 h; 40 °C
<b>T6</b>	a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	Agua destilada; 2 h; 50 °C
<b>T7</b>	a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	Etanol (90%); 1 h; 30 °C
<b>T8</b>	a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	Etanol (90%); 1 h; 40 °C
<b>T9</b>	a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	Etanol (90%); 1 h; 50 °C
<b>T10</b>	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	Etanol (90%); 2 h; 30 °C
<b>T11</b>	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	Etanol (90%); 2 h; 40 °C
<b>T12</b>	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	Etanol (90%); 2 h; 50 °C
<b>T13</b>	a <sub>2</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	Solución acuosa de ácido cítrico 0,08M; 1 h; 30 °C
<b>T14</b>	a <sub>2</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	Solución acuosa de ácido cítrico 0,08M; 1 h; 40 °C
<b>T15</b>	a <sub>2</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub>	Solución acuosa de ácido cítrico 0,08M; 1 h; 50 °C
<b>T16</b>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	Solución acuosa de ácido cítrico 0,08M; 2 h; 30 °C
<b>T17</b>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	Solución acuosa de ácido cítrico 0,08M; 2 h; 40 °C
<b>T18</b>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	Solución acuosa de ácido cítrico 0,08M; 2 h; 50 °C

El colorante obtenido de las corontas se pasó a través de un tamiz, para evitar la presencia de sólidos y fracciones de fibra que salen como residuos del proceso de extracción.

Al extracto de las corontas y los granos se le añadió malto dextrina en una proporción del 30 %. Este carbohidrato fue utilizado como matriz de retención del colorante, la que facilitó su recuperación en forma sólida después del secado.

Los extractos fueron congelados y posteriormente sometidos a un proceso de secado por liofilización para obtener un extracto sólido.

Para el análisis de resultados, se aplicó un diseño factorial  $3^2 \times 2$  con 3 repeticiones.

La selección del tratamiento apropiado para la extracción del colorante se basó en el rendimiento, contenido de antocianinas, índice de degradación y coordenadas del color.

### **2.3.1 EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO EN LA EXTRACCIÓN DEL COLORANTE DE MAÍZ NEGRO**

Se determinó a través de mediciones del peso del extracto colorante sólido obtenido, en relación al peso de las corontas y los granos utilizados.

### **2.3.2 EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN EL COLORANTE DEL MAÍZ NEGRO**

El contenido de antocianinas se determinó en una solución acuosa al 10 % preparado a partir del extracto colorante sólido de acuerdo al método de Giusti y Wrolstad, (2001), adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP. El método se describe detalladamente en el Anexo 1.

### **2.3.3 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE DEGRADACIÓN DEL COLOR, EN LOS EXTRACTOS DE LOS GRANOS Y LAS CORONTAS**

El índice de degradación se evaluó en base a medidas de la absorbancia máxima y mínima del extracto colorante, según la técnica descrita por (Jiménez y Gutiérrez, 2001), como se detalla en el Anexo 1.

### 2.3.4 DETERMINACIÓN DE LAS COORDENADAS DEL COLOR

El color de los extractos se midió con un colorímetro COLOR TEC PCM/PSM como se describe en el Anexo 1. En el colorímetro se registran los siguientes valores:

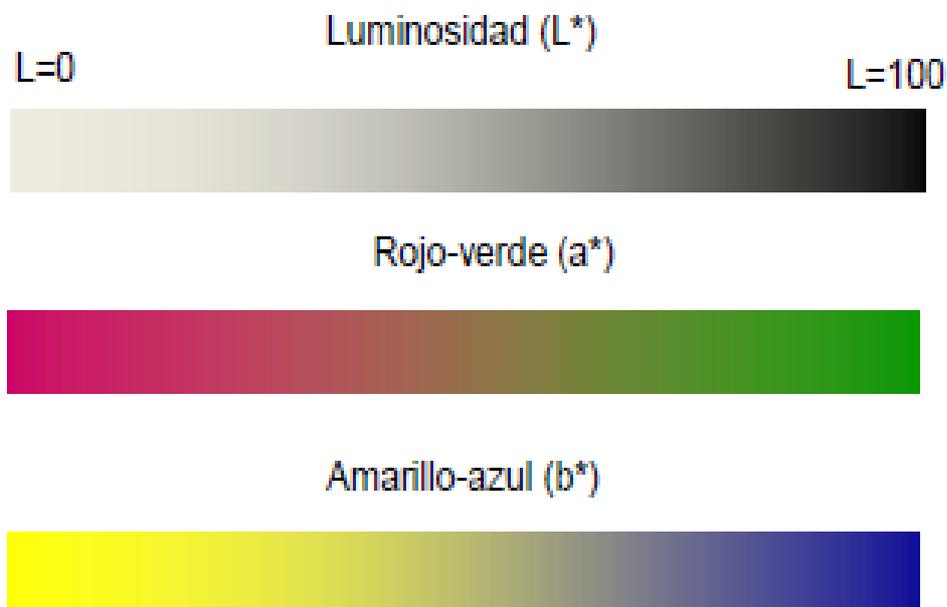
L mide tonalidades de blanco (100) hasta negro (0),

a\* las tonalidades de rojo (+) hasta verde (-)

b\* las tonalidades de amarillo (+) hasta verde (azul)

Angulo  $H^\circ = 0^\circ$  (rojo),  $90^\circ$  (amarillo),  $180^\circ$  (verde) y  $270^\circ$  (azul), como se muestra en al Figura 7 0(Jiménez y Gutiérrez, 2001)

Los valores obtenidos se ubicaron en el diagrama de coordenadas CIELab para así determinar el color predominante de los extractos.



**Figura 7.** Diagrama de las coordenadas colorimétricas, según el sistema CIELab

(Calvo y Duran, 1997)

## **2.4 CARACTERIZACIÓN DEL COLORANTE**

Una vez escogido el mejor tratamiento de extracción del colorante a partir de las corontas y de los granos, se realizó la caracterización química de los mismos con base en el contenido de antocianinas, nitratos, ácido oxálico y compuestos fenólicos.

### **2.4.1 EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN EL EXTRACTO COLORANTE DEL MAÍZ NEGRO**

El contenido de antocianinas se determinó según el método de Giusti y Wrolstad, (2001), descrito en el Anexo 1.

Este método realiza dos extracciones de las antocianinas utilizando metanol acidificado con ácido clorhídrico y posteriormente se realiza la lectura del extracto a 530nm.

### **2.4.2 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE NITRATOS EN EL EXTRACTO COLORANTE DEL MAÍZ NEGRO**

El contenido de nitratos en el extracto colorante se determinó en una solución acuosa al 10 % obtenida a partir del extracto colorante sólido, según el método de la AOAC, (1990), adaptado por el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP.

Para la determinación de nitratos se realiza una hidrólisis del extracto mediante ácido sulfúrico para eliminar el color para que no interfiera en las lecturas con el espectrofotómetro.

El método se describe detalladamente en el Anexo 1.

### **2.4.3 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ACIDO OXÁLICO EN EL EXTRACTO COLORANTE DEL MAÍZ NEGRO**

El contenido de ácido oxálico se determinó en una solución acuosa 10 %, de acuerdo al método de Jinap y Dimick, (1990), adaptado en el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP, cuya descripción detallada consta en el Anexo 1.

Este compuesto se determinó mediante lecturas en el HPLC del extracto acondicionado previamente y comparando al mismo con un estándar de ácido oxálico.

### **2.4.4 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN LOS EXTRACTOS COLORANTES DEL MAÍZ NEGRO**

El contenido de compuestos fenólicos se determinó según el método de Folin y Ciocalteu's (1927), adaptado por el departamento de Nutrición y Calidad del INIAP (Anexo 1), la determinación se realizó en una solución acuosa del extracto al 10 %.

Como complemento de la caracterización se realizó una caracterización física que incluyó la medición de la actividad de agua, humectabilidad, índice de absorción de agua, índice de solubilidad en agua y el poder de hinchamiento del extracto colorante de los granos y de las corontas en estado sólido. Los métodos utilizados en esta caracterización se presentan en el Anexo 1.

## **2.5 ESTABILIDAD DEL COLORANTE**

### **2.5.1 EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL EXTRACTO COLORANTE EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN**

Con el fin de reducir el número de tratamientos, se realizó un ensayo exploratorio de estabilidad del extracto colorante de los granos y de las corontas a diferentes condiciones de pH (2, 4, 6, 8) y temperatura (10, 30, 50, 70, 90 °C), como se indica en la Tabla 6.

La expresión grafica del índice de degradación del color en función del pH y color en función de la temperatura, permitió determinar las condiciones a las cuales los extractos presentaron mayor estabilidad.

La unidad experimental estuvo constituida por muestras de 25 mL de extracto colorante.

A partir del ensayo exploratorio, se seleccionaron los pHs y las temperaturas, a las cuales los extractos colorantes, mostraron mayor estabilidad. Con estas condiciones se integraron los tratamientos para precisar la estabilidad de los extractos, tanto de los granos como de las corontas.

Los resultados se analizaron aplicando un diseño completamente al azar, en arreglo factorial 2 x 2 con 3 repeticiones.

Para los factores e interacciones que resultaron significativos, se aplicó la prueba de Tukey al 5%.

**Tabla 6.** Tratamientos para la determinación de la estabilidad del extracto colorante en el proceso de extracción

TRATAMIENTOS	GRANOS		CORONTAS	
	pH	T (°C)	pH	T (°C)
T1	4	10	2	10
T2	4	30	2	50
T3	6	10	6	10
T4	6	30	6	50

El índice de degradación del color, en base a medidas de absorbancia, fue la variable analizada.

### 2.5.2 EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL EXTRACTO COLORANTE EN EL ALMACENAMIENTO

La estabilidad en el almacenamiento se probó con el extracto colorante de los granos y de las corontas, en estado líquido y sólido a diferentes condiciones de almacenamiento como se muestra en las Tablas 7 y 8, las muestras se colocaron en envases de polietileno de color ámbar.

**Tabla 7.** Tratamientos para la determinación de la estabilidad del extracto colorante líquido, durante el almacenamiento

TRATAMIENTOS	
T1	Expuesto a la luz UV
T2	Almacenado en la oscuridad
T3	Expuesto al O <sub>2</sub> del aire
T4	Con Nitrógeno

**Tabla 8.** Tratamientos para la evaluación de la estabilidad del extracto colorante sólido, durante el almacenamiento

TRATAMIENTOS	
T1	Expuesto a la luz UV
T2	Almacenando en la oscuridad
T3	Expuesto al O <sub>2</sub> del aire
T4	Sellado al vacío

Para el tratamiento que implica el sellado al vacío, se utilizaron bolsas apropiadas para este proceso (mezcla de polietileno y poliamida). Las que una vez selladas con los extractos, se envasaron en los frascos de color ámbar.

La unidad experimental estuvo constituida por 8 muestras de 1 gramo cada una, para presentaciones sólidas y 25 mL para los extractos líquidos.

Se aplicó un diseño completamente al azar tanto para las muestras sólidas como líquidas, con 3 observaciones por tratamiento. A los tratamientos significativos se aplicó la prueba de Tukey al 5 %.

La selección del mejor tratamiento se realizó en base a los índices de tonalidad y degradación del color. Se realizaron muestreos sucesivos a los 0, 2, 4, 6, 15, 30, 45 y 60 días de almacenamiento.

## 2.6 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Se evaluó, la actividad antioxidante del extracto colorante a diferentes concentraciones (0-0,5 mg/mL), con el método espectrofotométrico descrito por Oyaiazu, (1986), como se detalla en el Anexo 1.

## **2.7 ESTIMACIÓN DEL COSTO DE PRODUCCIÓN DEL EXTRACTO COLORANTE A NIVEL DE PLANTA PILOTO**

El análisis de costos se realizó a escala de planta piloto, para ello se tomaron los costos directos e indirectos relacionados con el producto objetivo.

El costo de mano de obra directa se calculó con base al sueldo básico y todos los beneficios de ley, se ubicó la mano de obra calificada, semi-calificada y no calificada.

Dentro de la carga fabril, se encontró la mano de obra indirecta, materiales indirectos, depreciación de equipos, suministros, reparaciones, mantenimientos, seguros e imprevistos.

Para la obtención del costo unitario de cada producto se calculó los costos de producción, gastos de ventas, gastos de administración y financiamiento.

Con base en el valor total de los costos directos e indirectos, se determinó el valor total del costo de fabricación. En función del porcentaje de los gastos operacionales, se determinó el costo total de producción y se calculó el posible precio de venta del producto final.

Con toda la información, se determinó la capacidad de operación de la planta, en el punto de equilibrio donde no hay pérdidas ni ganancias y se representó gráficamente.

### **3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.1 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS PARA LA EXTRACCIÓN DEL COLORANTE A PARTIR DE LAS CORONTAS Y GRANOS DEL MAÍZ NEGRO**

Los factores que más inciden en la extracción de los colorantes vegetales son el tipo de solvente, la temperatura de extracción y el tiempo de contacto del vegetal con el medio de extracción (Belitz y Grosch, 1997).

Como líquidos para la extracción se probaron el agua y el etanol, cuyas moléculas interaccionan con los grupos hidroxilo de la cianidina, formando puentes de hidrógeno (Del Carpio *et al.*, 2009). El agua es el disolvente universal, disuelve sales y sustancias iónicas. También disuelve muchas otras sustancias no iónicas pero con carácter polar, como azúcares, alcoholes, aldehídos, cetonas y otros, cuyos grupos carbonilos, aminos, hidroxilos y carboxilos interaccionan con las moléculas de agua por medio de puentes de hidrógeno (Badui, 1988).

En el ensayo de preparación de extractos, se planteó como un tratamiento, la extracción del colorante en solución acuosa acidificada con ácido cítrico 0,08 M. Sin embargo para el análisis estadístico se descartó este tratamiento, debido a que el extracto obtenido presentó una elevada acidez (pH 2,08), lo que dificultó el proceso de secado por liofilización, sin que el producto final pueda alcanzar el estado sólido (polvo), a pesar de que, con este tratamiento se obtuvo el mayor rendimiento de extracción.

Para determinar si los datos obtenidos son estadísticamente diferentes, se aplicó el análisis de varianza (Tabla 9), el cual muestra un efecto significativo del tipo de solvente, la temperatura de extracción y las interacciones tipo de solvente-temperatura de extracción, tipo de solvente-tiempo de contacto, tiempo de contacto-temperatura de extracción, sobre el rendimiento de los extractos obtenidos a partir de los granos de maíz negro.

En el caso de las corontas, resultaron altamente significativos el tipo de solvente, el tiempo de contacto, la temperatura de extracción y la interacción entre el tipo de solvente y la temperatura, como se observa en la Tabla 10.

**Tabla 9.** Análisis de varianza para el rendimiento de extracción del colorante, a partir de los granos de maíz negro

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F0	F 95%	Probabilidad
Tipo de solvente (Fa)	0,740	1	0,736	98,952	4,301	1,33E-09**
Tiempo (Fb)	0,000	1	0,000	0,020	4,301	0,889
Temperatura (Fc)	1,850	2	0,926	124,424	3,443	1,02E-12**
Repetición	0,000	2	0,000	0,046	3,443	0,955
Interacción Fa*Fb	0,020	1	0,016	2,094	4,301	0,161
Interacción Fa*Fc	0,600	2	0,298	39,979	3,443	4,72E-08**
Interacción Fb*Fc	0,830	2	0,415	55,807	3,443	2,41E-09**
Interacción Fa*Fb*Fc	0,010	2	0,004	0,498	3,443	0,614
Error	0,160	22	0,007			
Total	4,200	35				

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de variación: 5,52

Los diferentes factores estudiados: tipo de solvente, temperatura y tiempo de extracción influyeron significativamente en el rendimiento. El agua y el etanol resultaron buenos extractantes de los pigmentos del maíz negro. A lo cual contribuyó la agitación del soluto con el disolvente y el tamaño de partícula de las corontas, las cuales fueron molidas a un tamaño de partícula de 20 mesh.

En general los sólidos son más solubles en agua caliente que en agua fría, sin embargo, en esta investigación se trabajó con una temperatura límite de 50 °C, ya que temperaturas más elevadas podrían afectar la estabilidad de los pigmentos. Según Belitz y Grosch, (1997), la velocidad a la cual las moléculas de color dejan cada unidad de superficie del sólido es constante para cada temperatura, pero a medida que la disolución va concentrándose, aumenta la rapidez con que vuelven

a cada unidad de superficie del sólido, disminuyendo así la velocidad global de disolución, hasta que, finalmente, no se extrae más colorante.

**Tabla 10.** Análisis de varianza para el rendimiento de extracción del colorante, a partir de las corontas del maíz negro

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F0	F 95%	Probabilidad
Tipo de solvente (Fa)	2,860	1	2,861	49,052	4,260	4,99E-07**
Tiempo (Fb)	0,550	1	0,555	9,511	4,260	0,005 **
Temperatura (Fc)	1,730	2	0,863	14,798	3,403	8,47E-05**
Repetición	0,050	2	0,020	0,430	3,403	6,57E-01**
Fa*Fb	1,070	1	1,067	0,430	4,260	0,657
Fa*Fc	0,300	2	0,148	18,288	3,403	3,07E-04**
Fb*Fc	0,260	2	0,130	2,530	3,403	0,102
Fa*Fb*Fc	0,600	2	0,299	2,232	3,403	0,131
Error	1,280	24	0,058			
Total	8,700	35				

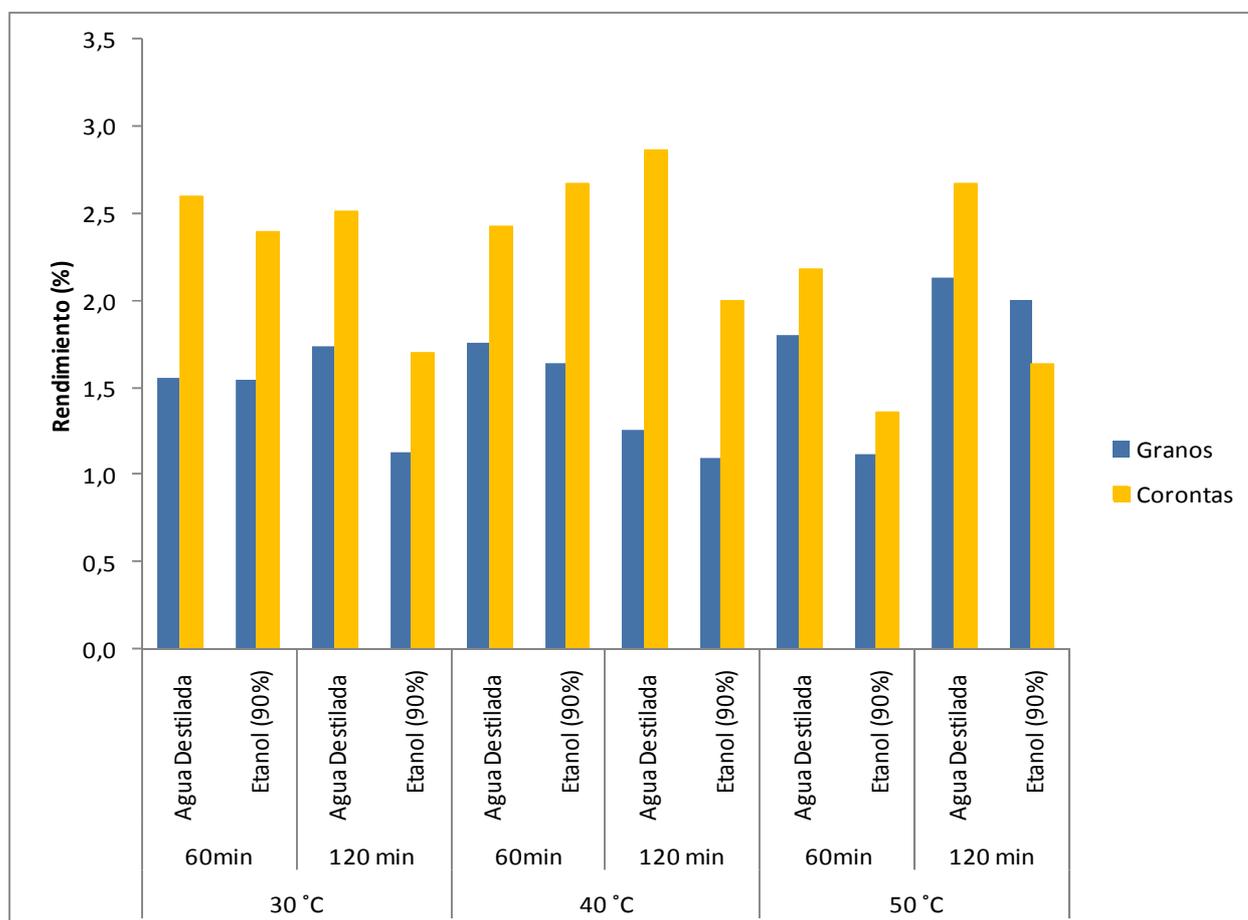
\*\*Altamente significativo

Coefficiente de variación: 10,78

Los coeficientes de variación, muestran que los datos son confiables, ya que se tomaron todas las precauciones necesarias para reducir el error. Un menor coeficiente de variación, indica una conducción apropiada del experimento.

La Figura 8, ilustra los resultados en la obtención del extracto colorante a partir del grano y las corontas del maíz negro, con dos tipos de solventes, a tres temperaturas y dos tiempos de extracción. En general, un mayor rendimiento (3 %), se obtuvo a partir de las corontas, probablemente debido a la condición de la materia prima, ya que en el caso del grano, la extracción se realizó a partir del producto entero, mientras que las corontas fueron trituradas a un tamaño de partícula de 20 mesh, en este caso se incrementa el área superficial, lo que favoreció el contacto entre el sólido y el líquido, aumentando la velocidad de extracción de los pigmentos. El rendimiento del extracto colorante, a partir del grano (1,5 %) fue menor que el reportado para la fracción pericarpio-capa de

aleurona del maíz negro variedad peruano, con 3,2 %, (Salinas *et al.*, 2005). El rendimiento en la obtención de extracto, a partir de las corontas (3 %) fue similar al valor reportado para la variedad de maíz peruano.



**Figura 8.** Efecto del tipo de solvente, tiempo de contacto y temperatura en el rendimiento del extracto colorante de los granos y corontas de maíz negro

En la Tabla 11, se presenta la prueba de Tukey al 5 %, para la interacción de los tres factores en estudio. A partir de estos resultados, se determinó un rendimiento de (2,23 %), en la obtención de extracto colorante, a partir del grano utilizando agua como solvente, a un tiempo de contacto de dos horas y a 50 °C. Este valor, no difiere estadísticamente del obtenido con los tratamientos  $a_1b_1c_2$  y  $a_0b_1c_1$ , ya que estos comparten el primer rango estadístico (a) Igual ocurre con las corontas, si bien el mayor rendimiento numérico (2,86 %), se obtiene con el tratamiento  $a_0b_1c_0$  (agua destilada; 2 horas de contacto; 30 °C), sin embargo este valor no es

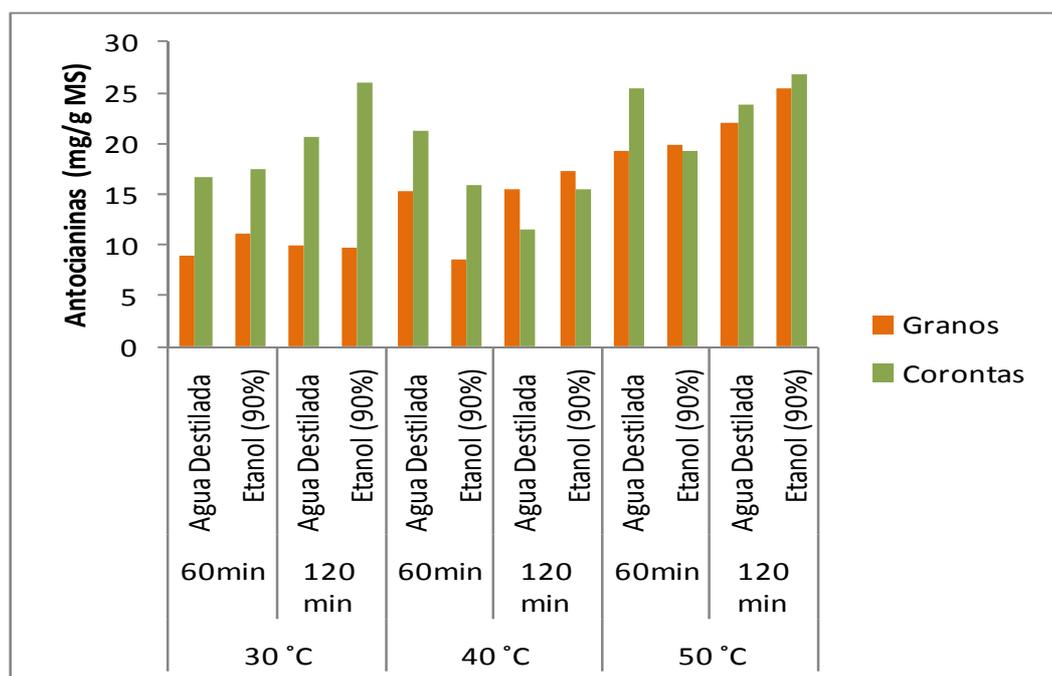
estadísticamente diferente de los tratamientos  $a_0b_1c_0$  y  $a_0b_1c_2$ , ya que comparten el primer rango estadístico (a).

