

Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (*Zea mays* L.): Método de extracción

[Anthocyanins, total phenolic compounds and antioxidant activity of purple corn (*Zea mays* L.) cobs: Extraction method]

Arlimi GORRITI GUTIERREZ¹, Jorge ARROYO ACEVEDO¹, Luisa NEGRON BALLARTE¹, Bertha JURADO TEIXEIRA¹, Harold PURIZACA LLAJARUNA¹, Ilario SANTIAGO AQUISE¹, Evelyng TAYPE ESPINOZA¹, Fredy QUISPE JACOBO²

¹Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marco, Lima, Perú.

²Empresa AGRONEGOCIOS PERUAGRO S.R.L., Lima, Perú

Abstract

Anthocyanins, total phenolic compounds and antioxidant activity of the extracts of purple corn cobs were evaluated in the investigation. The extractions were carried out in ethanolic solutions to 20% and pH 2 conditioned according to a factorial design with the factors temperature and times both in 4 levels. The results indicate anthocyanins between 11.567 and 37.127 mg/g cob, total phenolic compounds expressed as GAE between 23.426 and 76.962 mg GAE/g cob, and DPPH remaining between 17.06 and 68.80 %. The analysis of lineal regression indicates highly significant dependences between the antioxidant activity and total phenolic compounds ($r^2 = 0.9974$).

Keywords: Corn purple cob; *Zea mays*; Anthocyanins; Phenolic compounds; Antioxidant activity, DPPH.

Resumen

Las antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de los extractos de corontas de maíz morado fueron evaluados en la investigación. Las extracciones se realizaron en soluciones etanólicas al 20 % y pH 2 acondicionadas según un diseño factorial con los factores temperatura y tiempo ambos en 4 niveles. Los resultados indican antocianinas entre 11.567 y 37.127 mg/g de coronta, fenoles totales expresados como GAE entre 23.426 y 76.962 mg GAE/g de coronta, y DPPH remanente entre los 17.06 y 68.80 %. El análisis de regresión lineal indica dependencias altamente significativas entre la actividad antioxidante y fenoles totales ($r^2 = 0.9974$).

Palabras Clave: Maíz morado; *Zea mays*; Antocianinas; Fenoles totales; Actividad antioxidante; DPPH.

Recibido | Received: January 30, 2009.

Aceptado en Versión Corregida | Accepted in Corrected Version: June 15, 2009.

Publicado en Línea | Published Online: November 30, 2009

Declaración de intereses | Declaration of interests: Authors have no competing interests.

Financiación | Funding: This work was financed by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de Perú – CONCYTEC, Proyecto No. 317-2007-CONCYTEC.

This article must be cited as: Arlimi Gorriti Gutierrez, Jorge Arroyo Acevedo, Luisa Negron Ballarte, Bertha Jurado Teixeira, Harold Purizaca Llajaruna, Ilario Santiago Aquise, Evelyng Taype Espinoza, Fredy Quispe Jacobo. 2009. Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (*Zea mays* L.): Método de extracción. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat 8(6):509 – 518. {EPub November 30, 2009}.

*Contactos | Contacts: Email arlimigorritig@gmail.com, agronegocios.peruagro@gmail.com.



BLACPMA es una publicación de la [Cooperación Latinoamericana y Caribeña de Plantas Medicinales y Aromáticas](#)

This is an open access article distributed under the terms of a Creative Commons Attribution-Non-Commercial-No Derivative Works 3.0 Unported Licence. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>) which permits to copy, distribute and transmit the work, provided the original work is properly cited. You may not use this work for commercial purposes. You may not alter, transform, or build upon this work. Any of these conditions can be waived if you get permission from the copyright holder. Nothing in this license impairs or restricts the author's moral rights.

Este es un artículo de Acceso Libre bajo los términos de una licencia "Atribución Creativa Común-No Comercial-No trabajos derivados 3.0 Internacional" (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/deed.es>) Usted es libre de copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra bajo las condiciones siguientes: Reconocimiento. Debe reconocer los créditos de la obra de la manera especificada por el autor o el licenciadore (pero no de una manera que sugiera que tiene su apoyo o apoyan el uso que hace de su obra). No comercial. No puede utilizar esta obra para fines comerciales. Sin obras derivadas. No se puede alterar, transformar o generar una obra derivada a partir de esta obra. Al reutilizar o distribuir la obra, tiene que dejar bien claro los términos de la licencia de esta obra. Alguna de estas condiciones puede no aplicarse si se obtiene el permiso del titular de los derechos de autor. Nada en esta licencia menoscaba o restringe los derechos morales del autor.

