

## Extracción de antocianinas en maíz negro cultivado en Tunshi-Chimborazo sometido a diferentes tratamientos térmicos para escaldado

Carmen Díaz, Rosa Castro, Marcia Pesántez, Lidia Castro

Facultad de Recursos Naturales, Departamento de Fitopatología, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH). Panamericana Sur km 1 ½. Riobamba. Ecuador. CP 06-01-4703.  
e-mail: carmen.diaz@epoch.edu.ec

### RESUMEN

Tanto para evitar la pérdida de antocianinas durante la preparación del maíz negro (*Zea mays* L.) como alimento, como para la extracción de estos metabolitos con fines industriales se requiere determinar el efecto de varios factores que influyen en su contenido final. El objetivo de este trabajo fue extraer antocianinas de maíz negro cultivado en Tunshi-Chimborazo, Ecuador sometido a diferentes tratamientos térmicos para su escaldado. Se emplearon semillas de maíz negro que se sembraron en forma manual. Las mazorcas recolectadas se sometieron a tres tratamientos térmicos de escaldado (inmersión en agua en ebullición, vapor de agua y microondas con 160W de potencia) con tres tiempos (3, 5 y 7 minutos). Además, se incluyó un tratamiento control sin aplicación de tratamiento térmico. El contenido de antocianinas totales por muestra se calculó como cianidina 3- glucósido equivalente por kg de masa fresca ( $\text{mg kg}^{-1}$ ). Se comprobó que el contenido de antocianinas varió con el tratamiento térmico aplicado. Los tiempos de extracción condicionaron las diferencias en el contenido de antocianinas solo en los valores extremos para la inmersión en agua en ebullición. Los métodos de tratamiento térmico de maíz negro para escaldado tales como inmersión en agua en ebullición, vapor de agua y microondas con 160 W de potencia condicionan el contenido de antocianinas. La máxima reducción del contenido de antocianina equivalente a cianidina en los granos de maíz negro se obtuvo en el tratamiento con inmersión en agua en ebullición durante 7 min donde se redujo en 79%, mientras que la preservación en estos del contenido de antocianinas se logró con el uso de microondas con 160W de potencia durante 3 min.

Palabras clave: metabolitos secundarios, microondas, *Zea mays*

## Extraction of anthocyanins from black corn cultivated in Tunshi-Chimborazo subjected to different heat treatments for scalding

### ABSTRACT

In order to avoid the loss of anthocyanins during the preparation of black corn (*Zea mays* L.) as food, and for the extraction of these metabolites for industrial purposes, it is necessary to determine the effect of several factors that influence its final content. The objective of this work was to extract anthocyanins from black corn cultivated in Tunshi-Chimborazo, Ecuador subjected to different heat treatments for scalding. Black corn seeds were used and planted manually. The corn cobs harvests were subjected to three scalding treatments (immersion in boiling water, steam and microwave with 160W of power) with three times (3, 5 and 7 minutes). In addition, a control treatment was included without application of heat treatment. The content of total anthocyanins per sample was calculated as cyanidin 3-glucoside equivalent per kg fresh mass ( $\text{mg kg}^{-1}$ ). The content of anthocyanins was found to vary with the heat treatment applied. The extraction times conditioned the differences in anthocyanin content only at the extreme values for immersion in boiling water. Heat treatment methods of black corn for scalding such as immersion in boiling water, steam and microwave with 160 W of power condition the anthocyanin content. The maximum reduction of the anthocyanin equivalent content of cyanidin in the black corn grains was obtained in the treatment with immersion in boiling water during 7 min where it was reduced in 79%, while the preservation in these of the content of anthocyanins was achieved with the use of microwave with 160W of power for 3 min.

Keywords: microwave, secondary metabolites, *Zea mays*

### INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los alimentos más importantes para el ser humano. Ecuador

es uno de los países con mayor diversidad genética de maíz por unidad de superficie. Preservar este importante recurso natural renovable constituye un pilar fundamental para

la supervivencia, la sostenibilidad rural y la seguridad alimentaria de las futuras generaciones (Yáñez, 2003).

En Ecuador se han identificado 24 razas de maíz (Timothy *et al.*, 1996) entre las que se encuentra el maíz negro, propio de zonas andinas con gran demanda como parte de alimentos tradicionales en Ecuador. En la provincia de Chimborazo se cultiva y utiliza desde tiempos inmemoriales. Tiene como particularidad un elevado contenido de antocianinas; sustancias químicas responsables de su coloración y de sus propiedades como antioxidantes naturales con beneficios para la salud humana (Rodríguez *et al.*, 2013). Esto le confiere gran interés en la industria de alimentos ya sea para utilizarlo como colorante o para darle un valor agregado al producto alimenticio.