**Tabla 11.** Prueba de Tukey al 5% para el rendimiento de obtención del extracto colorante, a partir del grano y corontas del maíz negro

	Tratamientos	Descripción	Promedio	Rango estadístico		
<b>Granos</b>	$a_0b_1c_2$	Agua destilada; 2 horas; 50°C	2,23	a		
	$a_1b_1c_2$	Etanol (90%); 2 horas; 50°C	2,00	a	b	
	$a_0b_1c_1$	Agua destilada; 2 horas; 40°C	1,80	a	b	c
<b>Corontas</b>	$a_0b_1c_0$	Agua destilada; 2 horas; 30°C	2,86	a		
	$a_0b_1c_2$	Agua destilada; 2 horas; 50°C	2,67	a	b	
	$a_0b_0c_1$	Etanol (90%); 1 hora; 40°C	2,51	a	b	

A partir del análisis estadístico de resultados, se determina que técnicamente la extracción de los pigmentos colorantes del maíz negro puede realizarse con cualquiera de los 4 tratamientos especificados en la Tabla 11.

La Figura 9, muestra el contenido de antocianinas en los extractos, obtenidos por varios tratamientos. Similar a lo que ocurre con el rendimiento de extracción, una mayor concentración de antocianinas se observa en los extractos obtenidos a partir de las corontas, utilizando etanol como solvente, a un tiempo de contacto de 120 minutos y cuando la extracción se lleva a cabo a 50 °C. Para determinar la veracidad de esta apreciación gráfica, se realizó el análisis de varianza, determinándose un efecto significativo de los tres factores en estudio (tipo de solvente, tiempo de contacto y temperatura de extracción). Por lo que se realizó la Prueba de Tukey al 5 % que se muestra en la Tabla 12, para categorizar los diferentes tratamientos.



**Figura 9.** Contenido de antocianinas de los extractos del maíz negro, por efecto de varios tratamientos

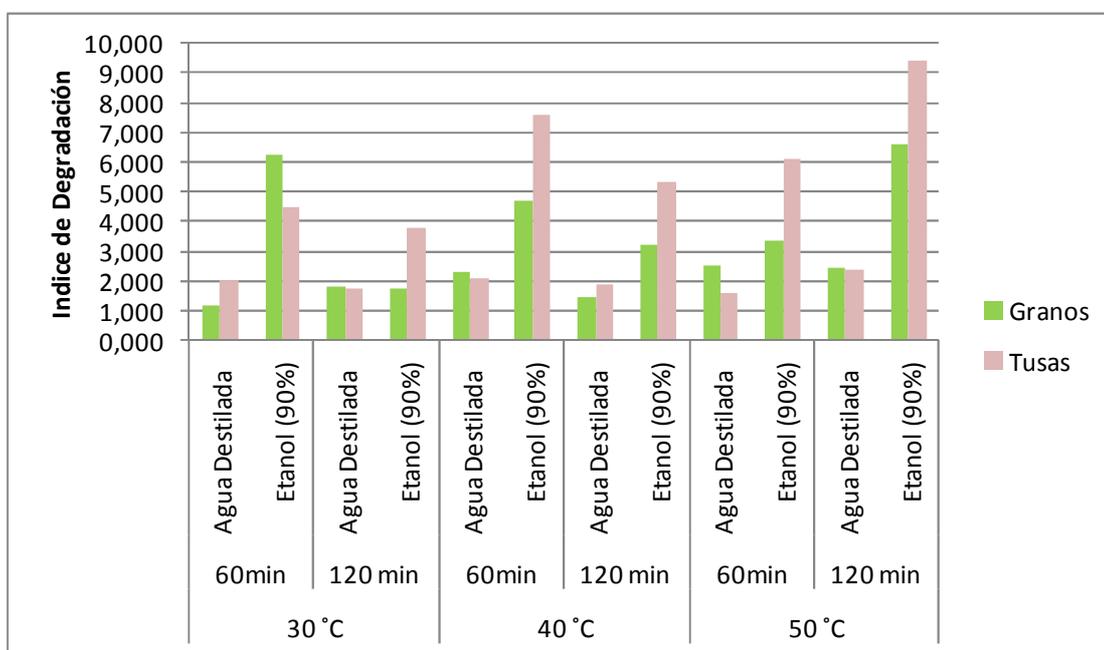
Se determinó un mayor contenido de antocianinas en los tratamientos  $a_1b_1c_2$

**Tabla 12.** Prueba de Tukey al 5% para el contenido de antocianinas del grano y corontas del maíz negro

	Tratamientos	Descripción	Promedio	Rango estadístico		
<b>Granos</b>	$a_1b_1c_2$	Etanol (90%); 2 horas; 50°C	8,89	a		
	$a_0b_1c_2$	Agua destilada; 2 horas; 50°C	7,82	a	b	
	$a_1b_1c_1$	Etanol (90%); 2 horas; 40°C	6,98		b	c
	$a_0b_1c_1$	Agua destilada; 2 horas; 40°C	6,30			c
<b>Corontas</b>	$a_1b_1c_2$	Etanol (90%); 2 horas; 50°C	10,86	a		
	$a_1b_0c_1$	Etanol (90%); 1 hora; 40°C	10,52	a	b	
	$a_0b_1c_1$	Agua destilada; 2 horas; 40°C	10,24	a	b	
	$a_0b_1c_2$	Agua destilada; 2 horas; 50°C	9,62	a	b	c

En el caso de los extractos del grano, se determinó una mayor concentración de antocianinas, aplicando los tratamientos  $a_1b_1c_2$  (etanol 90 %; 2 horas; 50 °C) y  $a_0b_1c_2$  (agua destilada; 2 horas; 50 °C), cuyos valores (8,89 y 7,82 mg GAE/100 g de muestra), no difirieron estadísticamente, compartiendo el primer rango estadístico. En el caso de las corontas, todos los tratamientos especificados en la Tabla 12, comparten el primer rango estadístico, lo que significa que una concentración similar de antocianinas puede obtenerse utilizando agua o etanol como solvente, a un tiempo de contacto de 1 o 2 horas y a una temperatura de 40 o 50 °C. Al respecto, Giusti y Wrolstad, (2001), considera que 45 °C, es una temperatura moderada para la extracción de antocianinas.

En cuanto a la degradación del color de los extractos, la Figura 10, muestra que un mayor índice de degradación del color, se produce en los extractos obtenidos a partir de las corontas, con relación al grano; cuando el proceso de extracción se realiza a 50 °C, con etanol al 90 % y a un tiempo de contacto (solvente: corontas) de 120 min



**Figura 10.** Índice de degradación del color de los extractos del maíz negro, por efecto del tipo de solvente, el tiempo y la temperatura de extracción

Para determinar la veracidad de esta apreciación gráfica, se realizó el análisis de varianza, determinándose un efecto significativo de los tres factores en estudio (tipo de solvente, tiempo de contacto y temperatura de extracción). Por lo que se realizó la Prueba de Tukey al 5 % presentada en la Tabla 13, para categorizar los diferentes tratamientos.

**Tabla 13.** Prueba de Tukey al 5% para el índice de degradación del color, del extracto del grano y las corontas del maíz negro

	Tratamientos	Descripción	Promedio	Rango estadístico	
<b>Granos</b>	$a_0b_0c_0$	Agua destilada; 1 hora; 30°C	1,19	a	
	$a_0b_1c_0$	Agua destilada; 2 horas; 30°C	1,42	a	b
	$a_1b_0c_1$	Etanol (90%); 1 hora; 40°C	1,75	a	b
	$a_0b_0c_1$	Agua destilada; 1 hora; 40°C	1,78	a	b
<b>Corontas</b>	$a_0b_1c_1$	Agua destilada; 2 horas; 40°C	1,60	a	
	$a_0b_0c_1$	Agua destilada; 1 hora; 40°C	1,74	a	
	$a_0b_1c_0$	Agua destilada; 2 horas; 30°C	1,91	a	b
	$a_0b_0c_0$	Agua destilada; 1 hora; 30°C	1,99	a	b

Si bien un menor valor numérico (1,19), para el índice de degradación se obtiene con agua destilada, a una hora de contacto y a una temperatura de 30 °C, sin embargo, este valor no difiere estadísticamente del obtenido con los demás tratamientos especificados en la Tabla 13, puesto que comparten el primer rango estadístico. Estos resultados muestran que a los niveles de temperatura ensayados, la degradación del color no fue relevante, lo que concuerda con lo señalado por Rebolledo, (2007); Gorriti *et al.*, (2009), quienes mencionan, que a temperaturas menores a 70 °C la degradación de color de los pigmentos obtenidos de las antocianinas es mínima, manteniéndose estables alrededor del 98 %, después del calentamiento.

Sin embargo Cuevas *et al.*, (2008), señala que las antocianinas son pigmentos estables en la naturaleza (frutas, verduras), pero cuando son extraídas de su

matriz original, son susceptibles a la oxidación por diferentes factores, lo cual puede estimarse a través del índice de degradación.

En base a los resultados obtenidos, se seleccionaron los tratamientos especificados en la Tabla 14, para la determinación de las coordenadas colorimétricas.

**Tabla 14.** Tratamientos seleccionados para la determinación de las coordenadas colorimétricas

Tratamientos			Descripción
Granos	T1	$a_0b_0c_0$	Agua destilada; 1 hora; 30°C
	T2	$a_0b_1c_1$	Agua destilada; 2 horas; 40°C
	T3	$a_0b_1c_2$	Agua destilada; 2 horas; 50°C
	T4	$a_1b_1c_2$	Etanol (90%); 2 horas; 50°C
Corontas	T1	$a_0b_1c_0$	Agua destilada; 2 horas; 30°C
	T2	$a_0b_1c_1$	Agua destilada; 2 horas; 40°C
	T3	$a_0b_1c_2$	Agua destilada; 2 horas; 50°C
	T4	$a_1b_1c_2$	Etanol (90%); 2 horas; 50°C

En la Tabla 15, constan los parámetros de color de los extractos del grano y las corontas, obtenidos mediante los 8 tratamientos seleccionados anteriormente.

Analizando con base en la Figura 11, el parámetro  $a^*$  de los extractos de los granos, presentó el mayor valor de tonalidad roja (7,74) con el tratamiento T2 (extracción con agua, durante 2 horas a 40 °C).

Mientras que el extracto preparado con el tratamiento 3 (extracción con agua, por 2 horas a 50 °C) presentó un menor valor del componente  $a^*$ , hasta un valor de 1,32 debido a que este tratamiento si bien tiene un elevado rendimiento el índice de degradación del mismo es bastante alto lo que afecta directamente al color del extracto.

En los extractos de las corontas los valores del componente  $a^*$  tendieron hacia la tonalidad verde, y solo en los extractos preparados con el tratamiento 4

(extracción con etanol 90 %, por 2 horas a 50 °C) y tratamiento 3 (extracción con agua, por 2 horas a 50 °C), la coordenada  $a^*$  presentó una tonalidad rojiza, con un valor de 3,407 y 2,073 respectivamente.

En cuanto al parámetro  $b^*$ , todos los tratamientos permitieron obtener extractos de tonalidad azul ( $b^-$ ), a excepción del tratamiento 4, aplicado a las corontas, cuya tonalidad se orientó al color amarillo esto puede ser efecto de la degradación del extracto ya que como se puede observar en el Anexo 3, este tratamiento es el que presenta el mayor índice de degradación.

El valor C mide la intensidad del color, determinándose un color rojo intenso (7,76) en el extracto del grano obtenido con el tratamiento 2 (extracción con agua, durante 1 hora a 40 °C) y en el extracto de las corontas una intensidad del color de 3,492 obtenido con el tratamiento 3 (extracción con agua, por 2 horas a 50 °C).

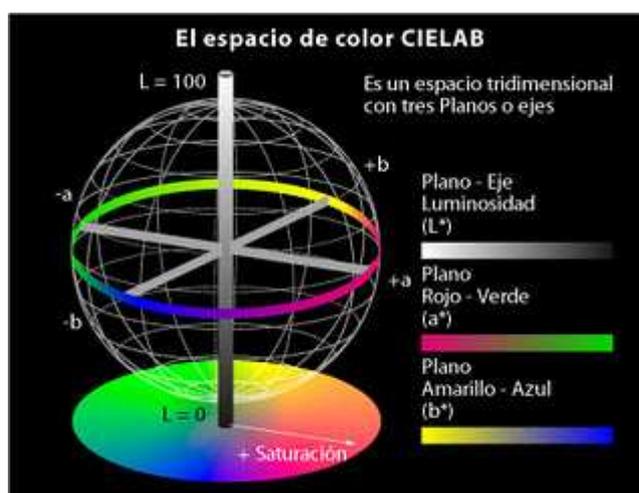
El valor del parámetro luminosidad ( $L^*$ ) muestra que los extractos del grano obtenidos con el tratamiento T4 son más oscuros, con un valor de 23,06. Los extractos de las corontas obtenidos con el tratamiento T2, presentaron una menor luminosidad (23,35).

El valor H o ángulo Hue indica una mayor tonalidad púrpura oscura, con valores cercanos a 270°. Se encontraron diferencias significativas en los parámetros  $H^\circ$ ,  $L^*$ ,  $a^*$  y  $C^*$ , de los extractos obtenidos a diferentes temperaturas y tiempos de proceso.

El tratamiento que presentó un color púrpura más oscuro, característico de los extracto de maíz negro fue el T2 (extracción con agua, durante 2 horas, a 40 °C) en el caso de los granos y T3 (extracción con agua, durante 2 horas a 50 °C) en el caso de las corontas, por lo tanto en base al análisis de todos las variables de estudio (rendimiento, antocianinas, índice de degradación y color) estos fueron los tratamientos que tienen las mejores características y con los que se va a continuar con los siguientes parámetros de la investigación.

**Tabla 15.** Parámetros de color de los extractos de granos y corontas, preparados con los tratamientos seleccionados

	Tratamientos	Angulo (H)	Cromaticidad ( C )	a*	b*	L*
Granos	T1	356,108	1,412	1,373	-0,330	25,720
	T2	346,489	7,761	7,743	-0,527	26,790
	T3	348,559	1,349	1,327	-0,243	25,423
	T4	350,902	2,723	2,617	-0,750	23,066
Corontas	T1	256,446	1,172	-0,273	-1,140	23,620
	T2	246,852	0,559	-0,220	-0,513	23,353
	T3	265,387	3,492	2,073	-0,910	23,450
	T4	372,758	0,913	3,407	0,760	23,427



**Figura 11.** Coordenadas del color según el sistema CIELAB (El abc de los sistemas, 2010)

### 3.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL EXTRACTO COLORANTE SÓLIDO

El análisis químico que se presenta en la Tabla 16 muestra que el componente predominante del extracto sólido de los granos y las corontas son los compuestos fenólicos, dentro de los cuales se encuentran las antocianinas las mismas que son las que aportan la mayor parte de pigmentos rojos, azules y púrpuras (Zeiger *et al.*, 2006).

**Tabla 16.** Composición química del extracto colorante sólido proveniente de los granos y de las corontas analizada en base seca

Componentes	Valores	
	Granos	Corontas
Antocianinas (mg de cianidina 3- $\beta$ glucósido)/g muestra	13,9 $\pm$ 1	22,68 $\pm$ 1,05
Taninos	n.d	n.d
Nitratos (mg/100 g de muestra )	0,004 $\pm$ 0,001	0,009 $\pm$ 0,001
Acido oxálico (%)	1,3 $\pm$ 0.1	0,10 $\pm$ 0.01
Compuestos fenólicos mg GAE/g de muestra	193,8 $\pm$ 1	277,34 $\pm$ 0.57

n.d. = no detectable

En el extracto colorante de las corontas se registró mayor contenido de compuestos fenólicos (277,34 mg GAE/100 g de muestra) y antocianinas (22,68 mg de cianidina 3- $\beta$  glucósido/g de muestra), mientras que el extracto del grano presentó 193,85 mg GAE/g muestra y 13,92 mg de cianidina 3- $\beta$  glucósido/g de muestra.

Estos valores se correlacionaron con el análisis de color mostrado anteriormente el cual nos mostraba que el extracto de las corontas tiene un menor valor del ángulo Hue es decir un color púrpura más oscuro lo que se presume se debe al elevando contenido de antocianinas de este extracto, resultado que concuerda con el obtenido por Bolívar (2003).

Estos resultados son importantes ya que las corontas, actualmente son consideradas como desechos sólidos, pueden llegar a tener un interés económico como fuente potencial de antocianinas, compuestos que además de su papel funcional como colorantes, son agentes potenciales en la obtención de productos con valor agregado para el consumo humano, debido a que se presume ayuda a prevenir enfermedades coronarias, cáncer, diabetes, (Bolívar, 2003).

Se realizaron pruebas preliminares de los extractos de los granos y de las corontas, con los cuales se descartó la presencia de taninos, compuestos fenólicos muy astringentes y de gusto amargo.

En los extractos del grano se determinó una mayor concentración de ácido oxálico (1,31 g/100 g) que la reportada para la acelga (700 mg/100 g) y la espinaca (600 mg/100 g), plantas que contienen las mayores cantidades de ácido oxálico dentro del grupo de los vegetales, es decir que tiene una concentración bastante elevada de ácido oxálico lo que es una desventaja ya que este compuesto es el causante de cálculos renales (Casalderrey, 2004).

En contraste al extracto del grano, en el de las corontas, se detectó una menor concentración de ácido oxálico (0,108 g/100 g), esta diferencia puede atribuirse al mecanismo de regulación de los niveles de calcio, establecidos por la planta (Jáuregui y Moreno, 2004).

Este compuesto ha sido observado en la mayoría de tejidos vegetales y puede representar más del 85 % del peso seco de algunas especies. Es considerado tóxico, ya que puede provocar la quelación del calcio, ocasionando daños renales tanto en humanos como animales (Jáuregui y Moreno, 2004). En algunos casos, cerca del 90 % del calcio total en la planta puede encontrarse secuestrado en forma de cristales de oxalato de calcio.

También se evaluó la presencia de nitratos en los extractos, estos compuestos pueden tener su origen en la fertilización masiva de la planta con compuestos inorgánicos, se reducen a nitritos y producen graves problemas toxicológicos como la metahemoglobinemia (Maroto, 1990; Hill, 1991). En los extractos del grano y de las corontas se detectaron niveles de nitratos (0,004 y 0,009 mg/100 g) inferiores al valor máximo permisible para productos vegetales (200 mg/100 g de producto comestible) (Valle y Lucas, 2000)

Adicionalmente se realizó la caracterización física del colorante sólido de los granos y de las corontas cuyos resultados están expresados en la Tabla 17.

La humectabilidad, dispersabilidad y solubilidad son propiedades que están relacionadas con la micro estructura de las muestras ya que al humectarse, dispersarse y solubilizarse más rápidamente significa que los aglomerados tienen mayor superficie libre y por tanto poros más grandes que van a permitir un mejor

contacto del agua con la superficie de las partículas y mejores propiedades de hidratación (Congreso iberoamericano de ingeniería en alimentos, 2007).

**Tabla 17.** Caracterización física del colorante de los granos y de las corontas

<b>Granos</b>	Aw	0,530
	Humectabilidad (s)	145
	IAA	0,350
	ISA	0,281
	pH	0,494
	Dispersabilidad (%)	95,92
<b>Corontas</b>	Aw	0,440
	Humectabilidad (s)	129
	IAA	0,420
	ISA	0,290
	pH	0,584
	Dispersabilidad (%)	96,72

El colorante de las corontas presentó un menor tiempo de humectabilidad (129 s), mayor índice de solubilidad (0,290) y la dispersabilidad de (96,72%), los que nos indica que el extracto de las corontas tiene mejores propiedades de hidratación que el de los granos, estas características indica que el extracto es muy soluble lo que es positivo el momento de utilizar este extracto como de aditivo alimenticio.

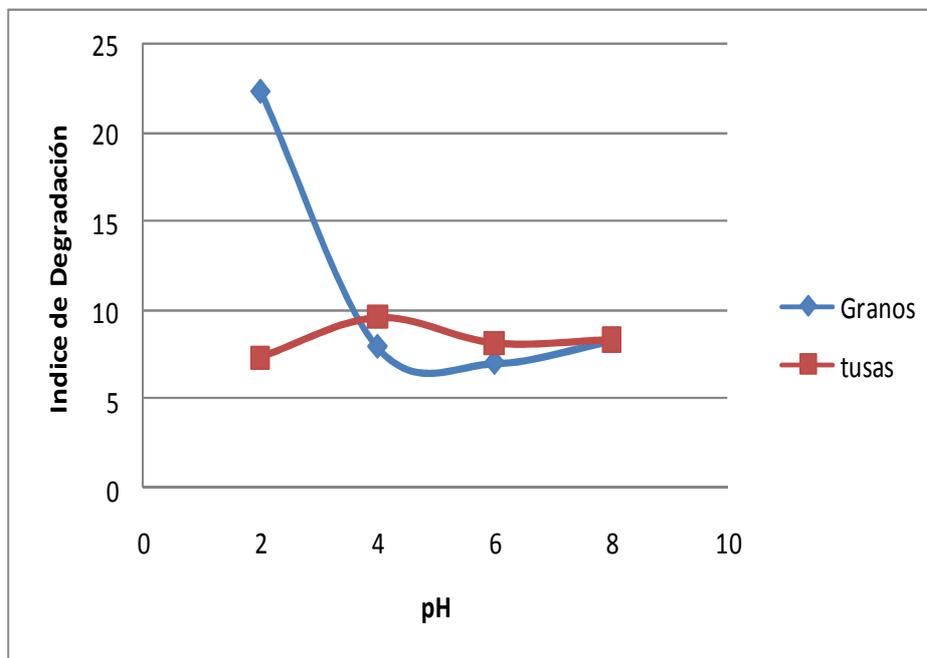
### **3.3 ESTABILIDAD DEL EXTRACTO COLORANTE, A DIFERENTES CONDICIONES DE PROCESO Y ALMACENAMIENTO**

#### **3.3.1 EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN**

La estabilidad del extracto líquido, se evaluó a diferentes condiciones de pH (2, 4, 6, 8) y temperatura (10, 30, 50, 70, 90 °C).

El extracto colorante de los granos, presentó mayor estabilidad (menor índice de degradación del color) a valores de pH 4 y 6 como se observa en la Figura 12,

mientras que el extracto obtenido a partir de las corontas fue más estable a pH 2 y 6.



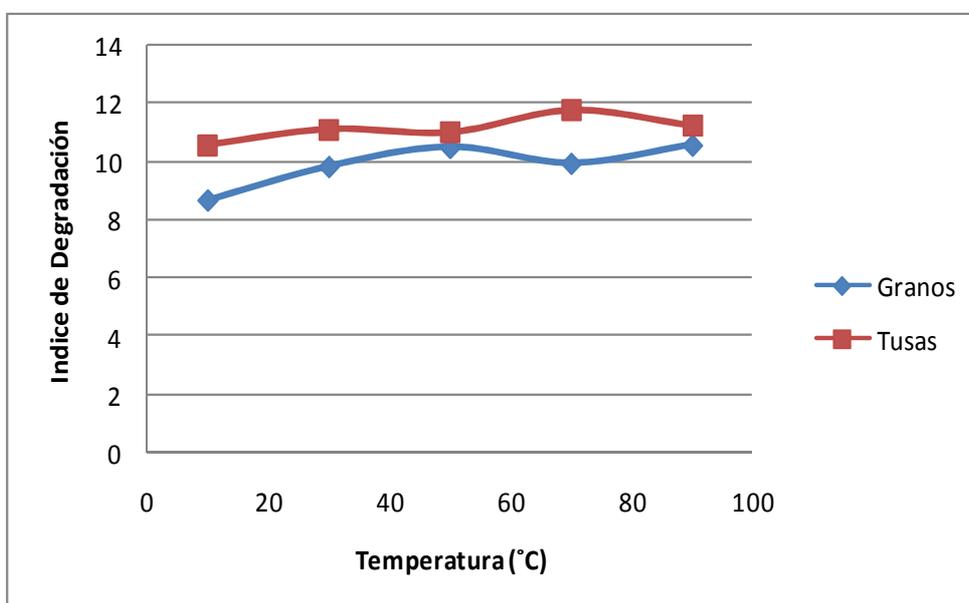
**Figura 12.** Efecto del pH en el índice de degradación del color, de los extractos obtenidos a partir de los granos y corontas del maíz negro

Este resultado tiene relación con el contenido de antocianinas; compuestos que se encuentran en mayor proporción en el extracto de las corontas y experimentan un incremento en el índice de degradación del color, especialmente a pH 4. Al respecto, Brouillard, (1982), señala que a valores de pH débilmente ácidos, neutros y básicos, el carbinol y las formas de base quinoidal dominan al catión flavilium, así que el color se destiñe, cambia de rojo a azul o negro. En medios fuertemente ácidos las antocianinas se encuentran presentes predominantemente en su forma roja coloreada como cationes flavilium.