INTRODUCCIÓN

El maíz morado es una variedad pigmentada de *Zea mays* L., cultivado en América Latina, principalmente en Perú y Bolivia, donde se utiliza en la elaboración de bebidas “Chicha morada”, mazamorras y otros alimentos (Escribano-Bailón et al., 2004); el maíz morado es uno de los cereales donde la composición de antocianinas ha sido definida por estudios de espectrometría de masas (LC-DAS-MS), ^1H y ^{13}C RMN bidimensional homo y heteronuclear, HSCCC y HPLC-MS (Escribano-Bailón et al., 2004), el estudio de componentes desarrollado por Pascual-Teresa et al. (2002) y Schwartz et al. (2003) de un extracto comercial de corontas de maíz morado revela la presencia de un dímero y derivados mono y di-glicosidados de cianidina, pelargonidina y peonidina, Tabla 1. Las características estructurales de las antocianinas y los colores atractivos que presentan, su relativa estabilidad en medio acuoso según el pH con la presencia de estructuras tales como el catión flavilium, una base quinoidal, una pseudo base carbinol y

una chalcona (Mazza & Miniati, 1993; Giusti & Wroslstad, 2001; Cabrita et al., 2004), determinan una mayor estabilidad frente a cambios de pH, temperatura y exposición a la luz, debido a procesos de copigmentación y asociación intermolecular e intramolecular que se desarrollan en el medio (Escribano-Bailón et al., 2004; Salas et al., 2004), convierten a estos compuestos en fuentes potenciales de colorantes naturales (Escribano-Bailón et al., 2004; Cevallos-Casals y Cisneros-Zevallos, 2004; Giusti & Wroslstad, 2003), y sustancias activas de alimentos funcionales, nutraceuticos y medicamentos (Korhonen, 2002). Los dobles enlaces deslocalizados en estos polifenoles y la presencia de otros compuestos fenólicos en las corontas de maíz morado determinan una serie de propiedades que fueron demostradas en estos compuestos (Duhard et al., 1997). El objetivo principal de la presente investigación fue la identificación de las condiciones de extracción de los compuestos activos de las corontas del maíz morado a través de la determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante.

Tabla 1 - Componentes de un extracto comercial de antocianinas de corontas de maíz morado

Pico	Compuesto	Rf	[M] ⁺	Fragmentos [M+H] ⁺	AR (%)
1	Dímero ^a	14,0	899	737; 575; 423	1,8
2	Cianidina-3-glucósido	28,8	449	287	54,3
3	Pelargonidina-3-glucósido	34,8	433	271	6,1
4	Peonidina-3-glucósido	37,2	463	301	14,7
5	Cianidina-3-(6''-malonilglucósido)	39,8	535	449; 287	11,6
6	Pelargonidina-3-(6''-malonilglucósido)	42,3	519	433; 271	3
7	Peonidina-3-(6''-malonilglucósido)	43,2	549	463; 301	5,5
8	Cianidina-3-(6''-etilmalonilglucósido)	47,7	563	449; 287	2,6
9	Pelargonidina-3-(6''-etilmalonilglucósido)	48,9	547	433; 271	0,2
10	Peonidina-3-(6''-etilmalonilglucósido)	49,5	577	463; 301	0,1

a: Dímero formado por la condensación directa de un flavan-3-ol y cianidina-3,5-diglucósido, AR: Abundancia relativa. Resultados encontrados por Pascual-Teresa et al. (2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales y reactivos

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

Métodos

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

Alrededor de 2,5 g de muestra (coronta molida y tamizada de maíz morado) fueron extraídos con 200 mL de solución etanólica al 20 % y pH 2, bajo determinadas condiciones de tiempos de extracción (30, 60, 120 y 240 min.) y temperaturas de extracción (25, 60, 75 y 90 °C). Los extractos obtenidos fueron filtrados a través de papel filtro (Whatman No.1) con la ayuda de una bomba de vacío (COPELAMETIC, USA), y una alícuota del extracto se diluyen convenientemente en una fiola de 25 mL con las soluciones buffer de cloruro de potasio (pH 1) y acetato de sodio (pH 4.5). En las soluciones preparadas se determinó el contenido de antocianinas según el método de pH diferencial, de acuerdo a Giusti & Wroslstad (2001) utilizando un espectrofotómetro UV-Vis (PHARO 300, Merck) y su contenido se expresó como cianidina-3-glucósido de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{Antocianinas (mg/L)} = \Delta A \times MW \times FD \times 1000 / (\epsilon \times l) \quad (1)$$

Donde ΔA (cambio en la absorbancia) = $(A_{510} - A_{700})$ a pH 1,0 - $(A_{510} - A_{700})$ a pH 4.5; MW (del inglés *molecular weight*, masa molecular) = 449.2 g/mol para cianidina-3-glucósido; FD = factor de dilución; l = longitud de paso de celda en cm; ϵ = 26900 (coeficiente de extinción molar) para cianidina-3-glucósido; 1000 = factor de conversión de gramos (g) a miligramos (mg); todos los análisis fueron realizados por triplicado ($n = 3$), (Yang et al., 2007a; Wroslstad et al., 2003).

Determinación de fenoles totales

La cantidad de fenoles totales se determinó según el método de Folin-Ciocalteu usando ácido gálico como estándar, para esto se prepararon soluciones de 40, 80, 120, 160 y 200 ppm con las que se construyó la curva de calibración, dando un $r^2 = 0,9994$. El procedimiento para la evaluación de fenoles totales fue el siguiente, una alícuota de la muestra (0,7 mL) se mezcló con 7 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, (10 %) dejándose en reposo por 3 min, seguidamente se mezclaron con 7 mL de carbonato de sodio (7,5 %) y la solución resultante se dejó en reposo por 2 horas a temperatura ambiente y en oscuridad, las absorbancias de las muestras fueron leídas a 760 nm en un espectrofotómetro UV-Vis. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado, y los fenoles totales fueron expresados como equivalentes en miligramos de ácido gálico (GAE) por g de muestra (Fiskaa et al., 2007; Hülya, 2007; Zheng et al., 2007).