Entre las principales antocianinas que contiene el maíz negro se han identificado a cianidina, pelargonidina y peonidina (Aoki *et al.*, 2001; Pascual-Teresa *et al.*, 2002).

Tanto para evitar la pérdida de antocianinas durante la preparación del maíz negro como alimento, como para la extracción de estos metabolitos con fines industriales se requiere determinar el efecto de varios factores que influyen en su contenido final. Estudios precedentes refieren métodos de extracción de antocianinas en maíz con diferentes solventes, temperaturas o pH (Aoki *et al.*, 2002; Jing y Giusti, 2005; Yang *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2009; Harakotr *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015).

Sin embargo, se conoce poco sobre los efectos del escaldado sobre el contenido de antocianinas en maíz negro. Este es un tratamiento térmico dentro de un proceso tecnológico que se aplica principalmente a frutas y hortalizas, antes de que estas sean congeladas, deshidratadas o bien enlatadas para la retención del color o la inactivación de enzimas. El escaldado puede efectuarse por inmersión de los productos en agua caliente, vapor o aire caliente o por ebullición en soluciones que contienen ácidos o sales. Otra forma es mediante el uso de microondas por un tiempo que está en dependencia de la naturaleza y el tamaño del producto (Rosenberg y Bolg, 1987; Sigh *et al.*, 1996). En varios estudios se emplea la extracción de

antocianinas asistida por microondas (Hayack *et al.*, 2009; Yang y Zhai, 2010; Liazid *et al.*, 2011) con resultados satisfactorios.

Por otro lado, las condiciones de cultivo pueden influir en el contenido de antocianinas. Sobre lo anterior, Jing *et al.* (2007) demostraron que la proporción relativa de cada antocianina en granos del mismo color puede modificarse por efecto del ambiente de producción.

Atendiendo a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue extraer antocianinas de maíz negro cultivado en Tunshi-Chimborazo, Ecuador sometido a diferentes tratamientos térmicos para su escaldado.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Material vegetal y cultivo en campo*

Se emplearon semillas de maíz negro (*Zea mays* L.) obtenidas del mercado local.

En la Estación Experimental Tunshi de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) Parroquia Licto, provincia de Chimborazo ubicada en 1° 45' S de latitud, 78° 37' W de longitud y una altitud de 2829 m.s.n.m. se sembraron las semillas de maíz negro. Las características agroclimáticas incluyeron temperatura anual de 14°C, precipitación anual de 450 - 550 mm y humedad relativa de 60%.

La siembra se realizó en forma manual, con una semilla por sitio, a una distancia de 30 cm, separados a 0.80 m entre surcos.

El aporque se realizó por dos ocasiones, el primero fue a los 45 días y el segundo a los 90 días después de la siembra. Se efectuó una fertilización intermedia con 50 kg ha<sup>-1</sup> de urea para corregir la deficiencia de nitrógeno, en tanto que los requerimientos de fósforo fueron suplidos con la aplicación de Superfosfato triple 0-46-0, al momento de la siembra en una dosis de 75 kg ha<sup>-1</sup>. El control de malezas se realizó en forma manual con los aporques.

Cuando las mazorcas llegaron a su madurez fisiológica de un total de 300 plantas se cosecharon en forma manual 30 plantas. Las unidades experimentales fueron recolectadas completamente al azar del área correspondiente a la parcela neta.

### Extracción de antocianinas

La extracción de antocianinas se realizó en el departamento de Sanidad Vegetal y Fitopatología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Las mazorcas recolectadas se sometieron a tres tratamientos térmicos de escaldado (inmersión en agua en ebullición, vapor de agua y microondas con 160W de potencia) con tres tiempos (3, 5 y 7 minutos). Además, se incluyó un tratamiento control sin aplicación de tratamiento térmico.

Para cuantificar el contenido de antocianinas totales se empleó el método propuesto por Abdel-Aal y Hucl (1999) modificado por Zilic *et al.* (2012). Brevemente, de las mazorcas se extrajo el número de granos equivalentes a un gramo de material vegetal. Luego fueron triturados en un mortero de porcelana, en el cual se adicionó una alícuota de 25 ml de solución de metanol acidulado (metanol y HCl 1.0N, 85:15 v/v). La mezcla se mantuvo en agitación durante 15 min. Posteriormente se filtró y el volumen obtenido fue aforado a 50 ml con la misma solución acidulada y se midió la absorbancia a 535 nm (SPECTRONIC 20-D UV- Visible) de las soluciones obtenidas. De cada uno de los tratamientos se incluyeron tres réplicas y se repitió tres veces.