Con respecto a la temperatura, el índice de degradación del color (In D) de los extractos del grano y las corontas, mostró un comportamiento similar entre ellos, tendiendo a incrementarse el In D a temperaturas superiores a los 30 °C hasta un valor de 12 para el extracto de las corontas a 70 °C y un valor de 10 para el

extracto del grano, como se observa en la Figura 13, además no indica que el extracto colorante de los granos, presentó mayor estabilidad a 10 °C y 30 °C, mientras que el extracto obtenido a partir de las corontas fue más estable a 10 °C y 50 °C.

Al respecto Garzón, (2008), señala que a medida que aumenta la temperatura, se produce una pérdida del azúcar en la posición 3 de la molécula de antocianina y la apertura de anillo con la consecuente producción de chalconas incoloras, degradando el color.



**Figura 13** Efecto de la temperatura en el índice de degradación del color, de los extractos obtenidos a partir del grano y las corontas del maíz negro

Con los resultados preliminares obtenidos de las temperaturas y los valores de pH a los que los extractos de los granos y de las corontas presentaron mayor estabilidad se realizó el análisis estadístico del cual se obtuvo los siguientes resultados.

El análisis de varianza para el índice de degradación del color en el extracto del grano, muestra un efecto significativo de la interacción pH \* Temperatura de

extracción indicado en la Tabla 18. Esto nos indica que si sometemos al extracto de los granos a las temperaturas o a los valores de pH previamente determinados, los mismos no afectan de forma significativa en cuanto al nivel de degradación de colorante.

**Tabla 18.** Análisis de varianza para el índice de degradación del color en el extracto del grano de maíz negro

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F <sub>0</sub>	F (95%)	Probabilidad
pH	0,100	1	0,096	1,889	5,987	0,218
Temperatura	0,030	1	0,028	0,552	5,987	0,486
Repetición	0,290	2	0,147	2,879	5,143	0,133
pH * T	5,140	1	5,139	100,782	5,987	5,66E-05
Error	0,310	6	0,051			
Total	5,860	11				

Coefficiente de variación: 3,05

**Tabla 19.** Prueba de Tukey para el índice de degradación del color del extracto del grano, en la interacción pH vs Temperatura.

Tratamientos	Factores		Promedio	Rangos	
	pH	T			
2	1	2	6,60	a	
3	2	1	6,88	a	
1	1	1	8,01		b
4	2	2	8,09		b

pH 1= 4 y pH 2= 6 ; T1= 10°C y T2=30°C

Con la prueba de Tukey al 5 %, existe un menor índice de degradación del color de los extractos que fueron sometido a los tratamientos T2 y T3 los cuales se ubicaron en el primer rango estadístico (a), como se muestra en la Tabla 19.

Con estos resultados se puede ver que los valores de pH ligeramente ácidos y temperaturas del solvente entre 10 °C a 30 °C, ayudan a preservar mejor el color del extracto del grano.

El análisis de varianza que se presenta en la Tabla 20, muestra un efecto significativo del pH y la temperatura en el índice de degradación del color del extracto de las corontas.

**Tabla 20.** Análisis de varianza para el índice de degradación del color en el extracto de las corontas del maíz negro

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F0	F 95%	Probabilidad
pH	15,690	1	15,689	60,267	5,987	0,00**
Temperatura	3,540	1	3,544	13,612	5,987	0,01**
Repetición	0,070	2	0,036	0,139	5,143	0,87
pH * T	0,230	1	0,227	0,873	5,987	0,38
Error	1,560	6	0,260			
Total	21,090	11				

\*\*Altamente significativo

Coefficiente de variación: 6,11

Con la prueba de Tukey al 5% que se puede observar en la Tabla 21, se precisó que en el extracto de las corontas, al igual que en el de los granos, todos los tratamientos tienen el mismo efecto sobre el índice de degradación, es decir que todos le afectan de la misma manera, por esta razón todos los tratamientos se ubicaron en el primer rango estadístico (a).

Estos resultados concuerdan con la recomendación realizada por Linden y Lorient 1994, respecto utilizar colorantes con antocianinas en la zona del pH entre 3,5 a 6,0 para lograr colores que van desde el rojo violáceo hasta el rojo cereza.

En la Tabla 22 se puede observar que en los tratamientos de los granos y de las corontas el efecto de los diferentes pHs y las temperaturas es similar en la variación de color.

**Tabla 21.** Prueba de Tukey para el índice de degradación del color del extracto de las corontas, en la interacción pH vs Temperatura.

Tratamiento	Factores		Promedio	Rango estadístico
	pH	T		
3	2	1	6,800	a
4	2	2	7,610	a
1	1	1	8,810	a
2	1	2	10,170	a

pH 1= 2 y pH 2= 6 ; T1= 10°C y T2=50°C

**Tabla 22.** Variación del color de los extractos de los granos y las corontas en base a la interacción pH vs Temperatura

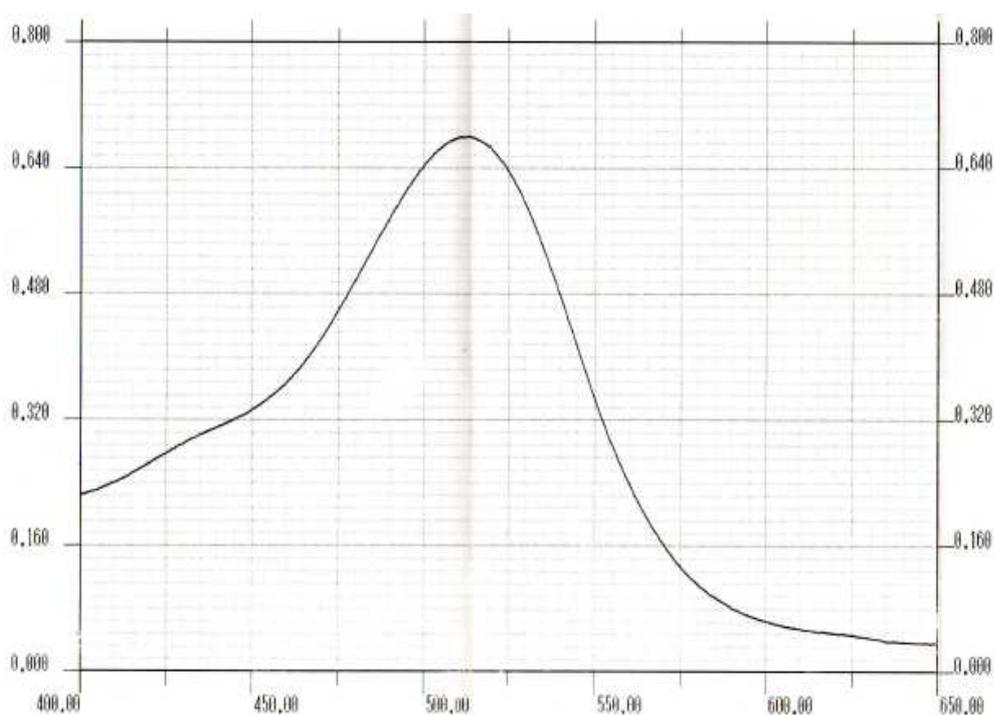
Tratamiento	pH	T	$\Delta E^*$ (Granos)	$\Delta E^*$ (Corontas)
1	1	2	0,219	0,179
2	2	1	0,203	0,118
3	1	1	0,216	0,219
4	2	2	0,194	0,22

Se puede observar que los valores obtenidos en la variación de color de los extractos de los granos y de las corontas son bajos, lo que se debe a que las antocianinas son estables a los rangos de pH y temperatura analizados.

### 3.3.2 EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL EXTRACTO COLORANTE SÓLIDO Y LÍQUIDO, A DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

En la Figura 14 se muestra un barrido entre 400 y 650 nm en el que se puede observar que el extracto colorante del maíz negro tiene un máximo de absorción de 515 nm lo que se presume que el mismo contiene antocianinas lo que concuerda con Wrolstad, 2004, que indica que las antocianinas tienen una banda de absorción entre 490 y 550 nm de región de espectro visible.

Según Vasco *et al.*, 2009, las antocianinas del tipo de las cianidinas tienen un rango máximo de absorción de 516 a 520nm, lo que nos permite decir que las antocianinas mayoritarias en el extracto colorante del maíz negro son las cianidinas, posiblemente la cianidina3- $\beta$  glucósido, lo que concuerda con Aoki *et al.*, 2002.



**Figura 14.** Rastreo de la longitud de onda máxima de absorción del extracto colorante del maíz negro

### 3.3.2.1 Estabilidad del extracto en estado líquido

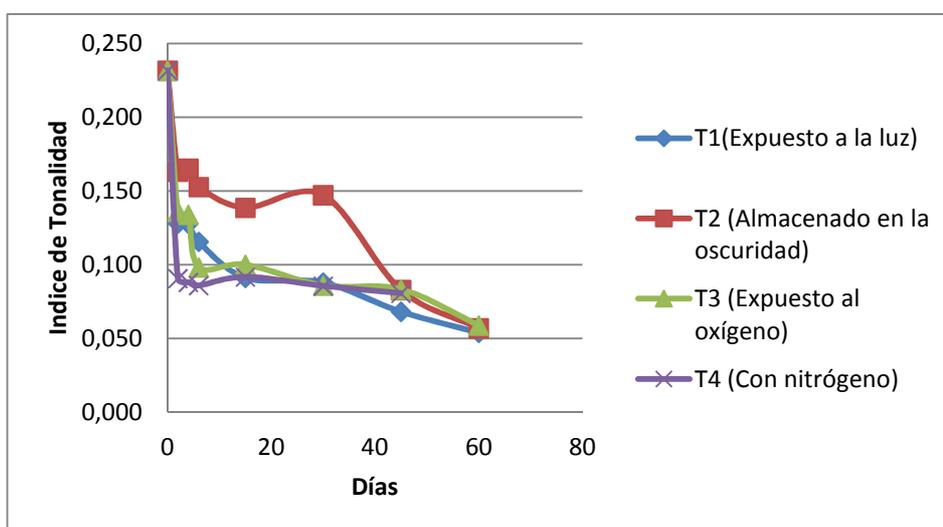
Las pruebas de estabilidad se realizaron al pH natural del extracto, tanto de los granos (pH 5,27) como de las corontas (pH 5,30), se trabajó a estos valores de pH ya que con este estudio se desea conocer el tiempo de duración del extracto sin ninguna modificación en su composición.

A los 4 días de almacenamiento, los extractos líquidos envasados en frascos color ámbar y almacenados bajo condiciones ambientales (65 % de Humedad Relativa, 17 °C), presentaron crecimiento de hongos, lo que modificó sustancialmente el color, la apariencia y la calidad microbiológica de los extractos.

Debido a esto se decidió la inclusión de sorbato de potasio al 0,02 %, un agente fungistático que inhibe la acción de determinados microorganismos como hongos y levaduras (Cubero *et al.*, 2002).

El extracto líquido de los granos así preparado, envasado en frasco de polietileno color ámbar y en atmósfera modificada con nitrógeno inerte (10 kg/cm<sup>2</sup>, 1 min.) presentó una caída súbita del índice de tonalidad a 0,09 y un aumento del índice de degradación del color de 11 a los dos días de, manteniendo estos valores hasta los 30 días, cuando se detectó un nuevo decrecimiento del índice de tonalidad hasta un valor de 0,05 y un incremento del índice de degradación hasta un valor de 13.

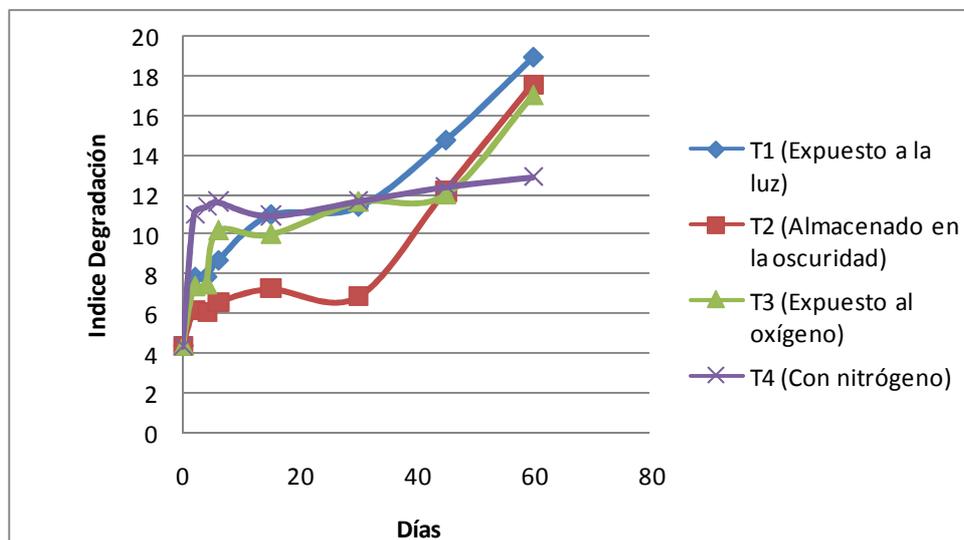
Un comportamiento similar mostraron los extractos líquidos expuestos en forma permanente a la luz y al oxígeno del aire, como se puede ver en la Figura 15.



**Figura 15.** Índice de tonalidad del extracto líquido de los granos sometido a diferentes condiciones de almacenamiento

En la Figura 16 se observa que el tratamiento que experimentó una menor disminución del índice de tonalidad e incremento del índice de degradación del color fue el extracto líquido de los granos, almacenado en la oscuridad, resultado que contradice la afirmación de Linden y Lorient, 1996, respecto a que los extractos colorantes ricos en antocianinas son insensibles a la luz y al calor.

En este estudio se observó un mayor efecto de la luz, antes que del oxígeno, en la tonalidad y la degradación del color.

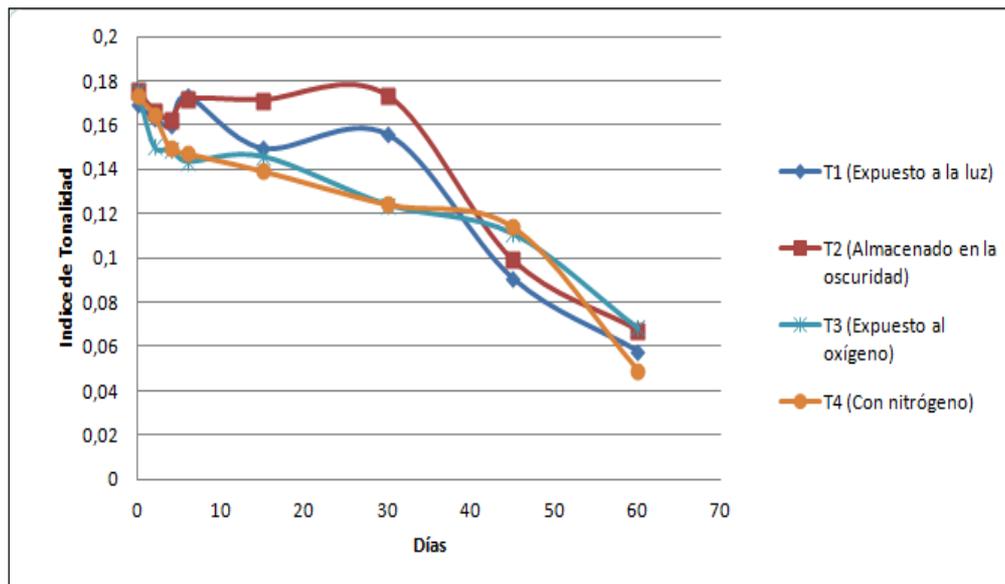


**Figura 16.** Índice de degradación del extracto líquido de los granos sometido a diferentes condiciones de almacenamiento

La Figura 17, muestra que los extractos líquidos de las corontas, son más estables que los extractos del grano; los primeros sufrieron una ligera disminución del índice de tonalidad del color en los 6 días de almacenamiento, manteniéndose estos valores (0,14 - 0,17) hasta los 30 días, cuando se inició una notable disminución hasta un valor de 0,05.

Entre los tratamientos evaluados, el almacenado en la obscuridad, preservó mejor el índice de tonalidad del color, mostrando una disminución del 12 % a los dos días de almacenamiento.

Esta disminución del índice de tonalidad fue mínima en comparación con la pérdida del color experimentada por el extracto líquido del grano (62,5 %), en el mismo periodo y condiciones de almacenamiento.

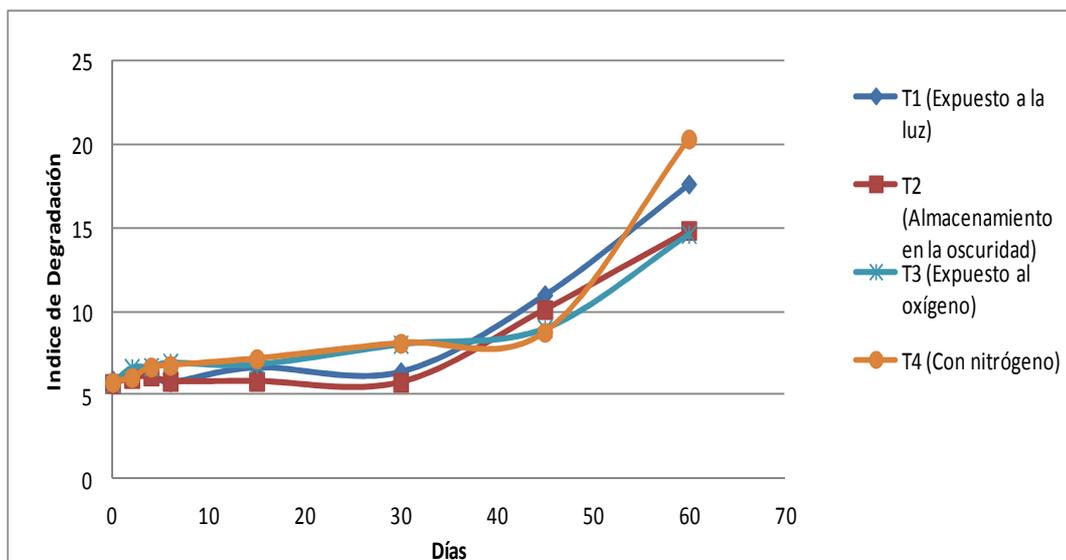


**Figura 17.** Índice de tonalidad del extracto líquido de las corontas sometido a diferentes condiciones de almacenamiento

El índice de degradación del color del extracto líquido de las corontas, experimentó un aumento del 20 %, con respecto al extracto inicial (tiempo 0) en los primeros 6 días de almacenamiento, manteniéndose este valor hasta los 30 días, cuando se inicia un incremento gradual hasta un valor de 20, en el caso del extracto envasado con nitrógeno, lo que se puede observar en la Figura 18.

En general el extracto líquido de las corontas es más estable que el extracto del grano, lo que hace suponer que en el proceso de extracción del colorante, algunos nutrientes del grano, migran hacia la fase líquida, aumentando la susceptibilidad de estos extractos al deterioro.

Otro factor que puede influir en la estabilidad de los extractos, es el contenido de antocianinas porque las antocianinas pueden formar enlaces entre ellas y de esta manera aumenta su estabilidad (Fennema, 2000), las mismas que se encuentran en mayor proporción en los extractos de las corontas.



**Figura 18.** Índice de degradación del extracto líquido de las corontas sometido a diferentes condiciones de almacenamiento

El análisis estadístico de los resultados expuestos, consta en la Tabla 23, en la que se observa un efecto significativo de los tratamientos aplicados y el tiempo de almacenamiento en el índice de degradación del color del extracto líquido del grano, a diferentes condiciones de almacenamiento.

**Tabla 23.** Análisis de varianza para el índice de degradación del extracto líquido del grano a diferentes condiciones de almacenamiento

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F0	F 95%	Probabilidad
Tratamiento	96,960	3	32,321	17,479	2,712	0,000**
Días	977,850	7	139,693	75,544	2,119	0,000**
Error	157,180	85	1,849			
Total	1231,990	95				

\*\*Altamente significativo

Coefficiente de Variación: 13.92

**Tabla 24.** Prueba de Tukey al 5% para el índice de degradación del extracto líquido del grano a diferentes condiciones de almacenamiento

Tratamiento	Promedio	Rango estadístico	
T2	8,15	a	
T3	9,95	a	b
T1	10,05		b
T4	10,92		b

**Tabla 25.** Análisis de varianza para el índice de degradación del extracto líquido de las corontas a diferentes condiciones de almacenamiento

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F0	F 95%	Probabilidad
Tratamiento	23,510	3	7,835	6,831	2,712	0,000**
Días	1267,930	7	181,132	157,911	2,119	0,000**
Error	97,500	85	1,147			
Total	1388,930	95				

\*\*Altamente significativo

Coefficiente de Variación: 12,92

En base a la prueba de Tukey al 5 % presente en la Tabla 24, se identificó que el tratamiento 2 (extracto almacenado en la oscuridad), presenta un menor índice de degradación del color, con un valor de 8,15 demostrando que el extracto colorante es fotosensible.

Para el extracto colorante de las corontas, en la Tabla 25 se encontró efecto significativo de los tratamientos realizados y del tiempo de almacenamiento.

En la Tabla 26 se determinó un menor índice de degradación de color (7,62) con el tratamiento 2, almacenando el extracto en la oscuridad.

**Tabla 26.** Prueba de Tukey al 5% para el índice de degradación del extracto líquido de las corontas a diferentes condiciones de almacenamiento

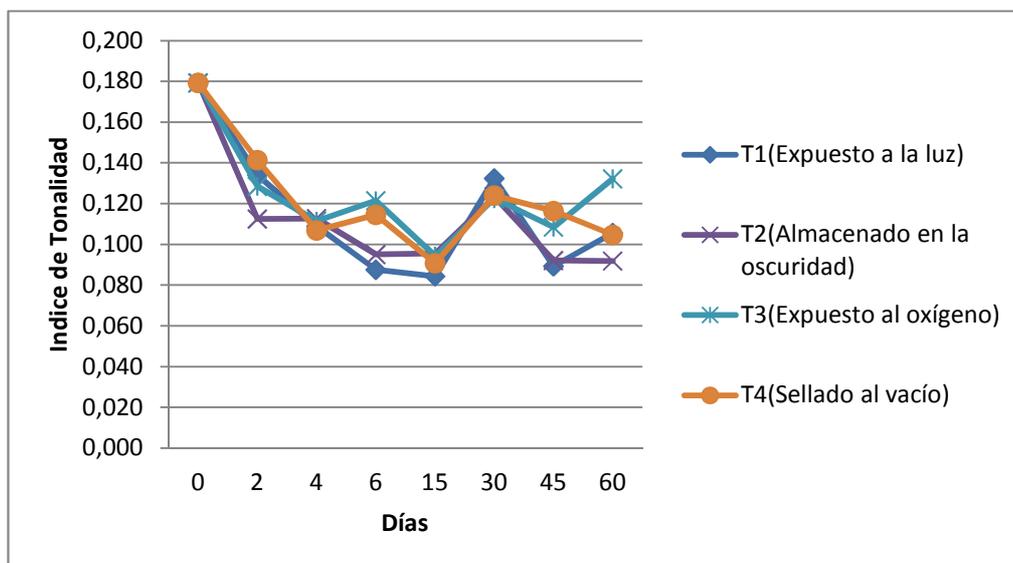
<b>Tratamiento</b>	<b>Promedio</b>	<b>Rango estadístico</b>	
T2	7,62	a	
T3	8,08	a	b
T1	8,5	a	b
T4	8,95		b

Del análisis de las Tablas 23 y 25 podemos determinar que el tiempo de almacenamiento es un factor determinante en la estabilidad de los extractos ya que en todos los tratamientos realizados la degradación del color aumenta con el paso de los días en mayor o menor proporción.