Determinación de la actividad antioxidante según DPPH

El efecto antioxidante de las muestras sobre el radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) se evaluó de la siguiente manera, 0.1 mL de la muestra se procede a mezclar con 3.9 mL de una solución 0,25 mM del radical DPPH, se homogeniza y dejan en reposo por 90 minutos en la oscuridad a 25 °C, transcurrido el tiempo se procede a medir la absorbancia a 517 nm en el espectrofotómetro UV-Vis. El porcentaje remanente de DPPH en solución fue calculado según la ecuación:

$$\text{DPPH remanente (\%)} = (A_0 - A_f) / A_0 \times 100 \quad (2)$$

Donde: A_0 , A_f , representan respectivamente las absorbancias inicial del DPPH y de la muestra con DPPH después de 90 min. Todos los análisis fueron realizados por triplicado ($n = 3$), (Pérez et al., 2003; Llorach et al., 2008; Iqbal et al., 2007).

Análisis estadístico

Todos los resultados fueron analizados en el paquete estadístico SAS V7 (SAS Institute Inc.), el análisis factorial implementado a nivel de laboratorio para la preparación de los extractos contemplo los factores: temperatura de extracción (25, 60, 75 y 90 °C; 4 niveles) y tiempo de extracción (30, 60, 120 y 240 min; 4 niveles) bajo un pH de extracción de 2 y una solución etanólica al 20%. Los resultados fueron

sometidos a un análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan ($p < 0,05$) empleando el procedimiento GLM en un diseño completo al azar con arreglo factorial en el programa SAS, la hipótesis planteada en los experimentos fue que todos los tratamientos a la muestra (temperatura de extracción y tiempo de extracción) tienen el mismo efecto sobre la concentración de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante (Salinas y Daza, 1996; Chipana, 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Antocianinas

La extracción de antocianinas de las corontas de maíz morado en solución etanólica al 20% y pH 2, según el diseño factorial que considero los factores temperatura de extracción con los niveles 25, 60, 75 y 90 °C, y tiempo de extracción con los niveles 30, 60, 120 y 240 min, indica que existen diferencias altamente significativas con $p < 0,01$ para los diferentes tratamientos realizados a la muestra según

el análisis de varianza, y prueba de rangos múltiples de Duncan con $p < 0,05$, Tabla 2.

Los valores encontrados para las antocianinas extraídas de las corontas de maíz morado, según las diferentes condiciones de extracción y la expresión (1), indican valores entre 11,567 mg/g coronta para el tratamiento 1 (Temperatura de 25 °C y tiempo 30 minutos) y 37,127 mg/g coronta para el tratamiento 12 (temperatura de 75 °C y tiempo de 240 minutos). De acuerdo al análisis de significancia de Duncan con $p < 0,05$ se observa que las mejores condiciones de extracción de antocianinas de las corontas de maíz morado se realizan a la temperatura de 75 °C y en tiempos de 120 y 240 min, Tabla 2 y Fig. 1, las condiciones extracción con bajos contenidos de antocianinas corresponden a la temperatura de 25 °C y el tiempo de 30 minutos.

Las condiciones de extracción en solución etanólica al 20% y pH 2 se encuentran consideradas en la patente No. US 7, 192,456 B2 (Method of preparing a purified purple corn colour agent) que recomienda soluciones hidroalcohólicas al 20 – 40% y pHs ácidos, (Takahito et al., 2007).

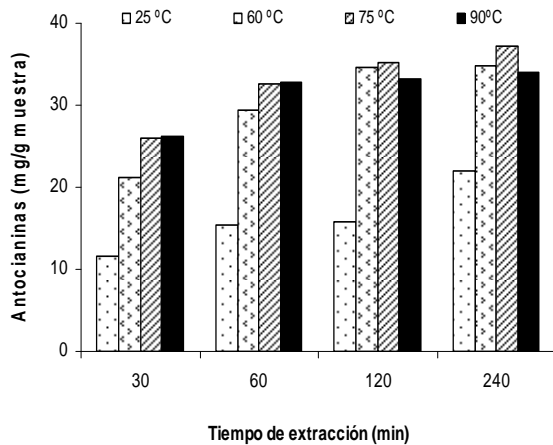
Tabla 2 - Antocianinas, fenoles totales y DPPH remanente en los diferentes tratamientos

T	Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)	Antocianinas (mg/g muestra)	Fenoles totales (GAE mg/g muestra)	DPPH remanente (%)
1	25	30	11,567 ± 1,272 e	23,426 ± 0,233 m	68,80 ± 0,087 a
2	25	60	15,322 ± 0,564 e,d	29,081 ± 0,178 k	65,95 ± 0,121 b
3	25	120	15,721 ± 0,717 e,d	27,337 ± 0,102 l	65,90 ± 0,158 b
4	25	240	22,000 ± 0,840 c,d	29,995 ± 0,128 j	65,39 ± 0,139 c
5	60	30	21,130 ± 2,039 c,d	70,037 ± 0,058 i	17,07 ± 0,451 k
6	60	60	29,437 ± 3,330 a,b,c	70,748 ± 0,155 h	18,28 ± 0,138 i,j
7	60	120	34,629 ± 2,290 a,b	71,561 ± 0,077 g	19,47 ± 0,190 g
8	60	240	34,734 ± 3,793 a,b	72,442 ± 0,051 f	20,11 ± 0,359 f
9	75	30	25,939 ± 1,543 b,c	73,796 ± 0,058 e	27,11 ± 0,190 d
10	75	60	32,649 ± 0,986 a,b	73,830 ± 0,155 e	21,71 ± 0,139 e
11	75	120	35,233 ± 0,733 a	74,761 ± 0,106 d	20,06 ± 0,263 f
12	75	240	37,127 ± 10,226 a	75,337 ± 0,134 c	20,21 ± 0,182 f
13	90	30	26,177 ± 3,493 b,c	75,202 ± 0,178 d	20,03 ± 0,124 f
14	90	60	32,841 ± 4,605 a,b	75,658 ± 0,205 b	18,98 ± 0,155 h
15	90	120	33,286 ± 2,705 a,b	76,962 ± 0,254 a	18,63 ± 0,268 i,h
16	90	240	34,010 ± 10,421 a,b	76,945 ± 0,178 a	18,11 ± 0,155 j