El contenido total de antocianinas por muestra se calculó como cianidina 3- glucósido equivalente por kg de masa fresca ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) mediante la fórmula:  $C = (A/\epsilon) \times (\text{vol}/1\ 000) \times \text{PM} \times (1/\text{peso muestra}) \times 10^6$ , donde C es la concentración ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), A absorbancia,  $\epsilon$  absorptividad molar (cianidina 3-glucósido  $25\ 965\ \text{cm}^{-1}\ \text{M}^{-1}$ ), Vol es el volumen del extracto y PM peso molecular de cianidina 3-glucósido ( $449\ \text{g mol}^{-1}$ ) (Abdel-Aal y Hucl, 1999).

Se utilizó un diseño completo al azar en el que se trabajó con nueve tratamientos y un control, cada uno de ellos con tres repeticiones. Se realizó un análisis de varianza y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey para  $p < 0.05$ , para ello se empleó el programa SPSS versión 21 sobre Windows.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

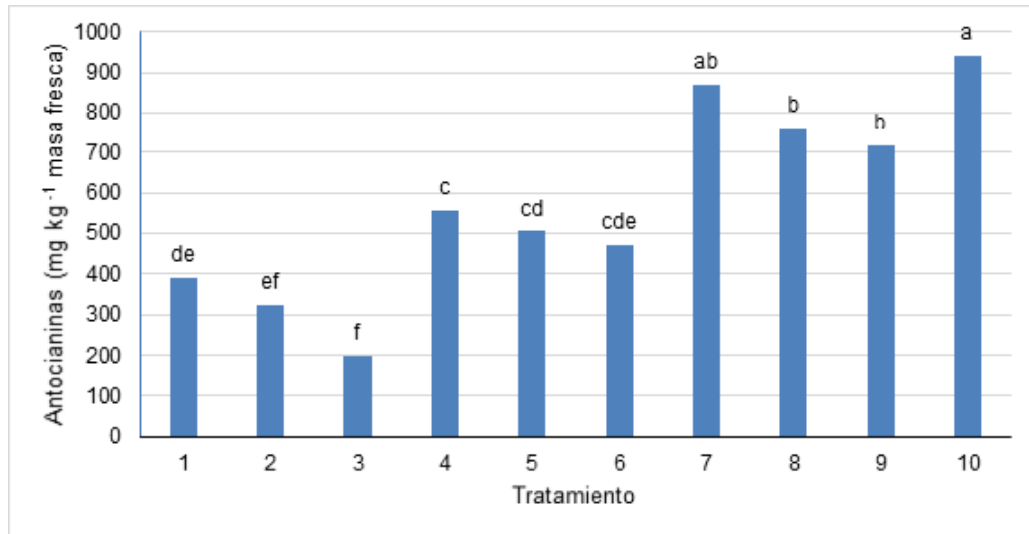
El contenido de antocianinas varió con el tratamiento térmico aplicado para el escaldado

(Figura 1). El tratamiento con el cual se logró la mayor extracción de antocianinas de los granos fue la inmersión en agua en ebullición por 5 y 7 min. A la vez indicó que para el uso del maíz negro como alimento dicho tratamiento no preserva las propiedades que le confieren las antocianinas presentes que son solubles en agua.

Estos resultados se correspondieron con los informados por Harakotr *et al.* (2014) quienes comprobaron que los componentes antioxidantes, incluyendo antocianinas y compuestos fenólicos, así como la actividad antioxidante disminuyeron por la cocción tradicional de maíz púrpura fresco. Con respecto al maíz crudo, el tratamiento térmico causó disminuciones significativas. Estos autores también comprobaron que la cocción al vapor conserva más compuestos antioxidantes que la ebullición lo cual concuerda con los resultados de este trabajo.

Sin embargo, el tratamiento térmico en microondas preservó el mayor contenido de antocianinas en los granos de maíz negro. En el caso del menor tiempo (3 min) similar al control y sin diferencias significativas con los otros dos tiempos empleados. El tratamiento térmico con microondas ha sido ampliamente usado en el procesamiento de alimentos, entre otros aspectos, porque introduce menos cambios en el sabor y propiedades nutricionales (Vadivambal y Jayas, 2010). En estudios precedentes, Garofulic *et al.* (2013) comprobaron que la extracción de antocianinas en *Prunus cerasus* var. 'Marasca' asistido con microondas fue más conveniente que los métodos convencionales, de forma similar a los resultados en este estudio.