### 3.3.2.2 Estabilidad del extracto en estado sólido

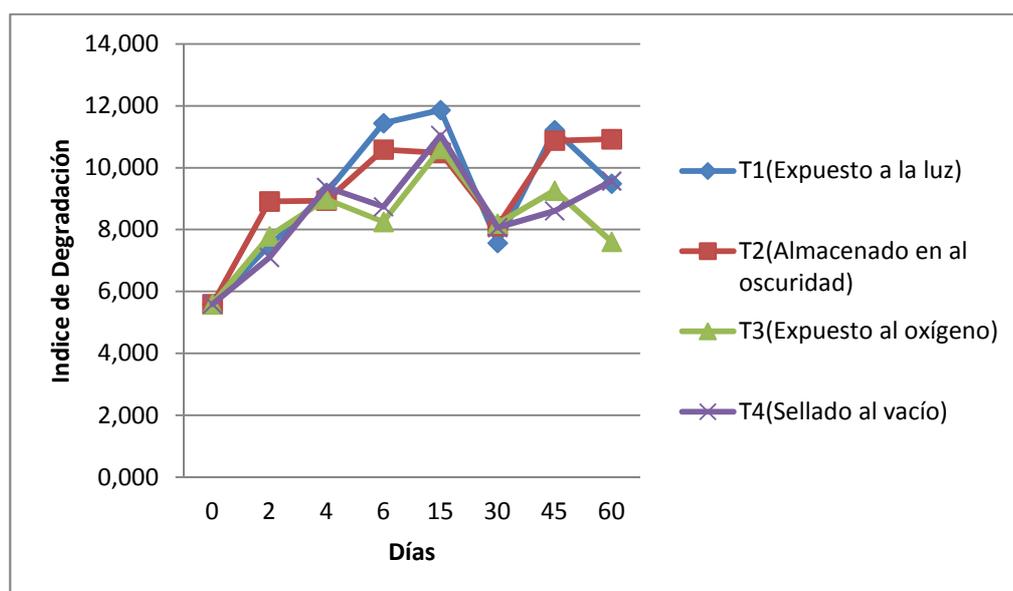
La estabilidad del extracto sólido, bajo diferentes condiciones de almacenamiento fue evaluada por un periodo de 60 días.

En la Figura 19, se ilustra la variación del índice de tonalidad del extracto sólido del grano, con el tiempo de almacenamiento. Se observa una disminución gradual del índice de tonalidad hasta los 15 días de almacenamiento, manteniéndose estable a partir de este tiempo hasta los 60 días. En este caso, la exclusión de la luz y la modificación de la atmosfera dentro del envase, no tuvieron efecto en la preservación de la tonalidad del extracto, que se vio afectado con todos los tratamientos aplicados, disminuyendo hasta un valor de 0,08.



**Figura 19.** Variación del índice de tonalidad del color, en el extracto sólido del grano, con el tiempo de almacenamiento

Igualmente el índice de degradación del color se incrementó hasta un valor de 12, durante 15 días de almacenamiento, tendiendo a mantenerse a partir de este tiempo, lo que se puede ver en la Figura 20.



**Figura 20.** Variación del índice de degradación del color en el extracto sólido del grano, con el tiempo de almacenamiento

Para determinar si los resultados expuestos son estadísticamente significativos, se realizó el análisis de varianza de los mismos, presentado en la Tabla 27, determinándose un efecto representativo de la condición y el tiempo de almacenamiento en el índice de degradación del color.

**Tabla 27.** Análisis de varianza para el índice de degradación del color en el extracto sólido del grano, a diferentes condiciones y tiempos de almacenamiento

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F0	F95%	Probabilidad
Tratamiento	18,660	3	6,220	9,252	2,712	0,000**
Días	234,250	7	33,464	49,776	2,119	0,000**
Error	57,150	85	0,672			
Total	310,060	95				

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de Variación: 9.28

En el análisis de Tukey al 5% mostrado en la Tabla 28 se puede observar que el T3 (Expuesto al O<sub>2</sub>) y el T4 (Sellado al vacío) son iguales y tienen un menor efecto de sobre la degradación del extractos, lo que nos indica que la presencia o ausencia del oxígeno no afecta en la estabilidad del extracto sólido.

**Tabla 28.** Prueba de Tukey al 5 % para el índice de degradación del color en el extracto sólido del grano, a diferentes condiciones de almacenamiento

Tratamiento	Promedio	Rango Estadístico		
T3	8,28	a		
T4	8,51	a	b	
T1	9,23		b	c
T2	9,30			c

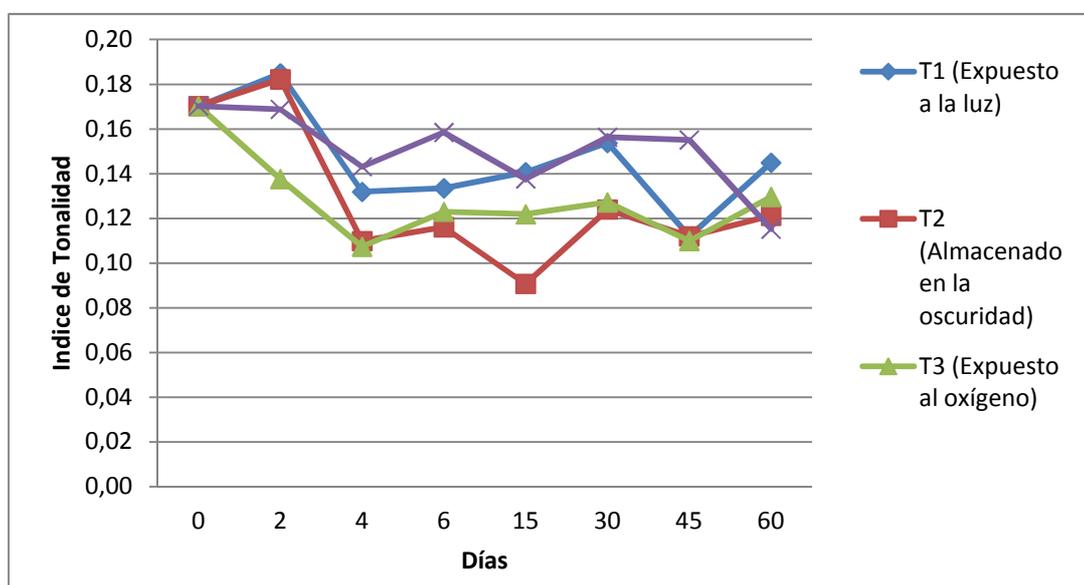
Estos puede ser debido al estado físico (sólido) en el que se encuentra el extracto impidiendo así el ingreso del oxígeno al interior de las partículas, a diferencia del

extracto líquido donde en el medio acuoso en el que esta disuelto el mismo ya existen moléculas de  $O_2$ .

Similar a lo que ocurre con el extracto del grano como indica la Figura 21, el índice de tonalidad de las corontas disminuye gradualmente hasta los 15 días de almacenamiento, con un comportamiento inusual a partir de este tiempo.

El extracto almacenado en la oscuridad experimentó una mayor disminución del índice de tonalidad, lo que hace suponer la influencia de otros factores como la actividad de agua y la concentración del colorante, en su estabilidad, ya que según Sing, 1997 las antocianinas son inestables al ser expuestas a la luz sea esta visible o ultravioleta.

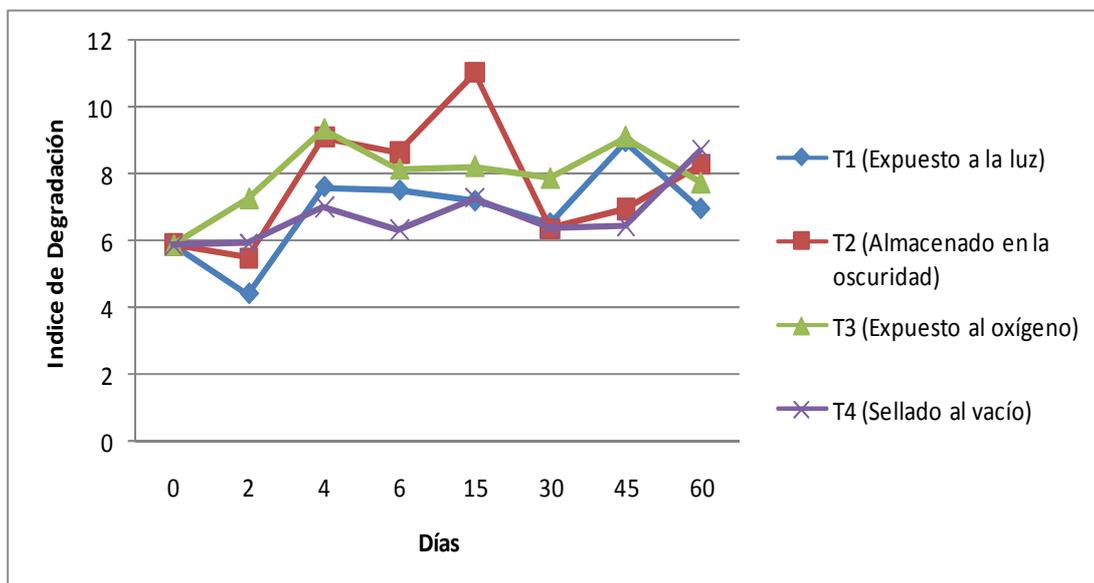
Al respecto Garzón, 2008, señala que un incremento en la actividad de agua del medio causa degradación de las antocianinas y del color.



**Figura 21.** Variación del índice de tonalidad del color en el extracto sólido de las corontas, a diferentes condiciones y tiempo de almacenamiento

En la Figura 22 se indica como en el extracto sólido de los granos, el índice de degradación del color se incrementó hasta los 15 días de almacenamiento, con un

comportamiento irregular a partir de este tiempo. El extracto sellado al vacío, mostró un menor índice de degradación del color.



**Figura 22.** Variación del índice de degradación del color en el extracto sólido de las corontas, a diferentes condiciones y tiempo de almacenamiento

El análisis de varianza indicado en la Tabla 29, mostró influencia significativa de las condiciones y el tiempo de almacenamiento en el índice de tonalidad del color del extracto sólido proveniente de las corontas.

**Tabla 29.** Análisis de varianza para el índice de tonalidad del color en el extracto sólido de las corontas, a diferentes condiciones y tiempo de almacenamiento

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F0	F95%	Probabilidad
Tratamiento	35,480	3	11,827	17,897	2,712	0,000**
Días	87,260	7	12,466	18,863	2,119	0,000**
Error	56,170	85	0,661			
Total	178,910	95				

\*\* Altamente significativo

Coefficiente de Variación: 10,89

Con la prueba de Tukey al 5 % presentada en la Tabla 30, se determinó que los extractos sellados al vacío (tratamiento 4) y expuestos a la luz (tratamiento 1), sufrieron una menor degradación del color ubicándose en el rango estadístico "a". En este caso la luz, no afectó a la estabilidad del extracto colorante esto puede deberse a que los extractos fueron envasados en frascos de color ámbar los mismo que protegieron al extracto de la luz disminuyendo la degradación del mismo durante el almacenamiento. Adicionalmente, la eliminación del aire del interior del envase antes de su cierre, a preservar el extracto, disminuyendo su susceptibilidad a la oxidación.

**Tabla 30.** Prueba de Tukey para el índice de degradación del extracto colorante sólido de las corontas, a diferentes condiciones de almacenamiento

Tratamiento	Promedio	Rango Estadístico	
T4	6,74	a	
T1	7,00	a	
T3	7,94		b
T2	8,18		b

De los ensayos de estabilidad, se determinó que los extractos colorantes del maíz negro son inestables y presentan reacciones de degradación en el proceso y almacenamiento de los mismos.

El extracto sólido es más estable que el líquido, atribuyéndose en parte este resultado a su baja actividad de agua con un valor de 0,53 para los granos y 0,44 para las corontas (valores obtenidos de manera experimental), condición que confiere mayor estabilidad a los pigmentos, frente a la acción de agentes físicos desencadenantes de la degradación, como el oxígeno, la luz, etc.

En las Tablas 31 y 32 se puede observar la variación de las coordenadas colorimétricas expresadas como  $\Delta E^*$  determinándose un menor valor en el tratamiento T1 para el caso de los granos y T3 para las, datos que concuerdan con los resultados de estabilidad previamente presentados con lo que se puede confirmar los tratamientos antes seleccionados.

**Tabla 31.** Variación de color de los extractos sólidos y líquidos de los granos, a diferentes condiciones de almacenamiento

Tratamiento	$\Delta E^*$	
	Sólido	Líquido
T1	0,105	0,120
T2	0,273	0,284
T3	0,163	0,155
T4	0,171	0,155

**Tabla 32.** Variación de color de los extractos sólidos y líquidos de las corontas, a diferentes condiciones de almacenamiento

Tratamiento	$\Delta E^*$	
	Sólido	Líquido
T1	0,214	0,196
T2	0,242	0,237
T3	0,149	0,138
T4	0,235	0,240

### 3.4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO COLORANTE

La determinación de las propiedades antioxidantes de los extractos, se basó en la medición del poder reductor expresado como concentración inhibitoria media ( $IC_{50}$ ), definida como la concentración de la muestra que causa una disminución del 50 % en la concentración inicial del oxidante (Huang, 2005)

Para el extracto de los granos, se determinó una concentración inhibitoria media ( $IC_{50}$ ) igual a 0,387 mg/mL, mientras que el extracto de las corontas presentó una mayor actividad antioxidante, con un valor  $IC_{50}$  igual a 0,361 mg/mL, teniendo presente que un menor valor  $IC_{50}$ , significa una mayor actividad antioxidante y viceversa. Resultado que podría correlacionarse con la mayor concentración de antocianinas en el extracto de las corontas 22,683 mg/g de cianidina 3- $\beta$

glucósido con relación al contenido de antocianinas del extracto de los granos 13,916 mg/g de cianidina 3- $\beta$  glucósido.

Sin embargo al realizar el análisis estadístico t de student el resultado es 0,41 lo que quiere decir que el poder antioxidante de los granos y de las tusas es igual, esto nos indica que aunque el extracto de las tusas tiene mayor contenido de antocianinas la calidad de las antocianinas de los granos es mucho mejor lo que se refleja en el poder antioxidante que es igual para los dos extracto aunque la cantidad de antocianinas es diferente.

Paralelamente a esto se envió una muestra del extracto de los granos a la Universidad de Costa Rica para analizar el poder antioxidante el resultado fue 1 596,90 ( $\mu$ mol de Trolox equivalente/g de muestra), valor que es superior al obtenido por varias frutas nacionales que obtuvieron valores entre 32,14 y 866,42 ( $\mu$ mol de Trolox equivalente/g de muestra).

### **3.5 ESTIMACIÓN DEL COSTO DE EXTRACCIÓN**

Para establecer la capacidad de la planta se parte de los siguientes supuestos: se trabajará 22 días al mes, 8 horas diarias que equivale a 264 días al año, para lo cual se requerirán  $100 \times 10^3$  kg de corontas al año, de esta forma se podrán procesar 378 kg diarios de corontas.

El costo de producción se hará con base en el proceso óptimo encontrado de este estudio según el cual se tiene un rendimiento de 24,18 kg de extracto colorante por cada 378 kg de de corotas diario.

#### **3.5.1 INVERSIÓN**

En la Tabla 33 se puede ver que la inversión calculada para poner en marcha la planta piloto es de 287 285,00 USD. La inversión fija son aquellos recursos

tangibles (terreno, muebles, maquinarias y equipos, etc.) y no tangibles (gastos de constitución, etc.) y el valor fue de 145 874,00 USD que corresponde al 50 % del total de la inversión. El capital de operación son aquellos recurso que permiten que la planta pueda iniciar sus actividades, entre lo que tenemos materia prima, mano de obra, insumos, etc. y el valor fue de 141 411,00 USD que correspondió al 49 % del total de inversión.

Para iniciar las actividades de producción se necesitó un financiamiento de 114 914,00 USD que corresponde al 40 % del total de inversión.

**Tabla 33.** Detalle de la inversión inicial calculada en la planta piloto

<b>Concepto</b>	<b>Valor (USD)</b>	<b>Porcentaje%</b>
Inversión fija	145 874,00	50,78
Capital de operaciones	141 411,00	49,22
Inversión total	287 285,00	100,00
Capital propio	172 371,00	60,00
Financiamiento	114 914,00	40,00

### 3.5.2 COSTO UNITARIO DEL PRODUCTO

**Tabla 34.** Costos unitarios de la planta piloto

<b>Concepto</b>	<b>Total (USD)</b>
Costo de producción	118 255,35
Costos de ventas	2 060,00
Gastos de administración y generales	1 715,17
Gastos de financiamiento	11 732,73
<b>TOTAL</b>	<b>133 763,24</b>
Unidades producidas año	65 280,00
Costo Unitario (Dólares)	1,05

El costo unitario del colorante sin ganancias será de 1,05 USD, donde solo se cubriría los gastos de producción, ventas, administrativas y financieras como se muestra en la Tabla 34.

### 3.5.3 VENTAS NETAS

Si se vende los 127 670,00 envases de 50 g de colorante de corontas de maíz negro a un precio de USD 2,50 cada unidad se obtendrá USD 319 175,00 de ventas netas como se presenta en la Tabla 35, si a esto se añade un margen del 20 % de utilidades repartidas entre los comercializadores, mayoristas y minoristas, el producto llegaría al consumidor a un precio de USD 3,00.

**Tabla 35.** Ventas netas anuales de la planta piloto

<b>Concepto</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Valor Unitario (USD)</b>	<b>Valor Total (USD)</b>
Colorante de maíz negro (50gr)	127 670	2,50	319 175,00
<b>TOTAL</b>			<b>319 175,00</b>

Este precio es competitivo en el mercado al comparar con los precios de los productos similares. Por ejemplo, el precio de 50 g colorante natural “carmín” producida por “AROMCOLOR” es de USD 5,50.

### 3.5.4 ESTADO DE PÉRDIDAS Y GANANCIAS

En el año hubo una utilidad neta del periodo antes del impuesto sobre las utilidades de 127 830,00 como es muestra en la Tabla 36.

La utilidad es simplemente el valor resultante después de restar a los ingresos todos los egresos.

**Tabla 36.** Estado de pérdidas y ganancias de la planta piloto

<b>Concepto</b>	<b>Valor (USD)</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Ventas netas	319 175,00	100,00
Costo de producción	118 255,35	37,05
Utilidad bruta en ventas	200 919,65	62,95
Gastos de ventas	2 060,00	0,65
Utilidad neta en ventas	198 859,65	62,30
Gastos de administración y generales	36 738,50	11,51
Utilidad neta en operaciones	162 121,15	50,79
Gastos de financiamiento	11 732,73	3,68
Reparto de utilidades a trabajadores (15%)	22 558,26	7,07
Utilidad neta del período antes del impuesto sobre las utilidades	127 830,16	40,05

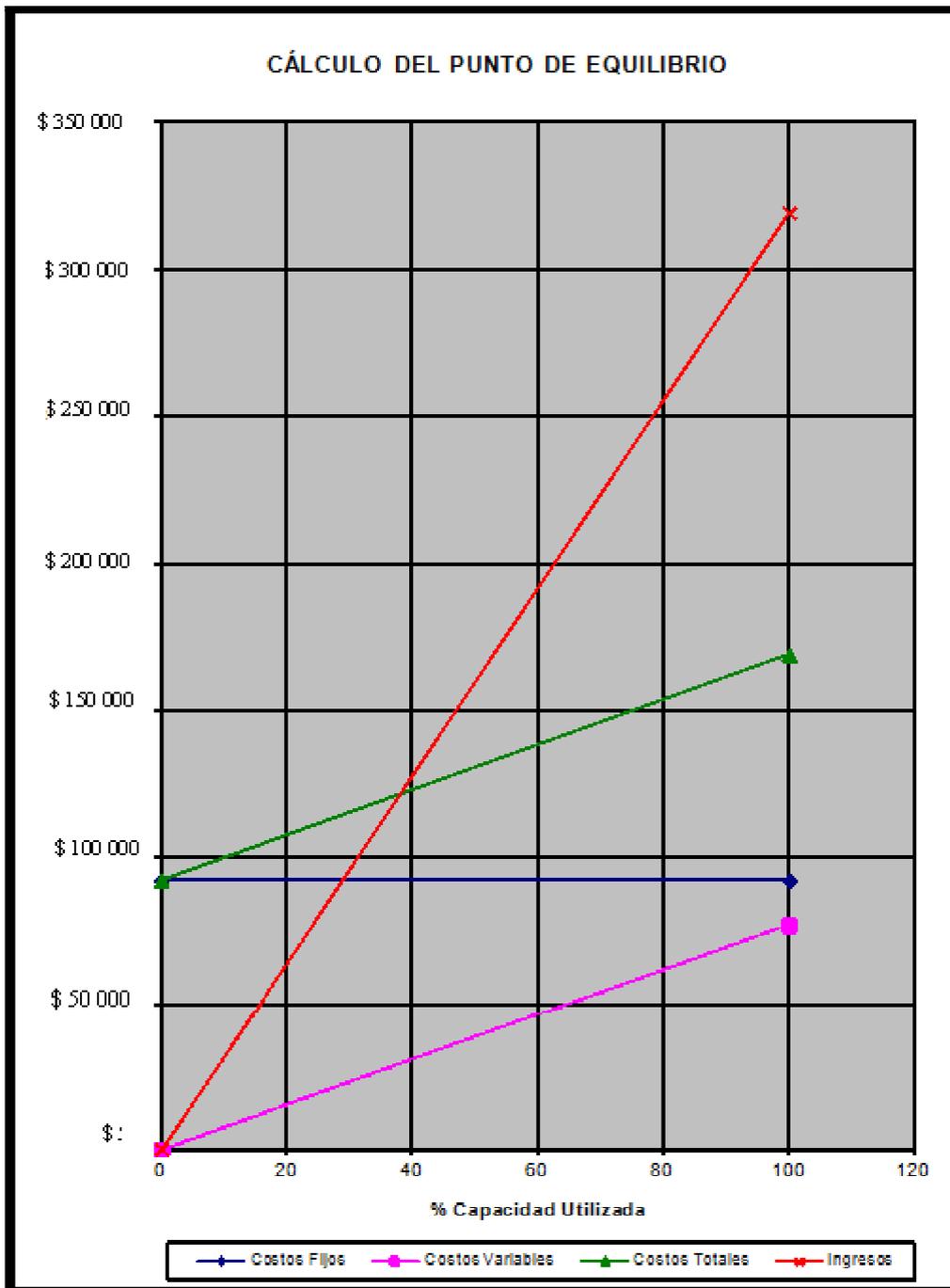
### 3.5.5 PUNTO DE EQUILIBRIO

Se encontró que los costos fijos para la producción establecida, tuvieron un valor de USD 91 907,00 y el costo variable de USD 76 879,00 como se indica en la Tabla 37.

El punto de equilibrio es donde no genera ni ganancias, ni pérdidas; es decir, cuando se trabaje sobre el 38 % de la capacidad de la planta, es donde se obtendrá ganancias, observar la Figura 23. La cantidad de unidades de producto (envases de 50 g de colorante) necesaria para alcanzar al punto de equilibrio es de 240 envases de colorante de corontas de maíz negro diarios.

**Tabla 37.** Punto de equilibrio de la planta piloto

<b>Concepto</b>	<b>Costos Fijos (USD)</b>	<b>Costos Variables Totales (USD)</b>
Materiales directos		62 767,00
Mano de obra directa		14 112,00
Mano de obra indirecta	4 704,00	
Materiales indirectos	488,52	
Depreciación	12 735,95	
Suministros	18 564,80	
Reparaciones y mantenimiento	2 451,96	
Seguros	1 225,98	
Imprevistos	1 205,14	
Gastos de ventas	2 060,00	
Gastos administración, generales	36 738,50	
Gastos financieros	11 732,73	
<b>TOTAL</b>	<b>91 907,58</b>	<b>76 879,00</b>
Punto de Equilibrio (%)	37,93	



**Figura 23.** Punto de equilibrio

## 4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1 CONCLUSIONES

- Las antocianinas son hidrosolubles, sin embargo también se les puede extraer con solvente polares como el etanol, pero en este caso el rendimiento es menor en relación al obtenido en un solvente acuoso.
- El colorante de maíz negro obtenido de las corontas presenta mejor rendimiento y mayor estabilidad, así como también mejores características químicas y físicas con relación al extracto colorante obtenido de los granos.
- Las condiciones adecuadas de extracción para la obtención del extracto de colorante de los granos son: medio acuoso, con un tiempo de contacto solvente/granos de 120 min (2 horas) a 40 °C; y para el extracto obtenido de las corontas de maíz negro son: medio acuoso, con un tiempo de contacto solvente/corontas de 120 minutos (2 horas) y a una temperatura de 50 °C
- En esta investigación se obtuvo un extracto colorante no purificado con 22,68 % de antocianinas, 0,009 % de nitratos valores que se enmarcan dentro de los niveles permitidos y 0,108 % de ácido oxálico, determinándose así que es apto para el consumo humano.
- Las antocianinas, al igual que otros pigmentos de origen natural, son sensibles a la temperatura y el pH. Se determinó que el extracto colorante de las antocianinas del maíz negro permanece estable a rangos de pH 2-6, y a temperatura de 10 °C – 50 °C.
- La manera más adecuada de presentar el extracto de forma comercial es en estado sólido, debido a que presenta el menor índice de degradación.
- El tiempo de vida útil del extracto sólido de las corontas de maíz negro es de 60 días, si se almacena sellado al vacío en envases de color ámbar y en un lugar fresco y seco, a diferencia del extracto líquido, que debido a su elevada actividad de agua se degrada en 30 días.
- El costo de obtención del extracto colorante de las corontas de maíz negro es de USD 1,05 por cada 50 g, con un precio de venta de USD 2,50, lo que

permite tener un margen de utilidad del 40 % valorizándose de este modo las corontas que se tienen como producto secundario.