T: tratamiento, solución de extracción: 20% etanol, pH de extracción: 2, valores promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar.

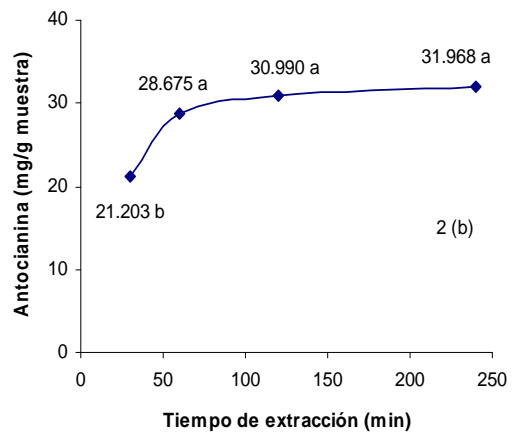
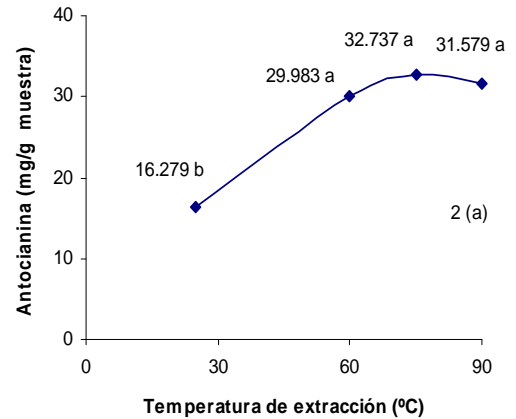
Las medias seguidas por las mismas letras dentro de cada columna no son significativas en $p < 0,05$.

Figura 1 - Contenido de antocianinas según temperatura y tiempo de extracción en los diferentes tratamientos.



Yang et al. (2007a), en un trabajo relacionado con la optimización de extracción de antocianinas de corontas de maíz morado de un cultivar de la China en soluciones etanolicas y metanolicas en medio ácido acondicionados con ácido acético y cítrico, encontraron valores cercanos a 6 mg/g muestra (5,90 mg de antocianina/g muestra) según diseño factorial, ese mismo año Yang et al. (2007b) en otra investigación relacionada con la cinética de degradación térmica de antocianinas del maíz morado en medio acuoso encontraron el valor de 0,680 mg de antocianina/g muestra, en ambos casos los valores fueron inferiores a los hallados en la investigación. Escribano-Bailón et al. (2004) en una revisión de antocianinas en cereales mencionaron contenidos de 1642 mg/100g en base húmeda para el maíz morado y 1779 mg/100g en base seca, cercanos a los encontrados en la investigación. La investigación desarrollada por Pedreschi y Cisneros-Zevallos (2007) sobre antocianinas de un extracto comercial de antocianinas del maíz morado proveniente de Perú, determinó contenidos de antocianina/g de la fracción acuosa (FA) según HPLC-DAD en los niveles de 15,43 mg de cianidina 3-glucósido/g de FA, 2,33 mg de pelargonidina 3-glucósido/g de FA, 4,44 mg de peonidina 3-glucósido/g de FA, 10,37 mg de cianidina acilada 3-glucósido/g de FA, 2,83 mg de pelargonidina acilada 3-glucósido/g de FA y 4,85 mg de peonidina acilada 3-glucósido/g de FA, que hacen un total de 40,25 mg de antocianinas/g de FA, valores superiores a los encontrados en la investigación.

Figura 2 - Contenido de antocianinas según factores individuales de temperatura y tiempo de extracción



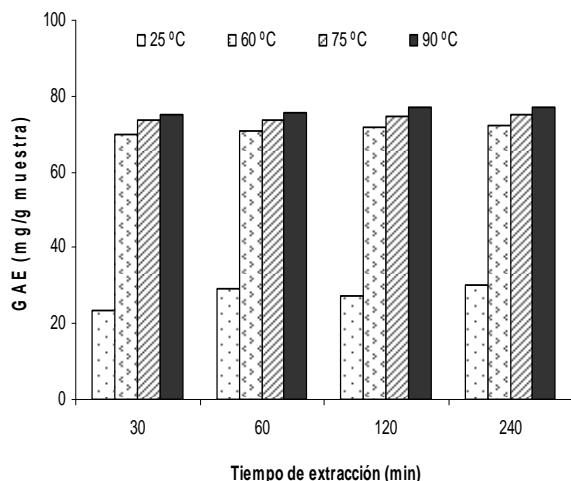
La evaluación de los efectos individuales de la temperatura y el tiempo de extracción sobre el contenido de antocianinas en los diferentes tratamientos según pruebas de rangos múltiples de Duncan con $p < 0,05$ para determinar las mejores condiciones de extracción considerando un solo factor (tiempo, temperatura), muestra que no existen diferencias de extracción de antocianinas a las temperaturas de 60, 75 y 90 °C, a pesar de que a los 75 °C se observa el mayor valor promedio (32,737 mg/g de coronta), Fig. 2(a); según el tiempo de extracción las antocianinas extraídas a 60, 120 y 240 min son estadísticamente similares, los valores se etiquetan como “a”, Figura 2(b); resultados que difieren cuando se evalúan las interacciones entre ambos factores tiempo *temperatura, Tabla 2 y Fig.1, donde las mejores condiciones de extracción

corresponden a los tratamientos 11 y 12 con 35,233 y 37,127 mg/g de coronta, respectivamente.

Fenoles totales

El contenido de fenoles totales según la metodología de Folin-Ciocalteu muestra valores promedio expresados como equivalentes en mg de ácido gálico (GAE) por g de coronta para los extractos entre, 23,426 mg/g para las condiciones temperatura y tiempo de extracción de 25 °C y 30 min y 76,945 mg/g para la temperatura de 90 °C y tiempo de 240 minutos. El análisis de varianza de los fenoles totales encontrados en los diferentes extractos (16 tratamientos), de acuerdo al diseño factorial planteado indica diferencias altamente significativas con $p < 0,01$ para las diferentes condiciones de extracción. Las mejores condiciones de extracción de estos compuestos corresponden a los tratamientos 15 y 16 (temperatura de 90 °C y tiempos de 120 y 240 min), según la prueba de rangos múltiples de Duncan con $p < 0,05$ que en la Tabla 2 se etiquetan con letra “a” de la columna respectiva, Fig. 3.

Figura 3 - Fenoles totales según temperatura y tiempo de extracción en los tratamientos

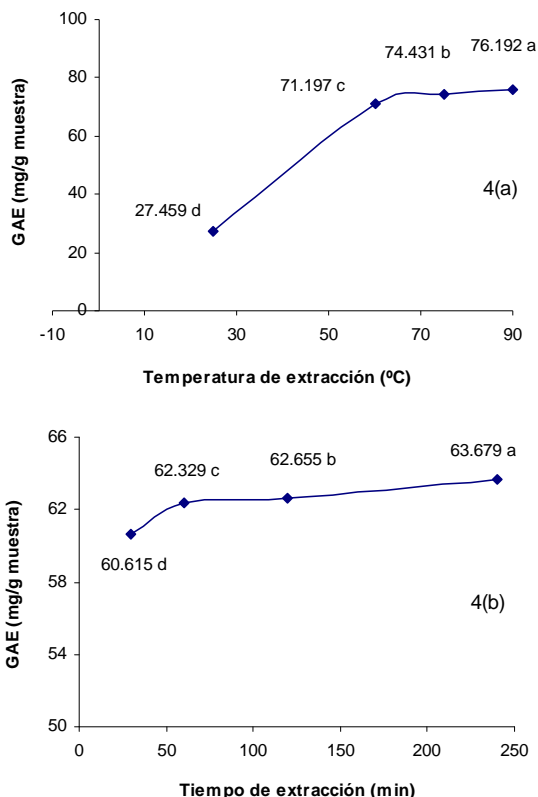


Pedreschi y Cisneros-Zevallos (2007) en un estudio sobre compuestos fenólicos del maíz morado, al analizar por HPLC-DAD la fracción de acetato de etilo (FAE) de un muestra comercial de antocianinas de maíz morado, determinaron los siguientes compuestos fenólicos según tiempos de retención (tr): 14,61 mg de ácido protocatechuico/g de FAE con un tr de 4,62 min, 8,46 mg de ácido vanillico/g de FAE con un tr de 8,87 min, 6,98 mg de un fenólico

desconocido/g de FAE con un tr de 14,36 min, trazas de ácido p-coumarico con un tr de 14,67 min, 20 mg de derivado de quercetina/g de FAE con un tr de 15,90 min, 5,36 mg de derivado de quercetina/g de FAE con un tr de 16,40 min, 20,02 mg de derivado de quercetina/g de FAE con un tr de 16,92 min, 11,55 mg de derivado de hesperitina/g de FAE con un tr de 18,67 min, 23,10 mg de fenólico desconocido/g de FAE con un tr de 18,95 min, y 25,79 mg de compuestos fenólicos derivados del ácido hidroxicinámico/g de FAE con tr de 21,01; 21,64; 22,44 y 22,81 min, haciendo un total de 135 mg de fenoles totales/g de FAE, resultado que se encuentra por encima de los encontrados en la investigación donde se alcanzaron los 76,962 mg GAE/g de coronta; sin embargo es necesario indicar que la muestra investigada por Pedreschi y Cisneros-Zevallos (2007) corresponde a una FAE de una muestra comercial de antocianinas (extracto atomizado), mientras que la muestra investigada por nosotros fueron corontas de maíz morado.