## **4.2 RECOMENDACIONES**

- Se recomienda estudiar la extracción del colorante y la estabilidad en el almacenamiento a diferentes valores de pH.
- Evaluar el contenido de antocianinas en cada etapa del proceso de extracción y de almacenamiento del extracto para determinar que % de antocianinas tiene el extracto al ser comercializado.
- No se recomienda la utilización del grano como fuente de colorante debido al bajo rendimiento obtenido y para aprovechar las bondades que este presenta se lo debe consumir como grano entero
- Probar la estabilidad del extracto colorantes antocianinas en el almacenamiento a las condiciones de pH en las cuales las antocianinas son más estables.
- Se recomienda probar otra manera de eliminar el agua del extracto con por ejemplo es secado por aspersion ya que la liofilización tiene un alto costo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Anderson, R., Conway, H., Pf'elff'er, U. y Griffin, R, 1969, "Gelatinization of corn grits by rollo and extrusioncooking", Journal Cereal Science. p, 11-12.
2. Anderung, L., 2003 "Poaceae" <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/d53/mais.htm> (Enero, 2012)
3. Aoki, H., Kuze, N., y Kato, Y., 2002, "Anthocyanins isolated from purple corn (*Zea mays* L.)", Foods and Food Ingredients of Japan, p. 41, 45.
4. Aranceta, J y Perez, C., 2006 "Frutas verduras y salud" Masson, Elsevier, Barcelona, España.
5. Armendáris, J., 2002, "Procesos de cocina" Thomson editores spain paraninfo, Madrid, España
6. Arroyo, J., Raez, E., Rodriguez, M., Chumpitaz, V., Burga, J., De la cruz, W. y Valencia, J., 2007 "Reduccion del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz negro (*Zea mays* L) en ratas hipercolesterolemicas" Revista peruana de Medicina experimental y salud pública, Instituto Nacional de salud, Vol 24, Perú.
7. Artusi, M., 2007. "Colorantes naturales, usos y perspectivas" Enfasis alimentación [http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:GoOP5Xk0MM4J:www.alimentacion.enfasis.com/notas/7263-colorant,](http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:GoOP5Xk0MM4J:www.alimentacion.enfasis.com/notas/7263-colorant,(junio, 2011)) (junio, 2011)
8. Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C)., 1998, Peer Verified Methods, Manual on policies and procedures, Arlington, U.S.A. Adaptado en los Laboratorios del Departamento de Nutrición y Calidad de la Estación Experimental Santa Catalina-INIAP
9. Badui, S., 1988, "Química de los alimentos", Editorial Alhambra, p. 274-284, Distrito Federal, México.
10. Barrero, M. y Carreño, R., 1999, "Evaluación de los pigmentos de cúrcuma cultivada en Venezuela", en Agronomía Tropical, Caracas, Venezuela.
11. Beckwith, A., Zhang, Y., Seeram, N., Cameron, A. y Nair, M., 2004, "Relationship of light quantity and anthocyanin production in *Pennisetum setaceum* vs. *Rubrum* and *Red Riding Hood*", Journal of Agricultural and Food Chemistry, p.456,461.

12. Belitz, H. y Grosch, W., 1997, "Química de los alimentos", Editorial ACRIBIA SA, segunda edición, Zaragoza, España, p. 239.
13. Bello, J., 2008, "Jamón curado, aspectos científicos y tecnológicos", Ed Díaz de santos, España.
14. Bolívar, A., Cevallos, C y Cisneros, L., 2003, "Stoichiometric and kinetic studies of phenolic antioxidants from andean pulple corn and red fleshed sweetpotato". Journal agricultural and food chemistry, Texas, USA
15. Brennan, J., 2008, "Manual del procesado de los alimentos", Editoral Acribia SA, Zaragoza, España.
16. Brouillard, R., (1982) Anthocyanins as food colors. En: Markakis P (ed.) Academic Press, New York.
17. Callejo, M., 2002, "Industrias de cereales y derivados", Editorial Mundi-Prensa libros, S.A, Madrid, España, p. 18,19.
18. Calvo, C. y Duran, L., 2002, "Óptica y color", Temas en Tecnología de Alimentos Vol 1, Instituto Politécnico Nacional, México D.F, México.
19. Carrasco, C., 2002, "¿Qué es el color?¿Podemos medirlo?" Junta de Andalucía. Andalucía-España
20. Casalderrey, M., 2004, "El ácido oxálico de las espinacas" La voz de Galicia S.A, Polígono de sabon, España.
21. Casp, A., 2003, "Procesos de conservación de alimentos" Ed. Mundi Prensa, Segunda Edición, Barcelona, España.
22. Centeno, M., 2003, "Extracción, estabilización y evaluaciones analíticas del Camín" Centro de investigación en ciencia aplicada y tecnología avanzada, Instituto politécnico nacional, Mexico D.F, Mexico,
23. Chávez, A., 2000, "Maíz morado peruano (*Zea mays*, L. amilaceae st.)", Instituto Nacional de Investigación Agraria, Lima, Perú, p. 20.
24. Congreso Iberoamericano de Ingeniería en Alimentos (CIBIA) IV, 2007, "Alimentos ciencia e ingeniería" Vol 16, Ambato, Ecuador
25. Corrales, M., 2001, "Nuevos aditivos en la alimentación". CARTIF (Boletín n 3), España, p. 5.
26. Cubero, N., Monteferrer, A. y Villalta, J., 2002, "Aditivos alimentarios" Colección tecnología de alimentos, Ediciones Mundi-prensa, Madrid, España.

27. Cuevas, E., Antezana, A. y Winterhalter, P., 2008, "Análisis y caracterización de antocininas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) bolivariano". Universidad Mayor San Simón de Cochabamba, Cochabamba, Bolivia.
28. Del Carpio, C., Flores, C. y Giusti, M., 2009, "Caracterización de las antocianinas de los frutos de *Berberis boliviana Lechler*", Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Perú.
29. Durst, R. y Wrolstad, R., 2001, "Separation and characterization of anthocyanins by HPLC", en Handbook of Food Analytical Chemistry, New Jersey, USA, p. 33, 45.
30. El ABC de los sistema, 2010, <http://elabcdelossistemas.blogspot.com/2010/12/cielab.html>
31. El maíz peruano., 2011, <http://luna9lunaverde.blogspot.com/2011/04/el-maiz-peruano.html>
32. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación), 2000, "Estadísticas FAOSTAT: Usos del maíz en la alimentación" [www.fao.org/ec/consumo%20maiz.htm#ancor](http://www.fao.org/ec/consumo%20maiz.htm#ancor) (Octubre, 2010).
33. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación), 2006, "El maíz en la nutrición humana".
34. Fennema, O., 1985, "Introducción a la ciencia de los alimentos" Editoria Reverte S.A, Vol. 2, Barcelona, España.
35. Fennema, O., 2000, "Química de los alimentos". Editoria Acribia S.A, Zaragoza, España, p. 1095.
36. Flanzky, C., 2003, "Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos" Editorial Reverte S.A, Barcelona, España.
37. Folin, O. y Ciocalteu, V., 1927, "On tyrosine and tryptophane determinations in proteins" Journal of Biological Chemistry, p. 627, 650.
38. Fossen, T., Cabrita, L. y Andersen, O., 1998 "Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region", Food Chemistry, <http://agrarias.tripod.com/cereales.htm>.

39. Fraticola, P., 2009, "Conceptos básicos del color", <http://www.imageandart.com/tutoriales/teoría/colores/colores.html>, (Marzo, 2011)
40. Garzon, G., 2008, "Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión", Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
41. Guevara, J., 2010, "Empacado de alimentos", Editorial Trillas, p.13, Distrito Federal, México.
42. Gil, A. y López, M., 2010, "Tratado de nutrición: composición y calidad nutritiva de los alimentos" Vol 2, Segunda edición, Editorial medica panamericana, Madrid, España.
43. Giusti, M. y Wrolstad, R., 2001, "Characterization and measurement of anthocyanins by UV visible spectroscopy" Current protocols in food analytical chemistry, New York, USA.
44. Gorriti, A., Quispe, F., Arroyo, J., Córdova, A. y Jurado, B., 2009, "Extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays* L (Maíz Morado)", Universidad Nacional de San Marcos, Facultad de farmacia y bioquímica, Perú.
45. Grupo Latino, 2009, "Volvamos al campo, manual del ingeniero de alimentos" Editorial Grupo Latina, p. 159, Colombia.
46. Halliwell, B. y Whiteman, M., 2004, "Measuring Reactive Species and Oxidative Damage in vivo and in Cell Culture: How Should you do it and what do the Results Mean?", British Journal of Pharmacology, p 142, 231-255.
47. Hill, M., 1991, "Nitrates and nitrites in food and water", Ed M.J Hill, Ellis Horwood, Chichester, Londres, p.193.
48. Huang, D., 2005, "The Chemistry behind antioxidant capacity assays", Journal of Agricultural and Food Chemistry, p.1841, 1856.
49. Ibarz, A., Barbosa-Cánovas, G., 2005, "Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos" Editorial Mundi-Prensa S.A, Barcelona, España.
50. Iglesias, J., 2003, "Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de la pesca", Facultad de Química, Universidad de Santiago de Compostela, Compostela, Compostela, España.

51. Íñiguez, M., Ortega, A., Rosales, A., Ayala, R. y Puras, P., 1995, "Estudio del color de los vinos tintos de la D.O.C. Rioja", Estación enológica de Haro, La Rioja, España.
52. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN, 2009, norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2469:2009, Quito, Ecuador.
53. Jacho, L., 2009, "Caracterización molecular y análisis químico nutritivo de 27 accesiones de maíz chulpi (*Zea mays* L.) y 65 accesiones de maíz negro colectadas en la serranía del Ecuador" Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
54. Jauregui, D. y Moreno, A., 2004, "La biomineralización del oxalato de calcio en plantas: retos y potencial" Departamento de Bioquímica, UNAM, México D.F, México.
55. Jiménez, A. y Gutiérrez, G., 2001, "Métodos para medir propiedades físicas e industriales de alimentos", 2da edición, Ed. Acribia, España, Cap. 4, pp. 330-332
56. Jinap, S., Dimick, P., 1990, "Acidic characteristics of fermented and dried cocoa beans from different countries", Journal of food Science, Vol 2, p. 547, 550.
57. Keith, M., Jebhoy, K., Langer, A., Kurian, R., Barr, A., O`Kelly, B. y Sole, M., 2001, "A controlled clinical trial of vitamin E supplementation in patients with congestive heart failure". American Journal of Clinical Nutrition, Vol 73, p. 219, 224.
58. Khachik, F., Beecher, G., Goli, M. y Lusby, W, 1992, "Separation and quantification of carotenoids in foods", Methods Enzymology, 213: 347-359
59. Keith, M., Jebhoy, K., Langer, A., Kurian, R., Barr, A., O`Kelly, B. y Sole, M., 2001, "A controlled clinical trial of vitamin E supplementation in patients with congestive heart failure". American Journal of Clinical Nutrition, Vol 73, p. 219, 224.
60. Kuskoski, E., Asuero, A., Garcia, M., Troncoso, A. y Fett, R, 2004, "Actividad antioxidante de los pigmentos antocianos" Departamento de análisis químico y Departamento de bioquímica, bromatología y toxicología, Universidad de Sevilla, Sevilla, España.

61. Laboratorio de servicio de análisis e investigación en alimentos (LSAIA), 2011, "Informe anual" Estación experimental Santa Catalina, Quito, Ecuador
62. Lahoz, C., Peña, R. y Mostaza, J., 2000, "¿Se deben de recomendar antioxidantes para la prevención cardiovascular?" Revista Clinica Española, Vol 4, España, p. 36, 41.
63. Leon, C., 1968, "Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales" , Instituto Interamericano de ciencias agrícolas de la O.E.A, San Jose, Costa Rica
64. Linden, G. y Lorient, D., 1996. "Bioquímica agroindustrial", Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.
65. Lisco, G., 2000, "Lista de aditivos, colorantes" <http://milk.sci.unizar.es/adit/colomat> (Octubre, 2010).
66. Lopez, R., Casp, A., 2004, "Tecnología de mataderos", tecnología de los alimentos, Ed Mundi prensa, Mexico D.F, Mexico.
67. López, R., Torres, T y Antolin., G, 2011, "Tecnología de envasado y conservación de alimentos" Laboratorio de procesos químicos de CARTIF
68. Madrid, A., Gómez, J., Santiago, F., Madrid, J. y Cenzano, J., 2003, "Refrigeración, congelación y envasado de los alimentos", Ed. Mundi Prensa, Madrid, España.
69. Manrique, A., 2000, "Maíz morado Peruano" Instituto Nacional de Investigación Agraria (Serie Folleto R.I N<sup>a</sup> 04-00), Lima, Perú, p. 5, 6.
70. Mapes, C., Kato, T., Mera, L., Serratos, J. y Bye, R., 2009, "Origen y diversificación del maíz: Una revisión analítica", Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad, Universidad Nacional Autónoma de México, México, p 21.
71. Maroto, J., 1990, "Elementos de horticultura general", Ed. Mundi-Prensa, S.A., Madrid, España.
72. Molina, A., 2009 "La química está en todas partes" Revista digital ciencia y didáctica, Vol 25, Andalucía, España.
73. Montoya, H., 2008, "Microbiología básica para el área de la salud y afines" Editorial Universal de Antioquia, Medellín, Colombia.

74. Oyaizu, M., 1986, "Studies on product of browning reaction: antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine", Japanese Journal of Nutrition, Japón.
75. Parsons, D., 1987, "Maiz. Manuales para educación agropecuaria", Editorial Trillas, Mexico, p.:12
76. Pérez, A., 2004, "Alimento con color natural", (Boletín Semanal n°28), p. 5.
77. Pita, G., Cabrera, A., Serrano, G., Macías, C. y Hernández, M., 2000, "Vitaminas antioxidantes en un grupo de adolescentes como factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares". Revista Cubana Alimentación y Nutrición, 14 (2), p. 79, 85.
78. Placido, M. y Alemán, M., 2001 "Método higrométrico rápido para determinar la actividad de agua" Dirección de investigación y desarrollo, Laboratorio de Química y Bioquímica, Instituto tecnológico pesquero del Perú, Perú.
79. Proyectacolor., 2011, "El modelo CIE WYZ" <http://www.proyectacolor.cl/aplicacion-del-color/modelos-de-color/modelo-cie/>
80. Quintero, R., Mariano, G. y Lopez, A., 2002, "Biotecnología alimentaria", Editorial Limusa, México, México.
81. Ramirez, C., Andersen, O., Gardner, P., Morrice, P., Wood, S., Duthie, S., Collins, A. y Duthie, G., 2001, "Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E depleted rats", Free Radical. Biology and. Medicine, Vol 31, p. 1033, 1037.
82. Ramírez, J., 2006, "Liofilización de alimentos", Programa doctoral de ingeniería con énfasis en ingeniería de alimentos, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
83. Ramírez, M. y Williams, D., 2005, "Guía agro-culinaria de Cotacachi Ecuador y alrededores", IPGRI-Américas, FERIVA, Cali, Colombia, p. 27, 28.
84. Ranken, M., 2003, "Manual de industrias de la carne" Ed Mundi prensa, Madrid, España.
85. Rebolledo, F., 2007, "Determinación del potencial de coloración de alimentos de un concentrado de jugo de cranberry (Vaccinium

- macrocarpon*) obtenido por nanofiltración”, Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Licenciado en ciencia de los alimentos. Universidad Austral de Chile. Valdivia-Chile.
86. Rebolo, S., 2003, “Estudio de la composición polifenólica de vinos tintos gallegos”, Universidad de Santiago de Compostela, Compostela, España.
  87. Rosenstiel, F., Land, F. y Fujimoto, J., 2009, “Descripción del color, proceso de replicación del color y estética” Prótesis fija contemporánea, Cuarta Edición, Elsevier España, Barcelona-España, p 711.
  88. Salinas, Y., Rubio, D. y Diaz, E., 2005 “Extracción y uso de pigmentos del grano de maíz (*Zea Mays L.*) como colorantes en yogur”, Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México
  89. Sánchez, C., 2002. “Compuestos polifenólicos: efectos fisiológicos. actividad antioxidante”. Alimentaría, Ed enero, p. 29, 40.
  90. Schwartz, S., 1998, “Pigment analysis. Food Analysis: Introduction” Chemical analysis of foods, N° 6. Vol. 17: 846-847
  91. Sing, O., 1997, “Colorantes naturales”, Fondo editorial de la pontificia universidad católica del Perú, Primera edición, Lima, Perú.
  92. Terranova., 1995, “Producción Agrícola I”, Terranova Editor, Vol 1, Bogotá, Colombia.
  93. Ullauri, P., 2010, “Transporte de masa en extracción fase sólido-líquido” Editorial Reciteia, Cali, Colombia
  94. Valle, P. y Lucas, B., 2000, “Toxicología de los alimentos” Instituto nacional de salud pública, Centro de salud ambiental, México, D.F, México.
  95. Vasco, C., Rihinen, H., Ruales, J. y Kamal-Eldin, A., 2009, “Phenolic compounds in *Rosaceae* fruits from Ecuador” Journal of Agricultural and Food Chemistry, Kuopio, Finland
  96. Venereo, J., 2002, “Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes” Revista cubana de medicina militar, Cuba.
  97. Walford, J., 1980, “Developments in food colors”. Applied Science Publishers (Ed). London. pp. 116, 142.
  98. Wrolstad, R., 2004, “Anthocyanins pigments-bioactivity and coloring properties”, Journal of Food Science, p. 419,421.

99. Yáñez, C., Zambrano, J. y Heredia, J., 2005, "Catálogo de maíces amarillos" INIAP, Programa de Maíz, Quito, Ecuador, p.5.
100. Yáñez, C., Zambrano, J., Caicedo, M., Sánchez, V. y Heredia, J., 2003, "Catálogo de recursos genéticos de maíces de altura ecuatorianos" INIAP, Programa de Maíz, Quito, Ecuador, p. 1, 125, 127.
101. Yúfera, E., 1995, "Química orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria II", Editorial Reverte, Barcelona, España.
102. Zeiger, E. y Taiz, L., 2006, "Fisiología vegetal", Colección ciencias experimentales, Vol 1, Castellón, España.

## **ANEXOS**

### **ANEXO 1. DESCRIPCIÓN DE MÉTODOS**

#### **A 1.1. Determinación del contenido de antocianinas en el extracto colorante (Giusti y Wrolstad, 2001)**

##### **a. Equipos y Materiales**

- Baño María
- Planchas sumergible de agitación magnética
- Centrifuga
- Termómetro digital
- Espectrofotómetro
- Cronometro
- Pipetas de 10 mL
- Balones de 25 mL
- Frascos Erlenmeyer de 250 mL
- Agitadores magnéticos

##### **b. Reactivos**

- Metanol acidificado (1 % HCl)

##### **c. Procedimiento**

- Se coloca 1 mL de colorante en un erlenmeyer de 250 mL, se añade 10 mL de metanol acidificado y se agita por 30 min a 45 °C en oscuridad.
- Se enfría a 4 °C y se centrifuga a 4 040,17g por 15 min y se recoge el sobrenadante.
- Al residuo se le añade 10 mL de metanol acidificado y se agita por 30 min a 45 °C en oscuridad.
- Se enfría a 4°C y se centrifuga a 4 040,17g por 15 min.
- Al segundo sobrenadante se diluye hasta 25 mL con agua destilada y se lee a 530 nm.

#### d. Cálculos

Según la ecuación:

$$\text{Contenido de antocianinas} \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \text{ peso seco} \right) = A * MW * FD * \frac{1}{\epsilon * W}$$

[1]

Donde:

A = a Absorbancia

MW = Peso molecular de la *cianidina-3-β-glucósido* (g/mol)

FD = Factor de dilución

ε = Absortividad molar

W = Peso de la muestra (g/mol)

### A 1.2. Índice de degradación y tonalidad del color (Jiménez y Gutiérrez, 2001)

#### a. Equipo y Materiales

- Balanza *OHAUS* de capacidad hasta 210 g
- Espectrofotómetro *SPECTRONIC 20-D*
- Espátula
- Balones aforados 100 mL

#### b. Procedimiento:

- Con el extracto diluido al 10 % se realiza un barrido en el espectrofotómetro a longitudes de onda entre 400-800 nm y se determina la mínima y máxima de absorbancia.
- Aplicando las formulas 1 y 2 se determina el Índice de degradación y tonalidad

#### d. Cálculos:

##### 1. Índice de degradación (In D)

In D=  $\frac{(\text{DO}\lambda) \text{ máxima}}{(\text{DO}\lambda) \text{ mínima}}$

(DOλ) mínima

[2]

**2. Índice de Tonalidad (In T)**

$$\text{In T} = \frac{(\text{DO } \lambda)_{\text{mínima}}}{(\text{DO } \lambda)_{\text{máxima}}}$$

[3]

**Donde:**

DO = Densidad óptica (Absorbancia o extinción)

$\lambda$  = Longitud de onda

**A 1.3. Determinación de las coordenadas del color** (Jiménez y Gutiérrez, 2001)**a. Equipos**

- Colorímetro COLOR TEC PCM/PSM
- Superficie de color blanco

**b. Procedimiento**

- Colocar el extracto colorante sellado en una funda de polietileno sobre una superficie blanca.
- Colocar el prisma del colorímetro sobre la funda con el colorante, tratando cubrir toda su superficie.
- Tomar las lecturas en diferentes zonas de la funda.
- Anotar los parámetros: L, a, b (X, Y, Z), las lecturas dividir para 100, reportar con dos decimales.

**c. Cálculo**

Para determinar el ángulo Hue ( $^{\circ}\text{H}$ ), se parte de los parámetros medidos de a y b, mediante la siguiente ecuación:

$$H = \arctang\left(\frac{b}{a}\right)$$

[4]

$$C = (a^2 + b^2)^{1/2}$$

*Donde:*

Tono =  $H$  =Angulo Hue

Cromaticidad = C

Claridad = L = Valor de lectura directa

#### **A 1.4. Determinación del contenido de nitratos (-NO<sub>3</sub>) (AOAC, 1998)**

##### **a. Equipo**

- Reflectometro *RQflex plus 10*
- Baño María *POLYSTAT Scientific*
- Estufa *MEMMERT*

##### **b. Reactivos**

- Estufa *MEMMERT*
- Acido sulfúrico

##### **c. Procedimiento**

- Se prepara una solución del extracto colorante al 10 % y se afora a 50 mL.
- Se realiza una hidrólisis, con acido sulfúrico concentrado, con el fin de eliminar el color de modo que no interfiera en las lecturas reflectométricas, como se describe a continuación.
- A 5 mL de muestra, se le añade 150  $\mu$ L de acido sulfúrico al 72 %, se deja en baño María (25  $^{\circ}$ C) por 3 horas.
- Se añade 1,55 mL de agua destilada y se incuba por 2 horas a 100  $^{\circ}$ C, enfriar y filtrar.
- Se toma una varilla analítica y se introduce en la muestra.
- Se presiona la tecla START del reflectómetro; se elimina el exceso del líquido de la varilla, sacudiéndola manualmente.
- Cuando suena la señal acústica (5 segundos antes del tiempo de reacción), en el adaptador de varilla se introduce la varilla hasta el tope, con las zonas de reacción en dirección a la pantalla.