Los efectos individuales de la temperatura y el tiempo sobre la extracción de los fenoles totales en los diferentes tratamientos según el análisis de varianza indica diferencias altamente significativas con $p < 0,01$ para las temperaturas y tiempos de extracción, las pruebas de rangos múltiples de Duncan con $p < 0,05$ para determinar las mejores condiciones de extracción considerando un solo factor (tiempo, temperatura), muestran que existen diferencias de extracción de estos compuestos a las temperaturas de 25, 60, 75 y 90 °C, Fig. 4(a); y diferencias de extracción según los tiempos de 30, 60, 120 y 240 min para estos compuestos, la Fig. 4(b) grafica y etiqueta estos resultados; siendo estos diferentes cuando se evalúan las interacciones entre ambos factores, Tabla 2 y Fig. 3, donde las mejores condiciones de extracción corresponden a los tratamientos 15 y 16 donde se alcanzaron los 76,962 y 76,945 mg GAE/g de muestra respectivamente. Luque-Rodríguez et al. (2007) al investigar la extracción líquida en soluciones calientes de etanol-agua de antocianinas y otros compuestos fenólicos de residuos de cáscaras de uva producidos en la elaboración del vino, produjo en muestras deshidratadas a 40 °C valores de fenólicos totales iguales a 126 mg GAE/g de cáscara y 17 mg de antocianina/g de cáscara a los 60 min, valores que fueron superiores en fenoles totales pero similares en antocianinas a los encontrados en la investigación.

Figura 4. Fenoles totales según factores individuales de temperatura y tiempo de extracción.



Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los fenoles simples y polifenoles presentes en los diferentes extractos obtenidos según diferentes tiempos y temperaturas de extracción, frente al radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) se realizó según la metodología descrita, donde una alícuota de la solución antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de la coronta de maíz morado diluidos convenientemente (1/4) se hicieron reaccionar con la solución de DPPH (Pérez et al., 2003; Llorach et al., 2008; Iqbal et al., 2007). Los resultados hallados al finalizar el tiempo de reacción muestran valores de DPPH remanente (%) entre 68,80 % para el tratamiento 1 y 17,06 % para el tratamiento 5, Tabla 2, Figs. 5 y 6.

Los valores de DPPH remanente (%) para ser evaluados estadísticamente en un análisis de varianza y prueba de significancia de contrastes múltiples de Duncan con $p < 0,05$ se transformaron a $\arccoseno\sqrt{DPPH.remanente.(\%)}$, los resultados indican que existen diferencias altamente significativas con p

$< 0,01$ en el análisis de varianza, es decir el diseño factorial implementado con los factores temperatura y tiempo en sus diferentes niveles permite rechazar la hipótesis planteada según los resultado de la actividad antioxidante (similares comportamientos se observaron en antocianinas y fenoles totales).

Figura 5 - DPPH remanente (%) al variar las condiciones de temperatura y tiempo de extracción

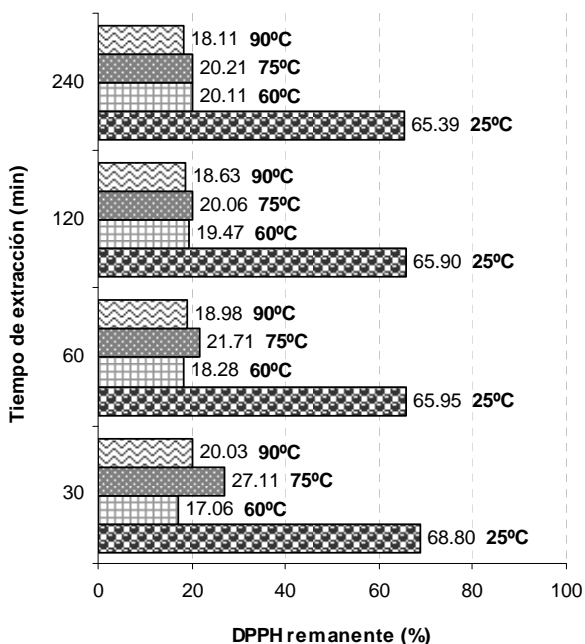
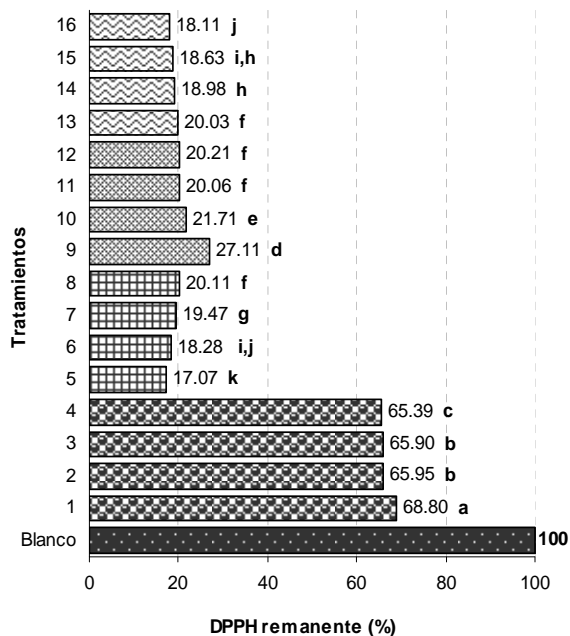


Figura 6 - DPPH remanente (%) en los diferentes tratamientos.