- Se anota la lectura, que aparece en la pantalla expresada en mg/L

#### d. Cálculos

$$mg \text{ nitratos} / g \text{ muestra} = \frac{L \times V}{Pm}$$

[6]

L = Lectura en mg/L

V = Volumen final en L

Pm = Peso de la muestra en g

### A 1.5. Determinación del contenido de oxalatos (Jinap, 1990)

#### a. Equipos y materiales

- Balanza *OHAUS* de capacidad hasta 210 g
- HPLC *Agilent 1100*
- Cartucho SEP-PAK C18+
- Jeringuillas plásticas con filtro de lana de vidrio
- Membranas *MILLIPORE* de filtración

#### b. Reactivos

- Solución estándar de ácido oxálico
- Resina Bio-Rex 5
- Metanol
- Carbonato de sodio
- Ácido sulfúrico

#### c. Procedimiento

- Pre acondicionamiento de la resina Bio-Rex 5: Pesar 0,5 g de resina en Jeringuillas plásticas con filtro de lana de vidrio, adicionar 3 mL de carbonato de

sodio 0,5 M mezclar y dejar pasar por el filtro, descartar la solución, adicionar 3 mL mas de carbonato de sodio 0,5 M, dejar pasar y descartar la solución, lavar la resina con 3 mL de agua destilada.

- Pre acondicionamiento del cartucho SEP-PAK C18: Pasar por el cartucho 3 mL de metanol y lavar con 3 mL de agua destilada por 3 veces.

- Añadir 1 mL de extracto colorante en las jeringuillas plásticas previamente acondicionadas y lavar 3 veces con 5 mL de agua destilada, descartar el agua de lavado.

- Añadir 3 mL de ácido sulfúrico 1N por 3 veces y recoger el eluido sobre un balón de aforo de 10 mL, llevar a volumen con agua bidestilada.

- Eliminar las interferencias de los compuestos fenolicos, haciendo circular el extracto por un cartucho SEP-PAK C18 previamente acondicionado y filtrar a través de una membrana Millipore.

- Inyectar 20 mL en el HPLC bajo las siguientes condiciones:

- Columna: STR ODS 11(150 x 4,6 mm)
- Temperatura de la columna: 40°C
- Detector UV-VIS: Longitud de onda 210 nm
- Fase móvil: Solución 10 mM de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pH 2,3
- Flujo: 1,0 mL, 1 minuto.

#### d. Cálculos

La cuantificación se realiza sobre la base de áreas mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{AM}{AS} \times C \times F$$

[7]

#### Donde:

C= Concentración de ácido orgánico en el estándar

AM= Área de la muestra

AS= Área del estándar

F= Factor de dilución

### **A 1.6. Determinación del contenido de compuestos fenólicos (Folin y Ciocalteu, 1927)**

#### **a. Equipos**

- Espectrofotómetro SPECTRONIC 20-D

#### **b. Reactivos**

- Folin-Ciocalteu 2,0 N
- Carbonato de sodio anhidro

#### **c. Procedimiento**

- En un balón de 25 mL colocar 0,5 mL de extracto colorante
- Agregar 0,5 mL del reactivo Folin-Ciocalteu 2,0 N y agitar por 3 minutos.
- Añadir 10 mL de carbonato de sodio (75 g/L) y aforar a 25 mL.
- Mantener a temperatura ambiente durante 1 hora y medir a 750 nm.
- Realizar una curva de calibración con ácido gálico con un rango de 50-200 ppm.

### **A 1.7. Determinación de actividad de agua (Placido y Alemán, 2001)**

#### **a. Equipos**

- Termohigrómetro digital WlakLAB
- Envases herméticos

#### **b. Reactivos**

- Cloruro de Sodio
- Cloruro de Magnesio

#### **c. Procedimiento**

- Colocar las muestras y las soluciones de calibración (NaCl ( $A_w=0,75$ ) y  $MgCl_2$  ( $A_w=0,33$ )) en envases herméticos 24 horas antes de la prueba con el fin de que la atmosfera se encuentre en equilibrio

- Poner los envases en el higrómetro y medir la actividad de agua

#### **A 1.8. Determinación de humectabilidad (INEN, 2009)**

##### **d. Equipos**

- Vaso de precipitación de 250 mL de diámetro interno de 65 mm
- Cronómetro calibrado
- Balanza de precisión
- Termómetro calibrado

##### **e. Reactivos**

- Agua destilada

##### **f. Procedimiento**

- En un vaso de 250 mL, se vierte 150 mL de agua destilada a 40°C, teniendo cuidado de no mojar las paredes del vaso.
- Dejar caer una sola vez la muestra pesada (11 g), en el vaso de manera homogénea
- Conjuntamente con la acción anterior se pone en marcha el cronometro que se lo detiene cuando toda la muestra está sumergida.
- El resultado se expresa en segundos

#### **A 1.9 Determinación del índice de absorción de agua y solubilidad (Anderson *et al.*, 1969)**

##### **a. Equipo**

- Cajas petri
- Tubos de centrifuga (50 mL)
- Agitadores magnéticos
- Probeta de 50 mL
- Plancha de agitación
- Baño María
- Centrifuga

- Papel filtro
- Embudos
- Vasos de precipitación
- Desecador

### **b. Procedimiento**

- Tarar las cajas petri a 90°C por 4 horas o a 75°C por una noche
- Pesar 2,5 g de muestra en un tubo de centrifuga que contiene un agitador magnético
- Mientras se pesa las muestras, calentar 30 mL de agua destilada, a 30°C y también tener el baño a temperatura controlada a 30°C
- Agregar 30 mL de agua a cada tubo y agitar bien en el equipo de agitación, en lo posible evite usar una varilla de agitación
- Incubar en el baño con agitación durante 30 minutos
- Secar bien los tubos de centrifuga
- Después de centrifugar se debe tener separados el gel y el sobrenadante, si no es así centrifugar por 10 minutos más a 11 873,16g.
- Decantar el sobrenadante en un tubo de centrifuga graduado y medir el volumen. No descartar el gel del tubo.
- Filtrar el sobrenadante
- Descartar lo que queda en el papel filtro
- Tomar 10 mL del filtrado y secar por 4 horas a 90 °C en las cajas petri
- Pesar el gel que quedó en el tubo
- En el caso que no se haya separado el sobrenadante, pesar todo lo que queda en el tubo.

### **c. Cálculos**

- **Índice de absorción de agua (IAA)**

$$IAA = \frac{\text{Peso gel (g)}}{\text{Peso muestra (g)}}$$

- **Índice de solubilidad de agua (ISA)**

$$ISA = \frac{\text{Peso de solubles (g)}}{\text{Peso muestra(g)}}$$

[8]

- **Poder de hinchamiento (PH)**

$$PH = \frac{\text{Peso gel(g)}}{\text{Peso muestra (g) - Pesosolubles (g)}}$$

[9]

**A 1.10. Determinación de dispersabilidad (CIBIA VI, 2007)**

**a. Equipos**

- Balanza analítica
- Plancha de agitación

**b. Procedimiento**

- Pesar 25 g de colorante en polvo
- En un vaso de precipitación mezclar el colorante con 250 mL de agua y agitar 20 s a 3,29g.
- Filtrar y pesar el residuo y por diferencia se obtiene la cantidad de colorante disperso en el líquido.

**A 1.11. Determinación de la actividad antioxidante. (Oyaiazu, 1986)**

**a. Equipos**

- Espectrofotómetro SPECTRONIC 20-D
- Baño María *POLYSTAT* Scientific

**b. Reactivos**

- Metanol
- Fosfato de sodio (Buffer 0,2 M, pH 6,6)

- Ferrocianidina de potasio
- Acido tricloroacético
- Cloruro férrico

### **c. Procedimiento**

- En vasos de precipitación colocar el extracto colorante en diferentes concentraciones (1-5 mg/mL), agregar 2,5 mL de metanol y 2,5 mL fosfato de sodio (Buffer 0,2 M, pH 6,6).
- Posteriormente agregar 2,5 mL ferrocianidina de potasio 1 %, mezclar en incubador a 50 °C por 20 minutos.
- Agregar 2,5 mL de ácido tricloroacético 10 % y centrifugar 2 061,31g por 10 min.
- Al sobrenadante (5 mL) agregar 5 mL de agua desionizada, 1 mL de cloruro férrico 0,1 % y mezclar.
- Dejar reposar 10 minutos en la oscuridad y leer a 700 nm contra un blanco (reactivos sin muestra).

## **A 1.12. DETERMINACIÓN DE TANINOS (A.O.A.C., 1998)**

### **a. Equipos**

- Espectrofotómetro SPECTRONIC 20-D

### **b. Reactivos**

- Solución de Folin-Denis
- Solución de carbonato de sodio saturado (35 g/100 mL)
- Solución estándar de ácido tánico (100 ppm)

### **c. Procedimiento**

- En un vaso de precipitación se coloca 1 mL de muestra y se extrae durante 8 horas con 10 mL hexano.
- El residuo se coloca en ebullición durante 2 horas con 300 mL de agua destilada.
- Se enfría, se filtra y se diluye a 500 mL.

- Se toma 2,5 mL del filtrado en balones de 50 mL, se añade 2,5 mL de reactivo Folin-Denis, 5 mL de solución de carbonato de sodio y se afora a 50 mL con agua destilada.
- Se lee en un espectrofotómetro a 680 nm, después de 30 minutos que ocurre la reacción.
- Se prepara una curva patrón de ácido tánico de 0-5 ppm, proceder desde la adición del reactivo Folin-Denis.

#### d. Cálculos

$$mg \text{ taninos} / g \text{ muestra} = \left( \frac{LR(\mu g / ml) \times V(ml) \times FD \times 10^{-3} (mg / \mu g)}{Pm(g)} \right)$$

[10]

Donde:

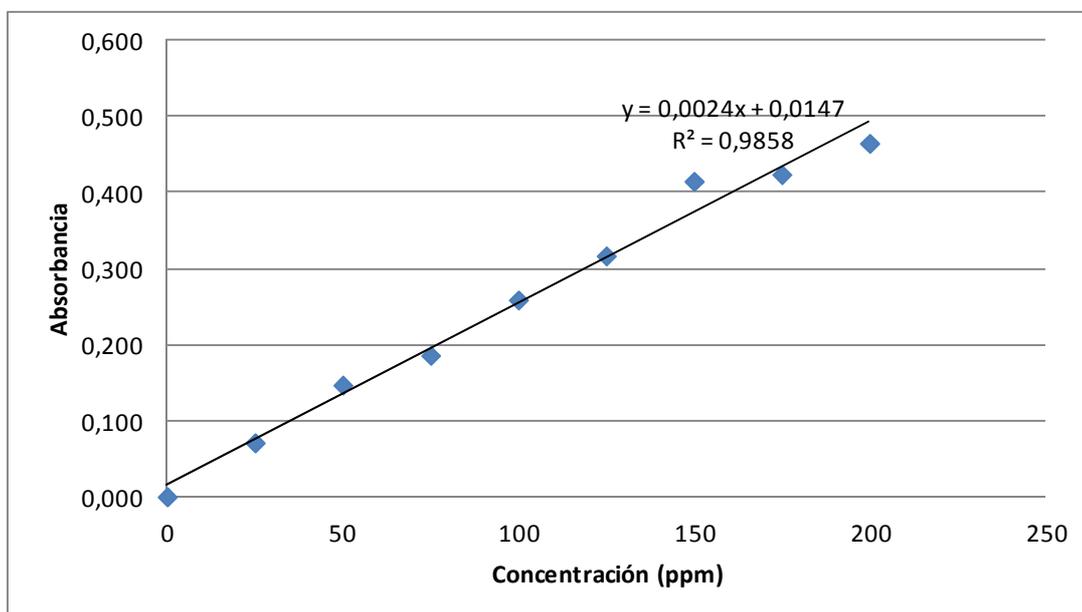
LR = lectura de regresión.

V = volumen final.

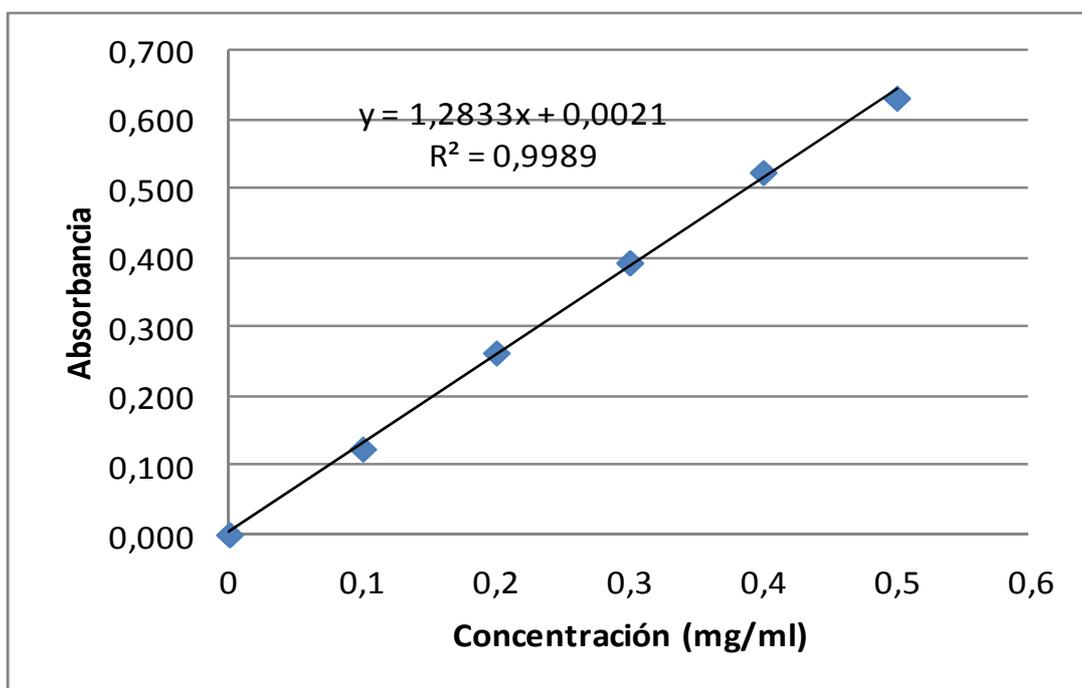
FD = Factor de dilución.

Pm = peso de la muestra.

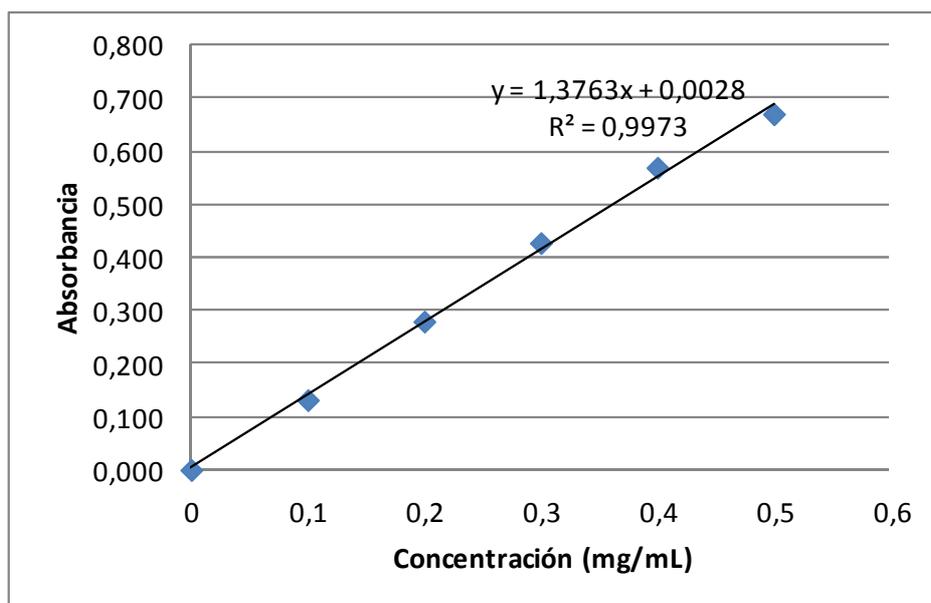
## ANEXO 2. RESULTADOS



**Figura 1.** Curva de calibración para el cálculo de compuestos fenólicos



**Figura 2.** Curva estándar para el cálculo de la actividad antioxidante del colorante de los granos



**Figura 3.** Curva estándar para el cálculo de la actividad antioxidante del colorante de las corontas

### A 3.5 Estimación del costo de extracción a nivel piloto

**Tabla 38.** Activos Fijos

Concepto	Valor ( USD)	%
Terrenos y construcciones	42 340,00	29,03
Maquinaria y equipo	80 257,88	55,02
Otros activos	16 329,89	11,19
SUMAN	138 927,77	95,24
Imprevistos de la inversión fija	6 946,39	4,76
TOTAL	145 874,16	100,00

**Tabla 39.** Construcciones

<b>Concepto</b>	<b>Cantidad (m<sup>2</sup>)</b>	<b>Valor Unitario (Dólares)</b>	<b>Valor Total (Dólares)</b>
Terreno	200,00	35,00	7 000,00
<b>CONSTRUCCIONES</b>			
Fábrica	100,00	200,00	20 000,00
Oficinas y laboratorio	35,00	150,00	5 250,00
Cerramiento (m)	86,00	60,00	5 160,00
Bodegas	27,00	130,00	3 510,00
Baños	9,00	150,00	1 350,00
Guardianía	2,00	35,00	70,00
<b>TOTAL</b>			<b>42 340</b>

**Tabla 40.** Maquinaria y Equipo

<b>Concepto</b>	<b>Valor Ex - Aduana (USD)</b>
Equipo de Producción (Importado y nacional)	68 900,00
Equipo Auxiliar (Caldero y Planta eléctrica)	889,46
Gastos de Instalación y Montaje (Eq. Aux)	10 468,00
<b>TOTAL</b>	<b>80 257,88</b>

**Tabla 41.** Capital de Operación

<b>Concepto</b>	<b>Tiempo (meses)</b>	<b>Dólares</b>
Materiales Directos	12	62767,00
Mano de Obra Directa	12	14 112,00
Carga Fabril	12	28 003,60
Gastos de administración	12	34 468,50
Gastos de venta	12	2 060,00
<b>TOTAL</b>		<b>141 411,10</b>

**Tabla 42 . Materiales Directos**

<b>Concepto</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Valor Unitario (Dólares)</b>	<b>Valor Total (Dólares)</b>
Corontas de maíz negro (kg)	100 000	0,50	50 000
Empaques (Unidades)	127670	0,10	12 767

**Tabla 43. Mano de obra directa**

<b>Concepto</b>	<b>N°</b>	<b>Sueldo Mensual (Dólares)</b>	<b>Total Anual (Dólares)</b>
No calificados	3	280,00	10 080
<b>TOTAL</b>			<b>10 080</b>

**Tabla 44. Suministros**

<b>CONCEPTO</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Valor Unitario (Dólares)</b>	<b>Valor Total (Dólares)</b>
Energía eléctrica (Kw-h)	230 400,00	0,08	18 432,00
Combustible - diesel - (gal)		1,00	-
Agua (m <sup>3</sup> )	415,00	0,32	132,80
<b>TOTAL</b>			<b>18 564,80</b>

**Tabla 45. Gastos Administrativos**

<b>Concepto</b>	<b>N°</b>	<b>Sueldo Mensual (USD)</b>	<b>Total Anual (USD)</b>
Gerente General	1	1 500	18 000
Secretaria	1	400	4 800
<b>TOTAL</b>			<b>22 800</b>

### ANEXO 3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A. 3.1 Análisis estadístico para evaluar el rendimiento de los granos en la extracción del colorante de maíz negro.

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RENDIMIENTO	36	0,96	0,94	5,52

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,04	13	0,31	41,74	<0,0001
Fa	0,74	1	0,74	98,95	<0,0001
Fb	1,5E-04	1	1,5E-04	0,02	0,8891
Fc	1,85	2	0,93	124,42	<0,0001
Repeticion	6,8E-04	2	3,4E-04	0,05	0,9555
Fa*Fb	0,02	1	0,02	2,09	0,1620
Fa*Fc	0,60	2	0,30	39,98	<0,0001
Fb*Fc	0,83	2	0,42	55,81	<0,0001
Fa*Fb*Fc	0,01	2	3,7E-03	0,50	0,6146
Error	0,16	22	0,01		
Total	4,20	35			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,14366

Error: 0,0100 gl: 2

Fa	Medias	n	E.E.	
1,00	1,71	18	0,02	A
2,00	1,42	18	0,02	B

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,14366

Error: 0,0100 gl: 2

Fb	Medias	n	E.E.	
2,00	1,57	18	0,02	A
1,00	1,56	18	0,02	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,24050

Error: 0,0100 gl: 2

Fc	Medias	n	E.E.	
3,00	1,88	12	0,02	A
2,00	1,45	12	0,02	B
1,00	1,36	12	0,02	B

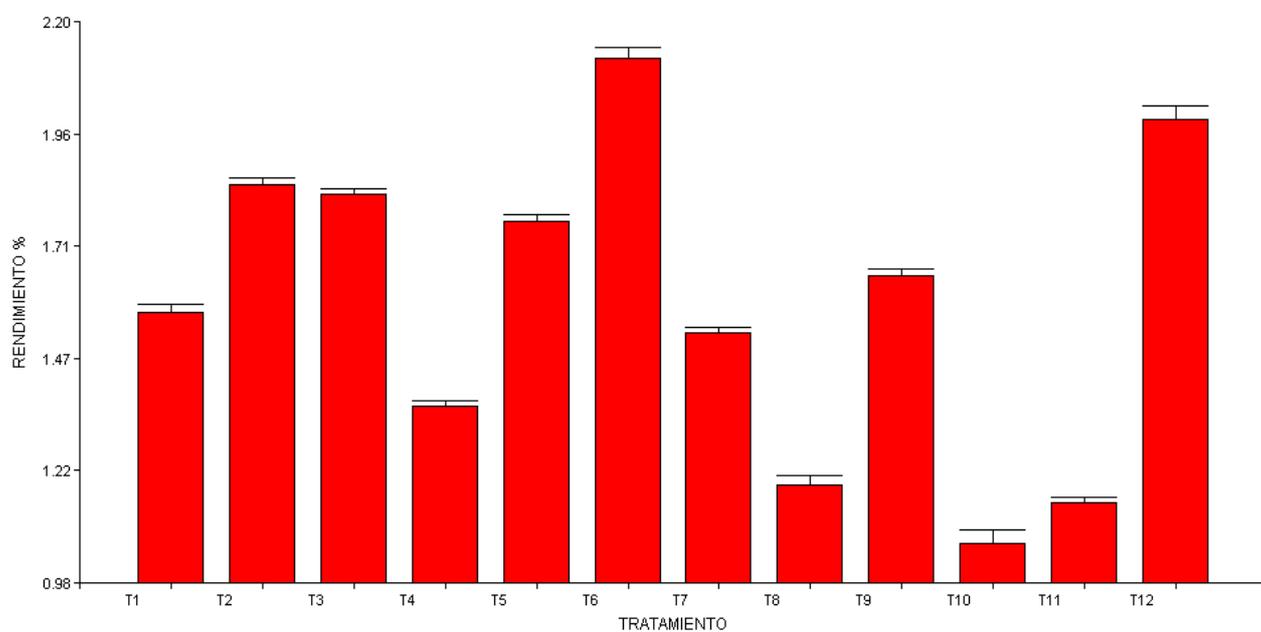
Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,85159

Error: 0,0100 gl: 2

Fa	Fb	Fc	Medias	n	E.E.	
1,00	2,00	3,00	2,13	3	0,05	A
2,00	2,00	3,00	2,00	3	0,05	A B
1,00	2,00	2,00	1,80	3	0,05	A B C
1,00	1,00	3,00	1,75	3	0,05	A B C
1,00	1,00	2,00	1,74	3	0,05	A B C
2,00	1,00	3,00	1,64	3	0,05	A B C
1,00	1,00	1,00	1,56	3	0,05	A B C
2,00	1,00	1,00	1,55	3	0,05	A B C
1,00	2,00	1,00	1,26	3	0,05	B C
2,00	1,00	2,00	1,13	3	0,05	C
2,00	2,00	2,00	1,11	3	0,05	C
2,00	2,00	1,00	1,09	3	0,05	C

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )



A 3.2 Grafico del análisis estadístico para evaluar el rendimiento de los granos en la extracción del colorante de maíz negro.

A. 3.3 Análisis estadístico para evaluar el contenido de antocianinas del extracto obtenido de los granos en la extracción del colorante de maíz negro.