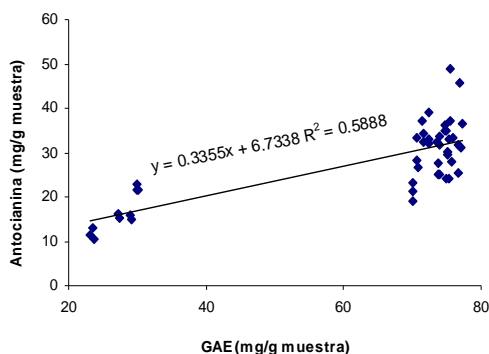


El análisis de contrastes múltiples de Duncan con $p < 0,05$ muestra que los tratamientos 1-4 presentan la mayor cantidad de DPPH en solución, siendo en consecuencia los tratamientos con las mas bajas capacidades antioxidantes, el análisis también indica que los extractos con mayor capacidad antioxidante se encuentran en los tratamientos 5, 16, 15 y 14 debido a que presentaron las mas bajas cantidades de DPPH remanente (17,06; 18,11; 18,63 y 18,98%), las Figs. 5 y 6 describen estos resultados. El análisis de significancia también indica que las extracciones de compuestos antioxidantes de las corontas de maíz morado se realizan eficientemente a temperaturas entre los 60 y 90 °C, y tiempos entre 60 y 240 minutos.

Relaciones entre antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante

El análisis de varianza de la regresión lineal entre antocianinas y fenoles totales de los diferentes extractos de las corontas de maíz morado indica relaciones altamente significativas con $p < 0,01$ y un $r^2 = 0,5888$, Fig. 7.

Figura 7 - Análisis de regresión entre antocianinas y fenoles totales

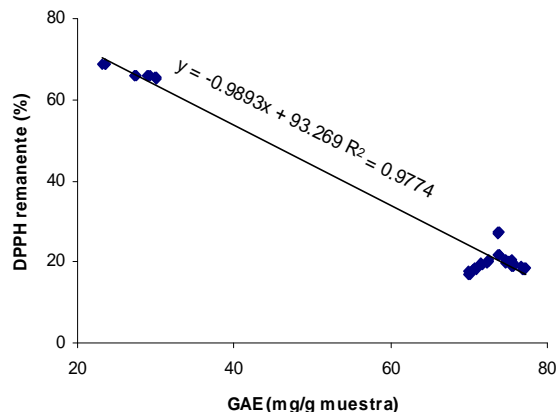


Netzel et al. (2007) en el análisis de frutos australianos nativos como origen de antioxidantes para alimentos, encontró relaciones similares a los encontrados en la investigación con valores de $r^2 = 0,545$ entre antocianinas ($\mu\text{mol/g}$ peso fresco) y fenoles totales ($\mu\text{mol/g}$ peso fresco).

La evaluación de DPPH remanente en solución (%) con los fenoles totales en los diferentes extractos a través del análisis de varianza de la regresión lineal muestra relaciones altamente significativas con $p < 0,01$ y $r^2 = 0,9774$, indicando que la actividad antioxidante de los extractos del maíz morado se debe a la presencia de compuestos fenólicos, Fig. 8; similares resultados hallaron Netzel et al. (2007) al evaluar la actividad antioxidante de los frutos nativos

expresado en equivalentes Trolox con los fenoles totales de los frutos, encontrando relaciones cercanas a 1 ($r^2 = 0,949$).

Figura 8 - Análisis de regresión entre DPPH remanente en solución (%) y fenoles totales



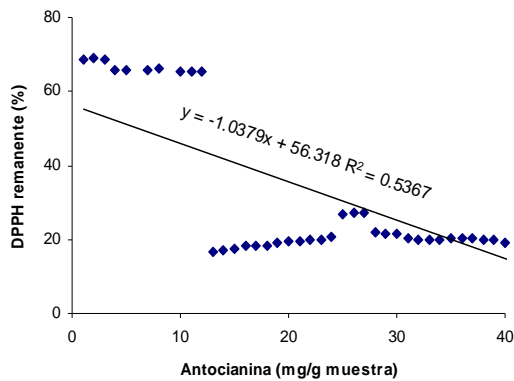
Por otro lado, Cai et al. (2004) en una investigación relacionada con la actividad antioxidante y los compuestos fenólicos de 112 plantas de la medicina tradicional China asociadas con terapias del cáncer, encontraron correlaciones altamente significativas en los extractos metanólicos ($r^2 = 0,9638$, 112 plantas; $r^2 = 0,9530$, 110 plantas) y acuosos ($r^2 = 0,9580$, 112 plantas, $r^2 = 0,9504$, 110 plantas) preparados a partir de las 112 plantas de la medicina tradicional China, sugiriendo que los compuestos fenólicos contribuyen significativamente a la capacidad antioxidante de las plantas.

Entre los compuestos fenólicos se encuentran los polifenoles del tipo antocianina y otros fenólicos sencillos; dentro de la investigación se evaluó la relación entre el DPPH remanente en solución (%) con las antocianinas en los diferentes extractos, y los resultados del análisis de varianza de la regresión lineal indican relaciones altamente significativas con $p < 0,01$ y $r^2 = 0,5367$, Fig. 9.

CONCLUSIONES

La extracción de antocianinas en soluciones de etanol al 20 % y pH 2 de corontas de maíz morado se realizan eficientemente a la temperatura de 75 °C y tiempos entre los 120 y 240 minutos donde se alcanzaron los 35,233 mg/g coronta y 37,127 mg/g coronta, respectivamente, mientras los fenoles totales expresados como equivalentes de ácido gálico en mg/g de coronta llegaron a los 76,962 y 76,945 para los tratamientos 15 y 16 correspondientes a los 120 y 240 min y la temperatura de 90 °C.

Figura 9 - Análisis de regresión entre DPPH remanente en solución (%) y antocianinas



La actividad antioxidante de las corontas de maíz morado, expresada como porcentaje de DPPH remanente en solución, se debe principalmente a los compuestos fenólicos presentes en solución, estando en concordancia con lo informado en literatura.

AGRADECIMIENTOS

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

REFERENCIAS

- Cabrita L, Fossen T, Andersen Øyvind M. 2000. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. *Food Chem* 68:101-107.
- Cevallos-Casals Bolivar A, Cisneros-Zevallos L. 2004. Stability of anthocyanins-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chem* 86:69-77.
- Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci* 74:2157-2184.
- Chipana Quispe O. 1997. Guía SAS aplicado a diseños experimentales. Centro de Cómputo, Escuela de Post – Grado, UNALM., pp. 40. Lima
- Duhard V, Garnier C, Megard, D. 1997. Comparison of the stability of selected anthocyanin colorants in drink model systems. *Agro Food Industry Hi Tech* 8:28-34.
- Escribano-Bailón MT, Santos Buelga C, Rivas-Gonzalo JC. 2004. Anthocyanins in cereals. *J Chromatogr A*. 1054:129-141.

- Fiskaa HS, Borge GIA, Bengtson GB, Bilger W, Berge A, Haffner K, Asbjørn SK. 2007. Phenolics contents and other health and sensory properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. aroma): Effects of post harvest UV-B irradiation. *Postharvest Biol Tec* 45:1-10.
- Giusti MM, Wrolstad RE. 2001. Characterization and measurements of anthocyanins by UV-VIS spectroscopy. In *Current protocols in Food Analytical Chemistry* (pp 13), New York: John Wiley & Sons, Inc. (Unit F1.2.1-F1.2.13).
- Giusti MM, Wrolstad RE. 2003. Acylated anthocyanin from edible sources and their applications in food systems. *Biocheml Eng J* 14:217-225.
- Hülya OH. 2007. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. *Sci Hortic* 111:235-241.
- Iqbal S, Bhanger MI, Anwar F. 2007. Antioxidant properties and components of bran extracts from selected wheat varieties commercial available in Pakistan. *LWT* 40:361-367.
- Korhonen H. 2002. Technology options for new nutritional concepts. *Intern J Dairy Technol* 55:79-88.
- Luque-Rodríguez JM, Luque de Castro MD, Pérez-Juan P. 2007. Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and other phenolics from red grape skins of winemaking residues. *Bioresource Technol* 98:2705-2713.
- Llorach R, Martínez-Sánchez A, Tomás-Barberán FA, Gil MI, Ferreres F. 2008. Characterization of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. *Food Chem* 108:1028-1038.
- Mazza G, Miniati E. 1993. Introduction. In *Anthocyanin in fruit, vegetables and grains* (pp 1-28), Boca Raton, FL: CRC Press (Chapter 1).
- Netzel M, Netzel G, Tian Q, Schwartz S, Konczak I. 2007. Native Australian fruits – a novel source of antioxidants for food. *Innov Food Sci Emerg Technol* 8:339-346.
- Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC. 2002. LC-MS Análisis de anthocyanins from purple corn cob. *J Sci Food Agr* 82:1003-1006.
- Pedreschi R, Cisneros-Zevallos L. 2007. Phenolics profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chem* 100:956-963.
- Pérez RM, Vargas R, Martínez FJ, García CV, Hernández B. 2003. Actividad antioxidante de los alcaloides de *Bocconia arborea*. Estudio sobre seis métodos de análisis. *Ars Pharm* 41(1):5-21.
- Salas E, Le Guernevé C, Fulcrand H, Poncet-Legrand C, Cheynier V. 2004. Structure determination and colour properties of a new directly linked flavonol-anthocyanin dimer. *Tetrahedron Lett* 45:8725-8729.
- Salinas Flores J, Daza Portocarrero L. 1996. Manual de SAS para PC'S. Departamento de Estadística e

- Informática, Facultad de Economía y Planificación, UNALM., pp. 114. Lima.
- Schwartz M, Hillebrand S, Habben S, Degenhardt A, Winterhalter P. 2003. Application of high-speed countercurrent chromatography to the large-scale isolation of anthocyanins. *Biochem Eng J* 14:179-189.
- Takahito IT, Makoto ST, Hiramitsu AT, Takatoshi K T. 2007. Method of preparing a purified purple corn colouring agent. United States Patent Patent No. US 7,192,456 B2.
- Wrolstad RE, Durst RW, Lee J. 2005. Tracking colour and pigment changes in anthocyanins products. *Trends Food Sci Tech* 16:423-428.
- Yang Z, Fan G, Gu Z, Han Y, Chen Z. 2007a. Optimization extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob using tristimulus colorimetry. *Eur Food Res Technol*; DOI 10.1007/S 00217-007-0735-4: Springer-Verlag.
- Yang Z, Han Y, Gu Z, Fan G, Chen Z. 2007b. Termal degradation kinetics of aqueous anthocyanins and visual color of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative Food Science & Emerging Technologies* INNFO-00478, pps 7.
- Zheng Y, Wang SY, Wang CY, Zheng W. 2007. Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. *LWT* 40:49-57.