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
ANTOCIANINAS	36	1,00	1,00	3,79

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	267,13	13	20,55	653,01	<0,0001
Fa	78,19	1	78,19	2484,92	<0,0001
Fb	14,07	1	14,07	446,98	<0,0001
Fc	21,37	2	10,68	339,54	<0,0001
Repeticion	0,03	2	0,02	0,52	0,6015
Fa*Fb	28,79	1	28,79	914,83	<0,0001
Fa*Fc	108,29	2	54,14	1720,63	<0,0001
Fb*Fc	3,92	2	1,96	62,24	<0,0001
Fa*Fb*Fc	12,48	2	6,24	198,26	<0,0001
Error	0,69	22	0,03		
Total	267,82	35			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,24883

Error: 0,0300 gl: 2

Fa	Medias	n	E.E.	
1,00	6,15	18	0,04	A
2,00	3,20	18	0,04	B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,24883

Error: 0,0300 gl: 2

Fb	Medias	n	E.E.	
2,00	5,30	18	0,04	A
1,00	4,05	18	0,04	B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,41655

Error: 0,0300 gl: 2

Fc	Medias	n	E.E.	
1,00	5,77	12	0,05	A
2,00	4,15	12	0,05	B
3,00	4,11	12	0,05	B

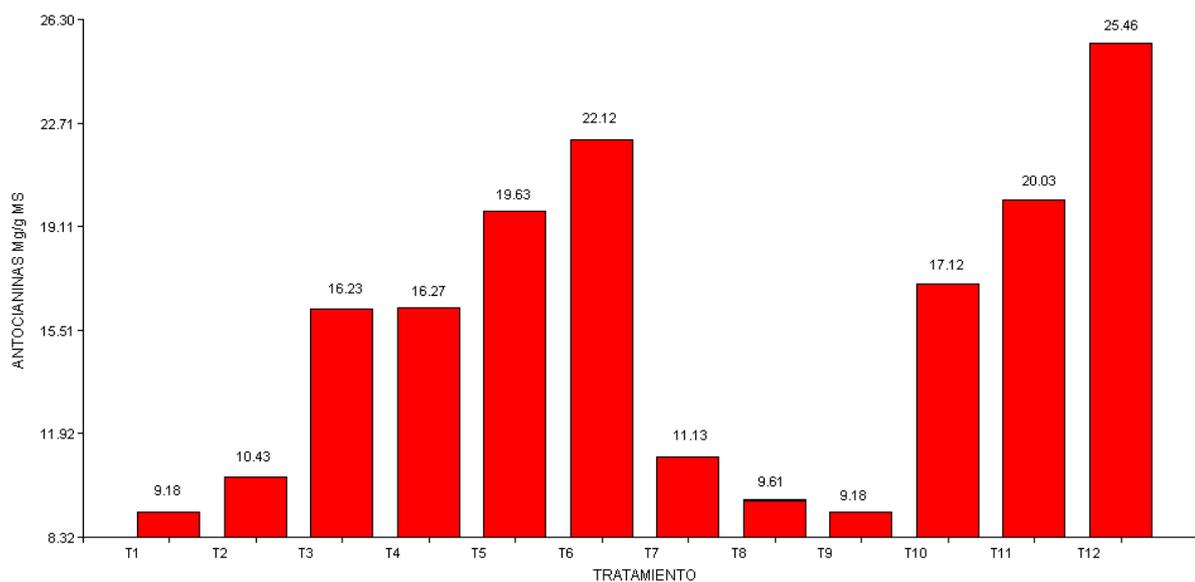
Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,47500

Error: 0,0300 gl: 2

Fa	Fb	Fc	Medias	n	E.E.	
1,00	2,00	3,00	8,89	3	0,10	A
1,00	2,00	2,00	7,82	3	0,10	A B
2,00	2,00	1,00	6,98	3	0,10	B C
1,00	2,00	1,00	6,30	3	0,10	C
1,00	1,00	3,00	6,19	3	0,10	C
2,00	1,00	1,00	6,13	3	0,10	C
1,00	1,00	2,00	4,05	3	0,10	D
2,00	1,00	2,00	3,94	3	0,10	D
1,00	1,00	1,00	3,66	3	0,10	D
2,00	2,00	3,00	1,02	3	0,10	E
2,00	2,00	2,00	0,80	3	0,10	E
2,00	1,00	3,00	0,35	3	0,10	E

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )



A 3.4 Grafico del análisis estadístico para evaluar el contenido de antocianinas del extracto de los granos en la extracción del colorante de maíz negro

A. 3.5 Análisis estadístico para evaluar el índice de degradación del extracto obtenido de los granos en la extracción del colorante de maíz negro.

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In D	36	1,00	0,99	5,02

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	108,77	13	8,37	339,95	<0,0001
Fa	50,59	1	50,59	2055,43	<0,0001
Fb	0,70	1	0,70	28,25	<0,0001
Fc	16,64	2	8,32	338,08	<0,0001
Repeticion	0,12	2	0,06	2,37	0,1174
Fa*Fb	0,11	1	0,11	4,60	0,0433
Fa*Fc	17,69	2	8,84	359,33	<0,0001
Fb*Fc	12,44	2	6,22	252,78	<0,0001
Fa*Fb*Fc	10,48	2	5,24	212,99	<0,0001
Error	0,54	22	0,02		
Total	109,31	35			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,20317

Error: 0,0200 gl: 2

Fa Medias n E.E.

1,00 1,94 18 0,04 A

2,00 4,31 18 0,04 B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,20317

Error: 0,0200 gl: 2

Fb Medias n E.E.

1,00 2,99 18 0,04 A

2,00 3,26 18 0,04 B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,34011

Error: 0,0200 gl: 2

Fc Medias n E.E.

2,00 2,35 12 0,05 A

1,00 3,02 12 0,05 B

3,00 4,01 12 0,05 C

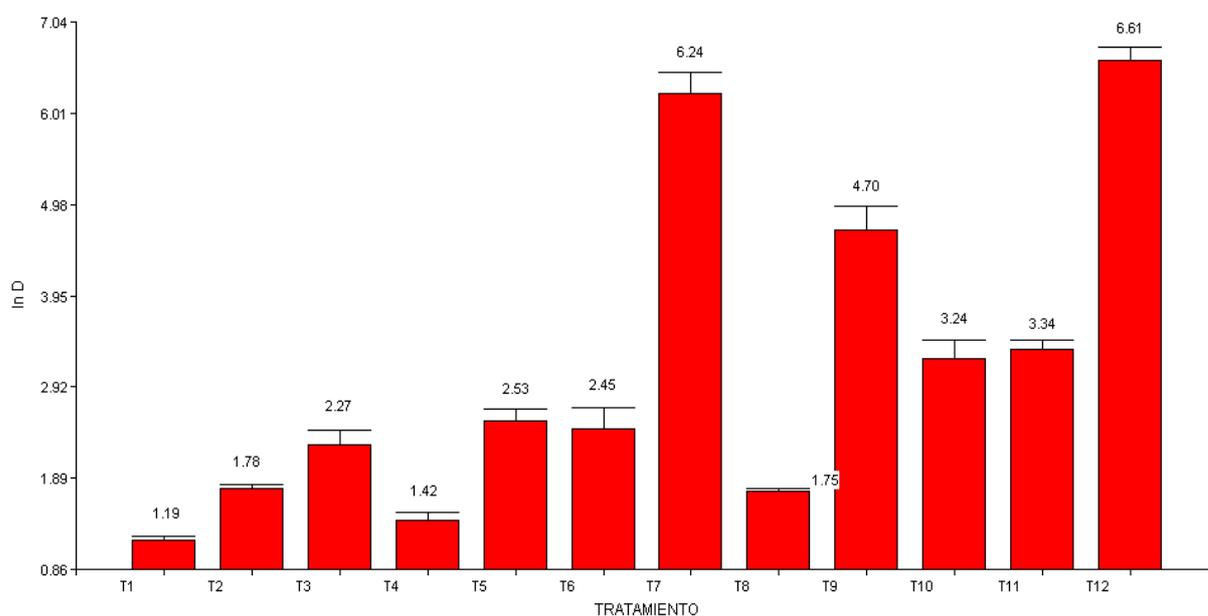
Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,20433

Error: 0,0200 gl: 2

Fa	Fb	Fc	Medias	n	E.E.	
1,00	1,00	1,00	1,19	3	0,09	A
1,00	2,00	1,00	1,42	3	0,09	A B
2,00	1,00	2,00	1,75	3	0,09	A B
1,00	1,00	2,00	1,78	3	0,09	A B
1,00	1,00	3,00	2,27	3	0,09	A B C
1,00	2,00	3,00	2,45	3	0,09	B C
1,00	2,00	2,00	2,53	3	0,09	B C
2,00	2,00	1,00	3,24	3	0,09	C
2,00	2,00	2,00	3,34	3	0,09	C
2,00	1,00	3,00	4,70	3	0,09	D
2,00	1,00	1,00	6,24	3	0,09	E
2,00	2,00	3,00	6,61	3	0,09	E

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )



A. 3.6 Grafico estadístico para evaluar el índice de degradación del extracto colorante obtenido de los granos del colorante de maíz negro

A. 3.7 Análisis estadístico para evaluar el rendimiento del extracto obtenido de las corontas en la extracción del colorante de maíz negro.

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RENDIMIENTO	36	0.85	0.77	10.78

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7.41	13	0.57	9.78	<0.0001
Fa	2.86	1	2.86	49.05	<0.0001
Fb	0.55	1	0.55	9.51	0.0054
Fc	1.73	2	0.86	14.80	0.0001
Repeticion	0.05	2	0.02	0.43	0.6571
Fa*Fb	1.07	1	1.07	18.29	0.0003
Fa*Fc	0.30	2	0.15	2.53	0.1025
Fb*Fc	0.26	2	0.13	2.23	0.1311
Fa*Fb*Fc	0.60	2	0.30	5.13	0.0149
Error	1.28	22	0.06		
Total	8.70	35			

**Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.16708**

Error: 0.0583 gl: 22

Fa	Medias	n	E.E.	
1.00	2.52	18	0.06	A
2.00	1.96	18	0.06	B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

**Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.16708**

Error: 0.0583 gl: 22

Fb	Medias	n	E.E.	
1.00	2.36	18	0.06	A
2.00	2.12	18	0.06	B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

**Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.24785**

Error: 0.0583 gl: 22

Fc	Medias	n	E.E.	
1.00	2.44	12	0.07	A
3.00	2.35	12	0.07	A
2.00	1.93	12	0.07	B

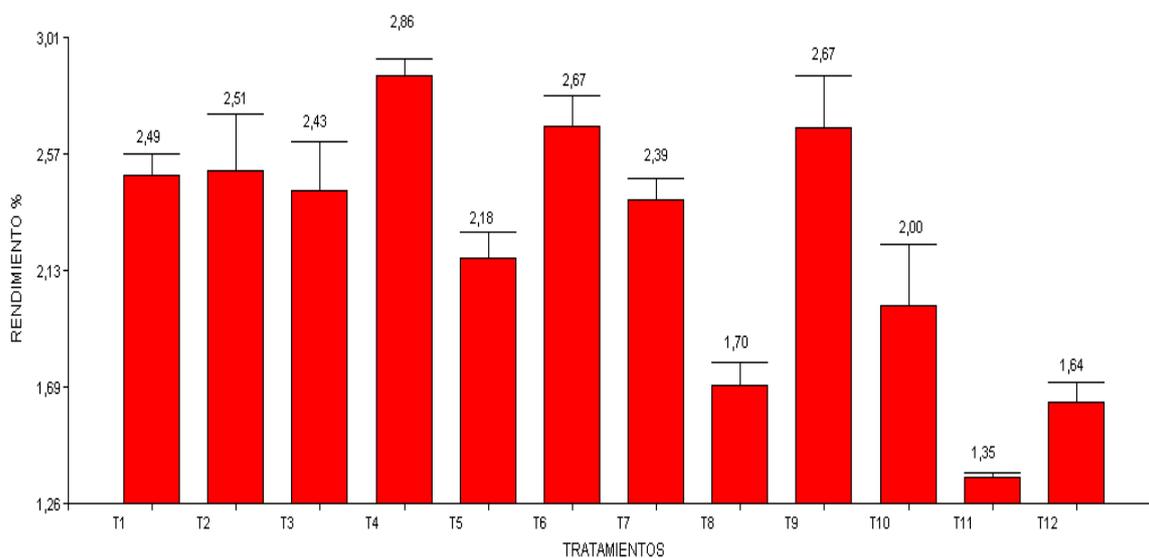
Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

**Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.71797**

Error: 0.0583 gl: 22

Fa	Fb	Fc	Medias	n	E.E.	
1.00	2.00	1.00	2.86	3	0.14	A
1.00	2.00	3.00	2.67	3	0.14	A B
2.00	1.00	3.00	2.67	3	0.14	A B
1.00	1.00	2.00	2.51	3	0.14	A B
1.00	1.00	1.00	2.49	3	0.14	A B
1.00	1.00	3.00	2.43	3	0.14	A B
2.00	1.00	1.00	2.39	3	0.14	A B C
1.00	2.00	2.00	2.18	3	0.14	A B C D
2.00	2.00	1.00	2.00	3	0.14	B C D E
2.00	1.00	2.00	1.70	3	0.14	C D E
2.00	2.00	3.00	1.64	3	0.14	D E
2.00	2.00	2.00	1.35	3	0.14	E

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )



A 3.8 Grafico del análisis estadístico para evaluar el rendimiento del extracto obtenido de las corontas en la extracción del colorante de maíz negro.

A 3.9 Análisis estadístico para evaluar el contenido de antocianinas del extracto obtenido de las corontas en la extracción del colorante de maíz negro.

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
ANTOCIANINAS	36	0,99	0,98	3,25

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	122,12	13	9,39	128,89	<0,0001
Fa	0,76	1	0,76	10,43	0,0039
Fb	0,13	1	0,13	1,84	0,1889
Fc	41,21	2	20,60	282,68	<0,0001
Repeticion	0,45	2	0,22	3,07	0,0664
Fa*Fb	1,46	1	1,46	20,08	0,0002
Fa*Fc	0,18	2	0,09	1,22	0,3157
Fb*Fc	44,17	2	22,09	303,03	<0,0001
Fa*Fb*Fc	33,76	2	16,88	231,59	<0,0001
Error	1,60	22	0,07		
Total	123,72	35			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,38009

Error: 0,0700 gl: 2

Fa	Medias	n	E.E.
1,00	8,44	18	0,06 A
2,00	8,15	18	0,06 A

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,38009

Error: 0,0700 gl: 2

Fb	Medias	n	E.E.
1,00	8,36	18	0,06 A
2,00	8,23	18	0,06 A

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,63629

Error: 0,0700 gl: 2

Fc	Medias	n	E.E.
2,00	9,21	12	0,08 A
3,00	8,88	12	0,08 A
1,00	6,79	12	0,08 B

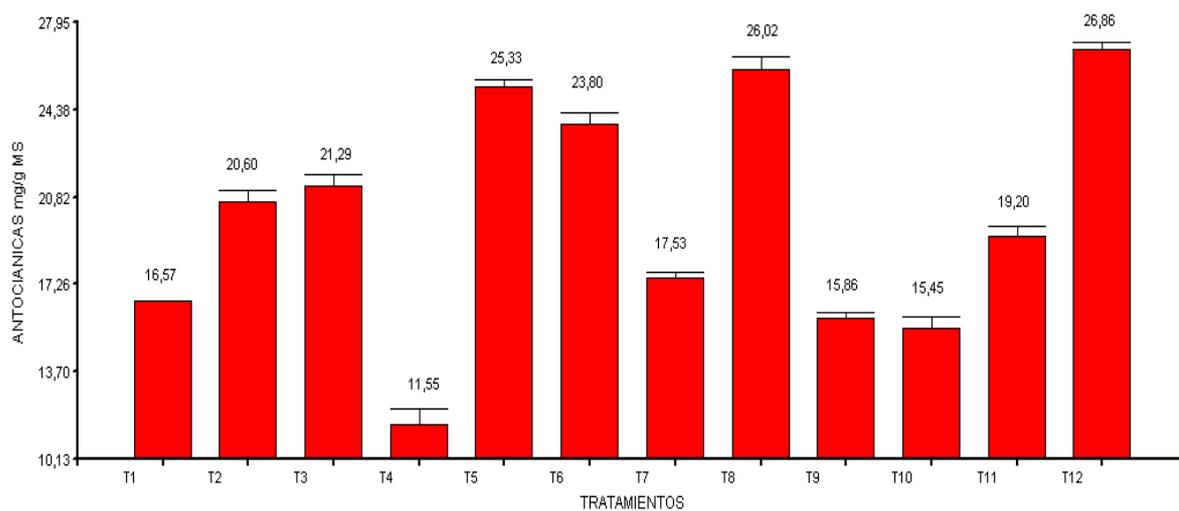
Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,25310

Error: 0,0700 gl: 2

Fa	Fb	Fc	Medias	n	E.E.	
2,00	2,00	3,00	10,86	3	0,16	A
2,00	1,00	2,00	10,52	3	0,16	A B
1,00	2,00	2,00	10,24	3	0,16	A B
1,00	2,00	3,00	9,62	3	0,16	A B C
1,00	1,00	1,00	9,17	3	0,16	A B C D
1,00	1,00	3,00	8,61	3	0,16	A B C D E
1,00	1,00	2,00	8,33	3	0,16	B C D E F
2,00	2,00	2,00	7,77	3	0,16	C D E F
2,00	1,00	1,00	7,09	3	0,16	D E F
2,00	1,00	3,00	6,41	3	0,16	E F G
2,00	2,00	1,00	6,25	3	0,16	F G
1,00	2,00	1,00	4,67	3	0,16	G

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )



A 3.10 Grafico del análisis estadístico para evaluar el contenido de antocianinas del extracto obtenido de las corontas en la extracción del colorante de maíz negro.

A. 3.11 Análisis estadístico para evaluar el índice de degradación del extracto obtenido de las corontas en la extracción del colorante de maíz negro.

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In D	36	1,00	0,99	5,29

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	223,10	13	17,16	375,75	<0,0001
Fa	155,78	1	155,78	3410,84	<0,0001
Fb	6,45	1	6,45	141,13	<0,0001
Fc	32,73	2	16,37	358,35	<0,0001
Repeticion	0,17	2	0,08	1,81	0,1870
Fa*Fb	6,15	1	6,15	134,76	<0,0001
Fa*Fc	20,10	2	10,05	220,00	<0,0001
Fb*Fc	0,88	2	0,44	9,68	0,0010
Fa*Fb*Fc	0,84	2	0,42	9,19	0,0013
Error	1,00	22	0,05		
Total	224,10	35			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,32123

Error: 0,0500 gl: 2

Fa Medias n E.E.

1,00 1,96 18 0,05 A

2,00 6,12 18 0,05 B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,32123

Error: 0,0500 gl: 2

Fb Medias n E.E.

1,00 3,61 18 0,05 A

2,00 4,46 18 0,05 B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,53776

Error: 0,0500 gl: 2

Fc Medias n E.E.

2,00 3,30 12 0,06 A

1,00 3,43 12 0,06 A

3,00 5,38 12 0,06 B

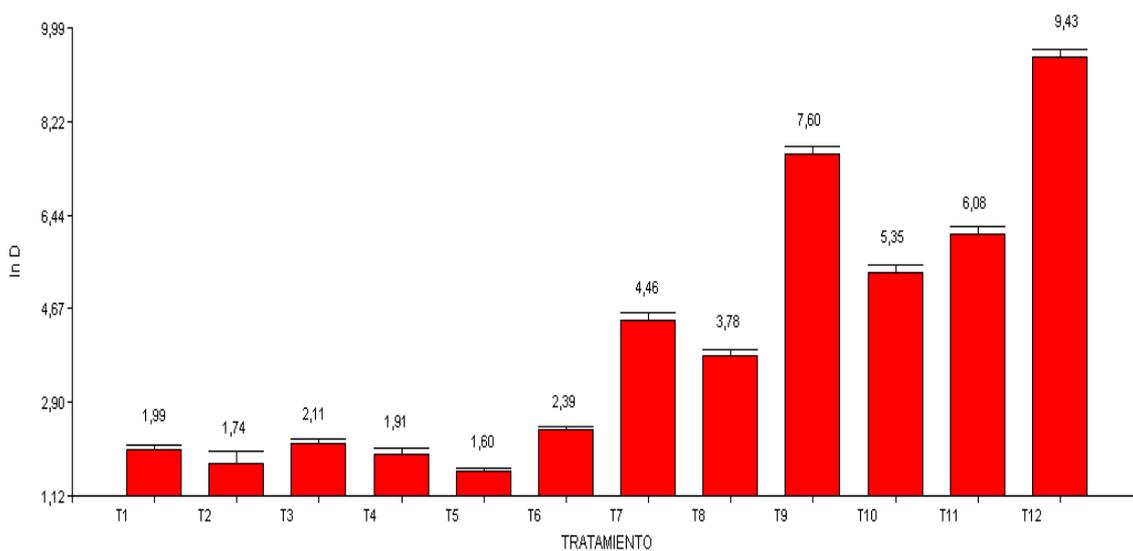
Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,90422

Error: 0,0500 gl: 2

Fa	Fb	Fc	Medias	n	E.E.	
1,00	2,00	2,00	1,60	3	0,12	A
1,00	1,00	2,00	1,74	3	0,12	A
1,00	2,00	1,00	1,91	3	0,12	A B
1,00	1,00	1,00	1,99	3	0,12	A B
1,00	1,00	3,00	2,11	3	0,12	A B
1,00	2,00	3,00	2,39	3	0,12	A B
2,00	1,00	2,00	3,78	3	0,12	B C
2,00	1,00	1,00	4,46	3	0,12	C D
2,00	2,00	1,00	5,35	3	0,12	C D
2,00	2,00	2,00	6,08	3	0,12	D E
2,00	1,00	3,00	7,60	3	0,12	E F
2,00	2,00	3,00	9,43	3	0,12	F

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )



A 3.12 Grafico del análisis estadístico para evaluar el índice de degradación del extracto obtenido de las corontas en la extracción del colorante de maíz negro.

A. 3.13 Análisis estadístico para evaluar la estabilidad a los diferentes valores pH en el extracto de los granos

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In D (ph- gr)	15	0,98	0,97	9,77

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	528,52	4	132,13	124,73	<0,0001
Tratamiento	528,52	4	132,13	124,73	<0,0001
Error	10,59	10	1,06		
Total	539,11	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,76555

Error: 1,0593 gl: 10

Tratamiento	Medias	n	E.E.
1,00	6,93	3	0,59 A
4,00	7,07	3	0,59 A
3,00	7,98	3	0,59 A
5,00	8,32	3	0,59 A
2,00	22,35	3	0,59 B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

A. 3.14 Análisis estadístico para evaluar la estabilidad a los diferentes valores pH en el extracto de las corontas

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In D (ph-T)	15	0,84	0,77	5,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

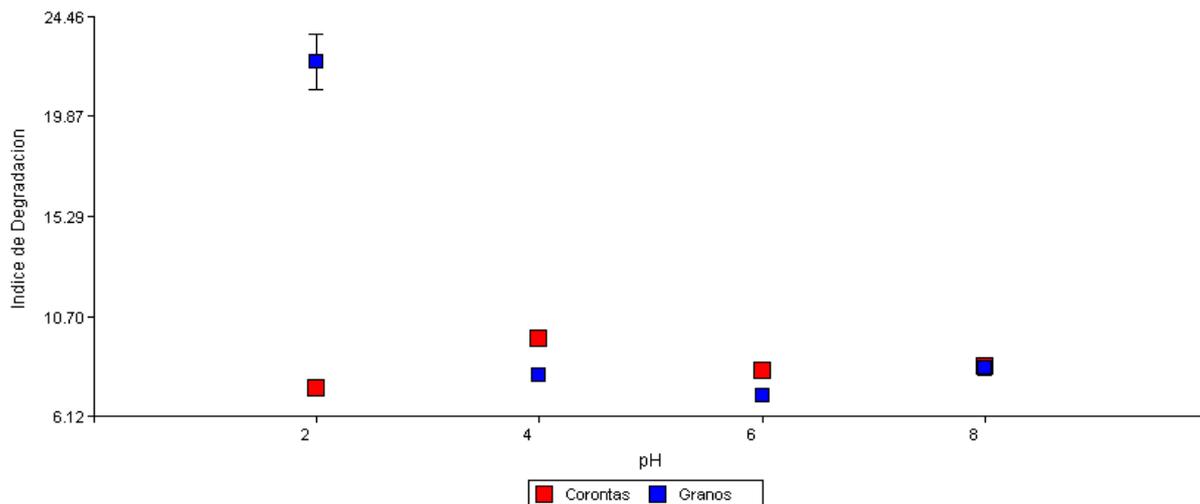
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9,42	4	2,36	12,95	0,0006
Tratamiento	9,42	4	2,36	12,95	0,0006
Error	1,82	10	0,18		
Total	11,24	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,14591

Error: 0,1819 gl: 10

Tratamiento	Medias	n	E.E.
2,00	7,39	3	0,25 A
1,00	7,69	3	0,25 A
4,00	8,19	3	0,25 A
5,00	8,38	3	0,25 A
3,00	9,68	3	0,25 B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)



A. 3.15 Gráfico del análisis estadístico para evaluar la estabilidad a diferentes pHs en el extracto de los granos y las corontas

A. 3.16 Análisis estadístico para evaluar la estabilidad a los diferentes temperaturas en el extracto de los granos

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In D (T-gr)	18	0,84	0,78	5,79

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19,71	5	3,94	12,96	0,0002
Tratamiento	19,71	5	3,94	12,96	0,0002
Error	3,65	12	0,30		
Total	23,36	17			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,51264

Error: 0,3041 gl: 12

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
1,00	7,65	3	0,32	A
2,00	8,66	3	0,32	A B
3,00	9,83	3	0,32	B C
5,00	9,93	3	0,32	B C
4,00	10,49	3	0,32	C
6,00	10,57	3	0,32	C

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

A. 3.17 Análisis estadístico para evaluar la estabilidad a los diferentes temperaturas en el extracto de las corontas

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In D (T-tusas)	18	0,37	0,11	5,62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,74	5	0,55	1,42	0,2862
Tratamiento	2,74	5	0,55	1,42	0,2862
Error	4,63	12	0,39		
Total	7,37	17			

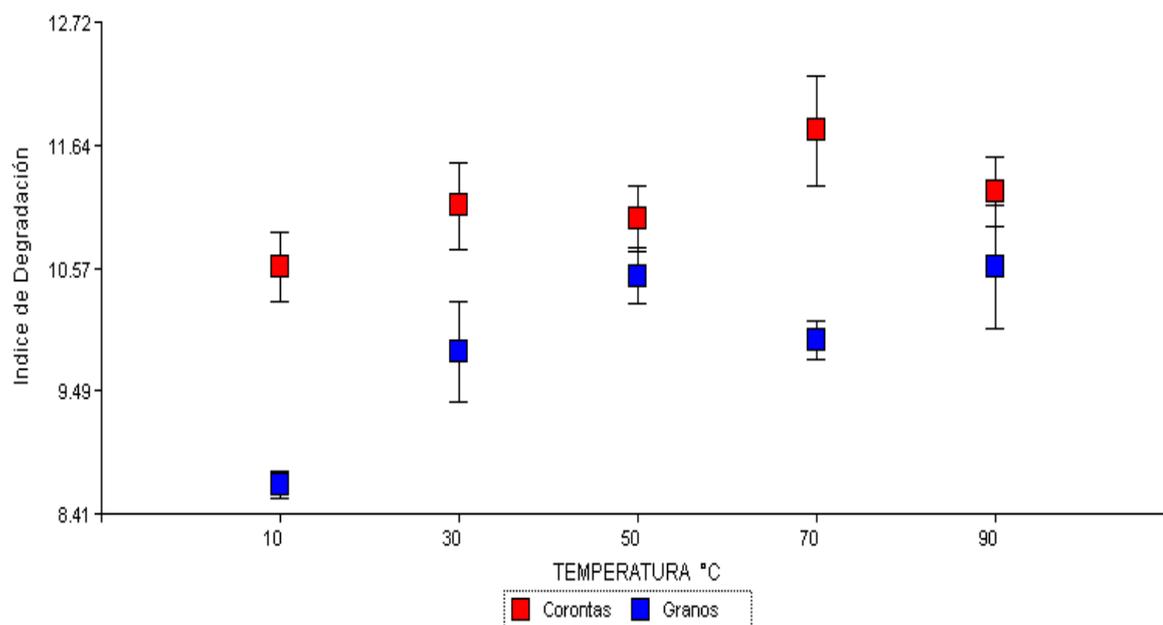
Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,70445

Error: 0,3861 gl: 12

Tratamiento Medias n E.E.

2,00	10,57	3	0,36	A
1,00	10,68	3	0,36	A
4,00	11,00	3	0,36	A
3,00	11,11	3	0,36	A
6,00	11,23	3	0,36	A
5,00	11,77	3	0,36	A

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )



A. 3.18 Gráfico del análisis estadístico para evaluar la estabilidad a diferentes temperaturas en el extracto de los granos y las corontas

A. 3.19 Análisis estadístico para evaluar la estabilidad durante el almacenamiento del extracto obtenido de los granos en estado líquido con base en el In T

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In T	96	0,92	0,91	13,10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,22	10	0,02	93,78	<0,0001
TRATAMIENTO	0,02	3	0,01	29,33	<0,0001
DIAS	0,20	7	0,03	121,40	<0,0001
Error	0,02	85	2,4E-04		
Total	0,24	95			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,02158

Error: 0,0002 gl: 3

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
2,00	0,14	24	3,2E-03	A
3,00	0,11	24	3,2E-03	B
1,00	0,11	24	3,2E-03	B
4,00	0,10	24	3,2E-03	B

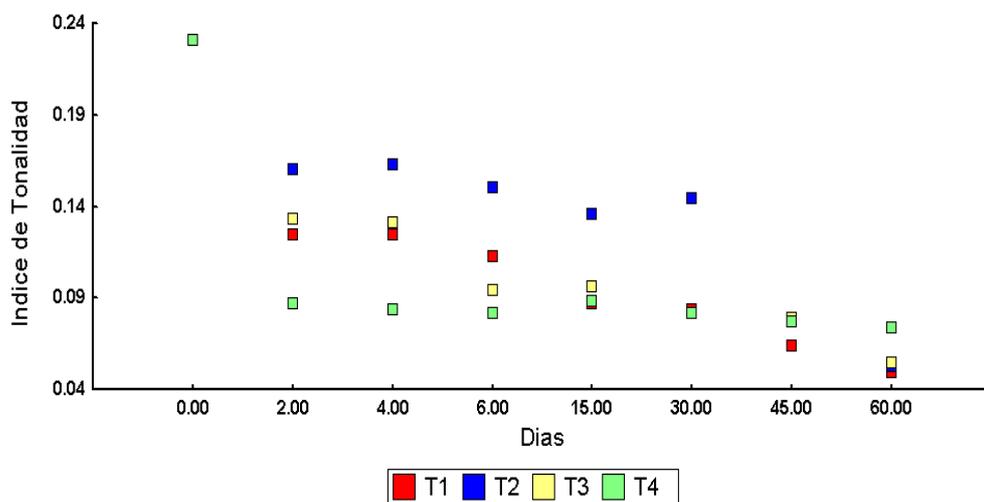
Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03959

Error: 0,0002 gl: 3

DIAS	Medias	n	E.E.	
1,00	0,23	12	4,5E-03	A
2,00	0,13	12	4,5E-03	B
3,00	0,13	12	4,5E-03	B
4,00	0,11	12	4,5E-03	B C
5,00	0,11	12	4,5E-03	B C
6,00	0,10	12	4,5E-03	B C D
7,00	0,08	12	4,5E-03	C D
8,00	0,06	12	4,5E-03	D

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)



- A. 3.20 Grafico del análisis estadístico para evaluar la estabilidad durante el almacenamiento del extracto obtenido de los granos en estado liquido con base en el In
- A. 3.21 Análisis estadístico para evaluar la estabilidad durante el almacenamiento del extracto obtenido de los granos en estado liquido con base en el In D

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In D	96	0,87	0,86	13,92

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1074,81	10	107,48	58,12	<0,0001
TRATAMIENTO	96,96	3	32,32	17,48	<0,0001
DIAS	977,85	7	139,69	75,54	<0,0001
Error	157,18	85	1,85		
Total	1231,99	95			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,89489

Error: 1,8500 gl: 3

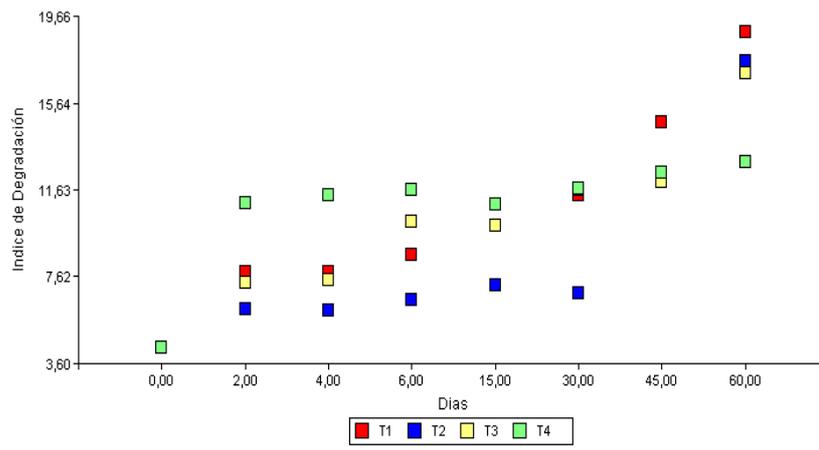
TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
2,00	8,15	24	0,28	A
3,00	9,95	24	0,28	A B
1,00	10,05	24	0,28	B
4,00	10,92	24	0,28	B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,47605

Error: 1,8500 gl: 3

DIAS	Medias	n	E.E.	
1,00	4,47	12	0,39	A
2,00	8,02	12	0,39	B
3,00	8,11	12	0,39	B
4,00	9,24	12	0,39	B C
5,00	9,46	12	0,39	B C
6,00	10,22	12	0,39	B C
7,00	12,63	12	0,39	C D
8,00	16,00	12	0,39	D



A 3.22 Gráfico del análisis estadístico para evaluar la estabilidad durante el almacenamiento del extracto obtenido de los granos en estado líquido con base en el In D

A. 3.23 Análisis estadístico para evaluar la estabilidad en el almacenamiento del extracto obtenido de los granos en estado sólido con base en el In T

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In T	96	0,88	0,87	8,60

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,07	10	0,01	62,64	<0,0001
TRATAMIENTO	2,3E-03	3	7,8E-04	7,48	0,0002
DIAS	0,06	7	0,01	86,28	<0,0001
Error	0,01	85	1,0E-04		
Total	0,07	95			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00956

Error: 0,0001 gl: 7

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
3,00	0,12	24	2,1E-03	A
4,00	0,12	24	2,1E-03	A B
1,00	0,12	24	2,1E-03	B
2,00	0,11	24	2,1E-03	B

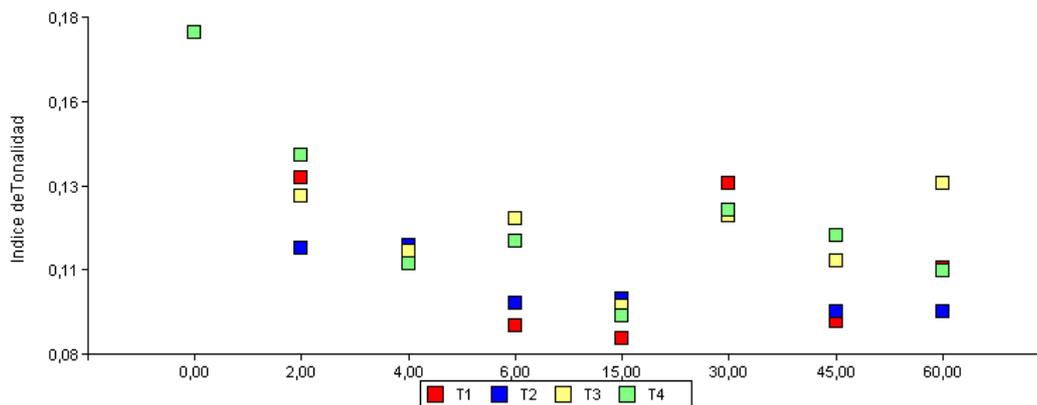
Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01679

Error: 0,0001 gl: 7

DIAS	Medias	n	E.E.	
1,00	0,18	12	2,9E-03	A
2,00	0,13	12	2,9E-03	B
6,00	0,13	12	2,9E-03	B C
3,00	0,11	12	2,9E-03	C D
8,00	0,11	12	2,9E-03	D
4,00	0,10	12	2,9E-03	D E
7,00	0,10	12	2,9E-03	D E
5,00	0,09	12	2,9E-03	E

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)



A 3.24 Grafico del análisis estadístico para evaluar la estabilidad durante el almacenamiento del extracto obtenido de los granos en estado sólido con base en el In T

A. 3.25 Análisis estadístico para evaluar la estabilidad en el almacenamiento del extracto obtenido de los granos en estado sólido con base en el In D.

## Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In D	96	0,82	0,79	9,28

## Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	252,91	10	25,29	37,62	<0,0001
TRATAMIENTO	18,66	3	6,22	9,25	<0,0001
DIAS	234,25	7	33,46	49,78	<0,0001
Error	57,15	85	0,67		
Total	310,06	95			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,78211

Error: 0,6700 gl: 7

TRATAMIENTO Medias n E.E.

3,00	8,28	24	0,17	A
4,00	8,51	24	0,17	A B
1,00	9,23	24	0,17	B C
2,00	9,30	24	0,17	C

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

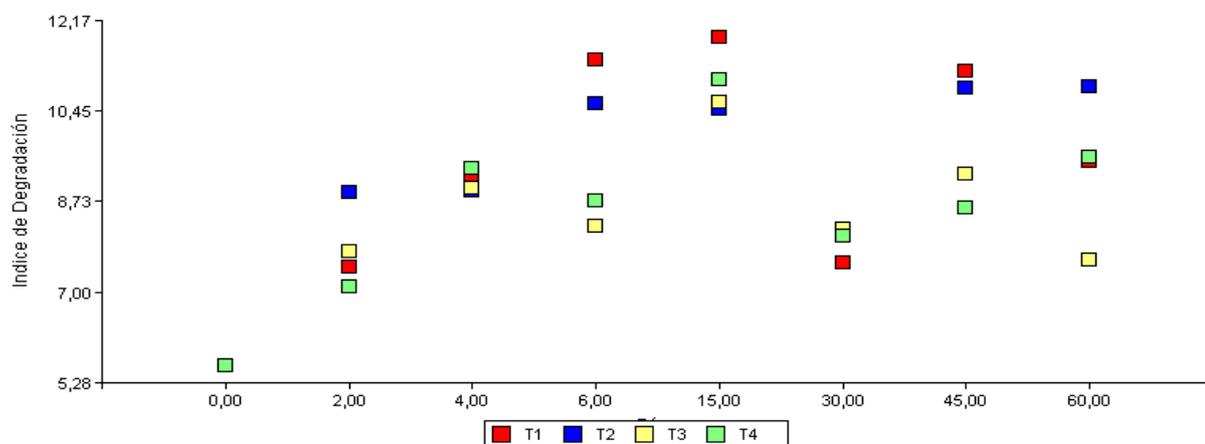
Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,37403

Error: 0,6700 gl: 7

DIAS Medias n E.E.

1,00	5,59	12	0,24	A
2,00	7,82	12	0,24	B
6,00	7,98	12	0,24	B
3,00	9,12	12	0,24	B C
8,00	9,40	12	0,24	C
4,00	9,75	12	0,24	C D
7,00	9,99	12	0,24	C D
5,00	11,00	12	0,24	D

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )



A 3.26 Gráfico del análisis estadístico para evaluar la estabilidad durante el almacenamiento del extracto obtenido de los granos en estado sólido con base en el In D

A. 3.27 Análisis estadístico para evaluar la estabilidad en el almacenamiento del extracto obtenido de las corontas en estado líquido con base en el In T

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In T	96	0,92	0,91	8,14

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,12	10	0,01	96,52	<0,0001
TRATAMIENTO	3,2E-03	3	1,1E-03	8,46	0,0001
DIAS	0,12	7	0,02	134,26	<0,0001
Error	0,01	85	1,3E-04		
Total	0,13	95			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01089**  
 Error: 0,0001 gl: 7

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
2,00	0,15	24	2,3E-03	A
1,00	0,14	24	2,3E-03	A B
4,00	0,13	24	2,3E-03	B
3,00	0,13	24	2,3E-03	B

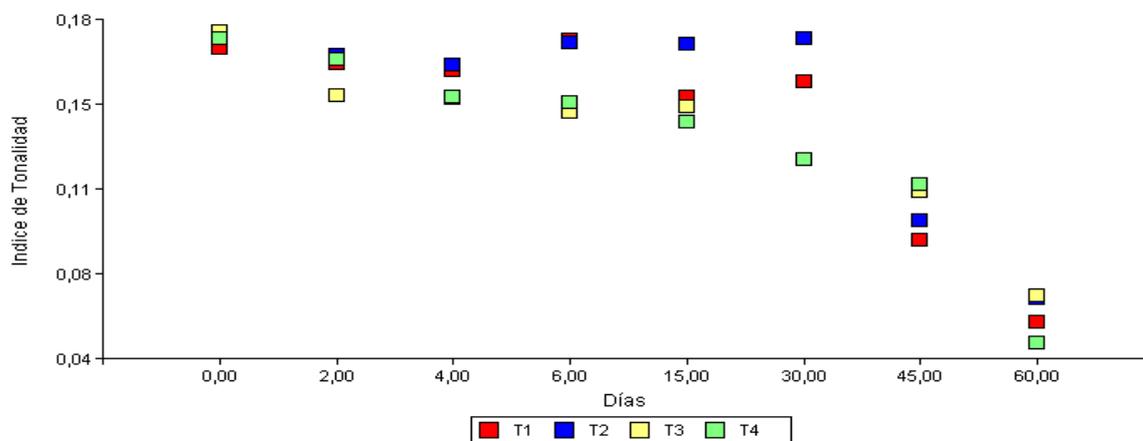
*Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)*

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01914**  
 Error: 0,0001 gl: 7

DIAS	Medias	n	E.E.	
1,00	0,17	12	3,3E-03	A
2,00	0,16	12	3,3E-03	A B
4,00	0,16	12	3,3E-03	A B
3,00	0,16	12	3,3E-03	B
5,00	0,15	12	3,3E-03	B
6,00	0,14	12	3,3E-03	B
7,00	0,11	12	3,3E-03	C
8,00	0,06	12	3,3E-03	D

*Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)*



A 3.28 Grafico del análisis estadístico para evaluar la estabilidad durante el almacenamiento del extracto obtenido de las corontas en estado líquido con base en el In T

A. 3.29 Análisis estadístico para evaluar la estabilidad en el almacenamiento del extracto obtenido de las corontas en estado líquido con base en el In D

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In D	96	0,93	0,92	12,92

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1291,43	10	129,14	112,59	<0,0001
TRATAMIENTO	23,51	3	7,84	6,83	0,0004
DIAS	1267,93	7	181,13	157,91	<0,0001
Error	97,50	85	1,15		
Total	1388,93	95			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,02467

Error: 1,1500 gl: 7

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
2,00	7,62	24	0,22	A
3,00	8,08	24	0,22	A B
1,00	8,50	24	0,22	A B
4,00	8,95	24	0,22	B

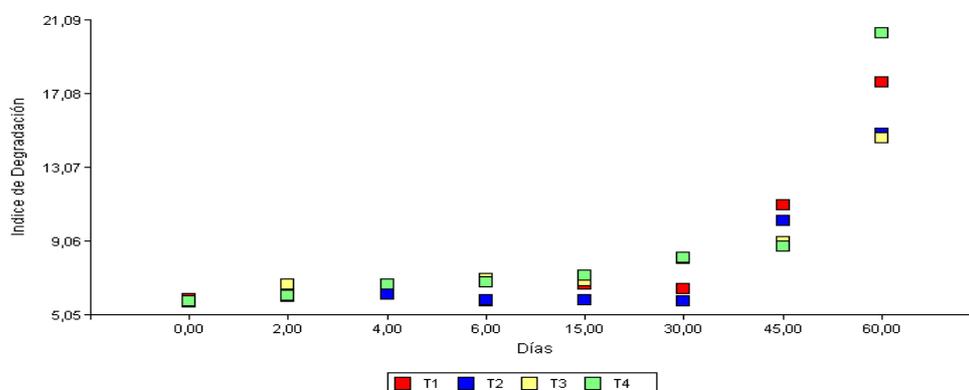
Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,80015

Error: 1,1500 gl: 7

DIAS	Medias	n	E.E.	
1,00	5,82	12	0,31	A
2,00	6,24	12	0,31	A
4,00	6,41	12	0,31	A
3,00	6,44	12	0,31	A
5,00	6,88	12	0,31	A
6,00	7,27	12	0,31	A
7,00	9,86	12	0,31	B
8,00	17,40	12	0,31	C

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )



A 3.30 Gráfico del análisis estadístico para evaluar la estabilidad durante el almacenamiento del extracto obtenido de las corontas en estado líquido con base en el In D

A. 3.31 Análisis estadístico para evaluar la estabilidad en el almacenamiento del extracto obtenido de las corontas en estado sólido con base en el In T

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In T	96	0,73	0,70	9,87

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,04	10	4,4E-03	23,35	<0,0001
TRATAMIENTO	0,01	3	3,3E-03	17,80	<0,0001
DIAS	0,03	7	4,8E-03	25,73	<0,0001
Error	0,02	85	1,9E-04		
Total	0,06	95			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01317

Error: 0,0002 gl: 7

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
4,00	0,15	24	2,8E-03	A
1,00	0,15	24	2,8E-03	A
2,00	0,13	24	2,8E-03	B
3,00	0,13	24	2,8E-03	B

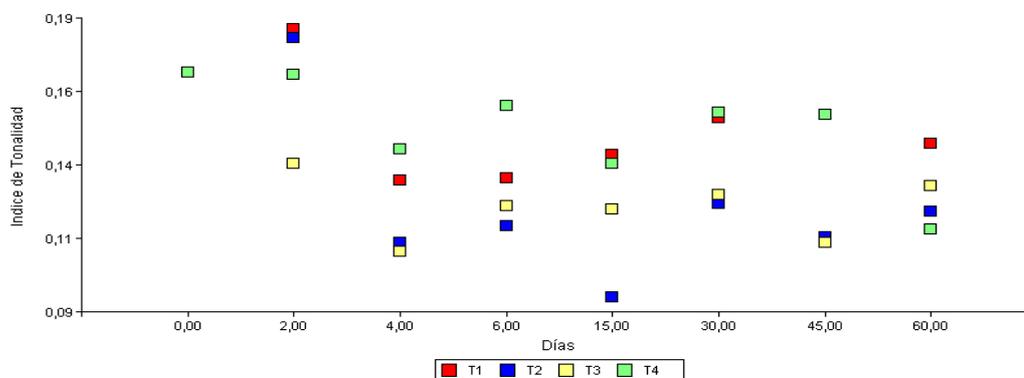
Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,02314

Error: 0,0002 gl: 7

DIAS	Medias	n	E.E.	
1,00	0,17	12	3,9E-03	A
2,00	0,17	12	3,9E-03	A
6,00	0,14	12	3,9E-03	B
4,00	0,13	12	3,9E-03	B
8,00	0,13	12	3,9E-03	B
3,00	0,12	12	3,9E-03	B
5,00	0,12	12	3,9E-03	B
7,00	0,12	12	3,9E-03	B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)



A 3.32 Gráfico del análisis estadístico para evaluar la estabilidad durante el almacenamiento del extracto obtenido de las corontas en estado sólido con base en el In T

A. 3.33 Análisis estadístico para evaluar la estabilidad en el almacenamiento del extracto obtenido de las corontas en estado sólido con base en el In D

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
In D	96	0,69	0,65	10,89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	122,74	10	12,27	18,57	<0,0001
TRATAMIENTO	35,48	3	11,83	17,90	<0,0001
DIAS	87,26	7	12,47	18,86	<0,0001
Error	56,17	85	0,66		
Total	178,91	95			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,77626

Error: 0,6600 gl: 7

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
4,00	6,74	24	0,17	A
1,00	7,00	24	0,17	A
3,00	7,94	24	0,17	B
2,00	8,18	24	0,17	B

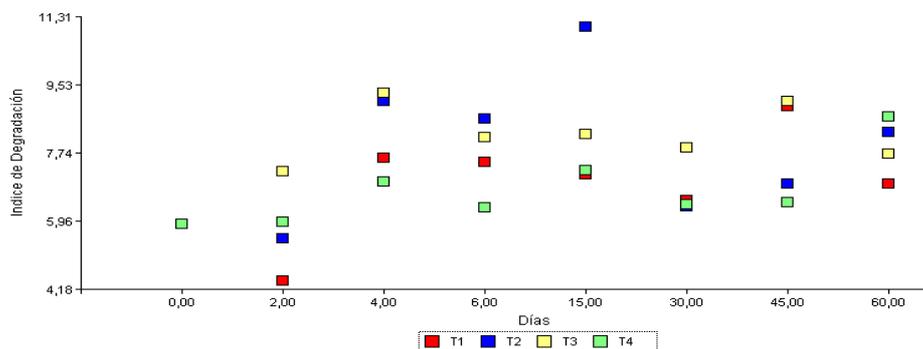
Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,36374

Error: 0,6600 gl: 7

DIAS	Medias	n	E.E.	
1,00	5,88	12	0,23	A
2,00	6,02	12	0,23	A
6,00	7,20	12	0,23	A B
4,00	7,65	12	0,23	B
8,00	7,91	12	0,23	B
3,00	8,26	12	0,23	B
7,00	8,37	12	0,23	B
5,00	8,43	12	0,23	B

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )



A 3.34 Gráfico del análisis estadístico para evaluar la estabilidad durante el almacenamiento del extracto obtenido de las corontas en estado sólido con base en el In D