Los contenidos de antocianinas totales en maíces pigmentados varían de acuerdo con el genotipo, las condiciones de cultivo o el tratamiento a que sean sometidos en el procesamiento como alimentos frescos o cocidos (Abdel-Aal *et al.*, 2006; Jing *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2015). No obstante, los valores obtenidos guardaron relación con otros referidos previamente. En este sentido, Del Pozo-Insfran *et al.* (2007) analizaron los contenidos de antocianinas de tortillas y tortilla chips elaboradas con maíz azul mexicano y un híbrido de maíz azul americano



Letras sobre barras indican diferencias según la prueba de Tukey para  $p < 0.05$

Figura 1. Contenido de antocianinas en maíz negro (cianidina 3- glucósido equivalente) sometido a diferentes tratamientos térmicos para escaldado. Tratamientos: 1. inmersión en agua en ebullición 3 min, 2. inmersión en agua en ebullición 5 min, 3. inmersión en agua en ebullición 7 min, 4. vapor de agua 3 min, 5. vapor de agua 5 min, 6. vapor de agua 7 min, 7. microondas con 160 W de potencia 3 min, 8. microondas con 160 W de potencia 5 min, 9. microondas con 160 W de potencia 7 min.

y encontraron de 342 y 261 mg kg<sup>-1</sup>. De igual forma, Zilic *et al.* (2012) en varios tipos de maíces pigmentados informaron de 2.50 a 696.07 mg kg<sup>-1</sup> de antocianinas y Urias-Lugo *et al.* (2015) indicaron la presencia de 646 a 1052 mg kg<sup>-1</sup> de antocianinas en cinco híbridos de maíz azul élite y dos variedades nativas cultivadas en los valles altos de México.

Los tiempos de extracción condicionaron las diferencias en el contenido de antocianinas solo en los valores extremos para la inmersión en agua en ebullición. Ello cual coincidió con referencias previas de Yang *et al.* (2009) quienes comprobaron que un aumento en el tiempo se tradujo en un incremento en la concentración de antocianinas. Para los otros dos métodos no se comprobaron diferencias significativas.

La antocianina que se encuentra en mayor proporción en maíz negro es la cianidina 3-glucósido (Aoki *et al.*, 2002). La máxima reducción del contenido de antocianina equivalente a cianidina en los granos de maíz negro se obtuvo en el tratamiento con inmersión en agua en ebullición durante 7 min donde se redujo en 79%. De forma similar, Harakotr *et al.* (2014) informaron que la ebullición causó una pérdida significativa de antocianina y compuestos fenólicos en el agua de cocción.

Sin embargo, a pesar de que el contenido de compuestos antioxidantes en el maíz cocido decrece, el agua de cocción es un co-producto valioso ya que puede ser una buena fuente de pigmento. Este resultado corrobora los hallazgos de Wang *et al.* (2015) quienes afirmaron que el contenido de antocianinas disminuye con el proceso de preparación del maíz púrpura.

Según Torres *et al.* (2012) a pesar de la importancia del maíz negro como un alimento funcional, por su alto contenido de antocianinas con propiedades antioxidantes y anticancerígenas, su uso se ha reducido por el cultivo de variedades de maíz amarillo mejorado. Si sumado a ello los métodos de preparación para el consumo provocan la pérdida de los compuestos que le confieren sus propiedades beneficiosas, se desaprovechan las potencialidades de este cultivo con amplios usos como alimento y en aplicaciones industriales como colorante. Por ello, el estudio del efecto de los tratamientos térmicos sobre el contenido de estos metabolitos tiene gran importancia.

## CONCLUSIONES

Los métodos de tratamiento térmico de maíz negro para escaldado tales como inmersión en

agua en ebullición, vapor de agua y microondas con 160 W de potencia condicionan el contenido de antocianinas. Para la extracción de la mayor concentración de antocianinas de los granos la inmersión en agua en ebullición por 5 y 7 min proporciona los mejores resultados, mientras que la preservación en estos del contenido de antocianinas se logra con el uso de microondas con 160W de potencia durante 3 min.

## REFERENCIAS

- Abdel-Aal ES, Hucl P (1999) A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chem* 76(3): 350–354; doi: 10.1094/CCHEM.1999.76.3.350
- Abdel-Aal ESM, Young JC, Rabalski I (2006) Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *J Agric Food Chem* 54(13): 4696–4704; doi: 10.1021/jf0606609
- Aoki H, Kuze N, Kato Y (2002) Anthocyanins isolated from purple corn (*Zea mays* L.). *Foods & Food Ingredients J Japan* 199: 41–45
- Del Pozo-Insfran D, Serna S, Brenes CH, Talcott ST (2007) Poly-phenolics and antioxidant capacity of white and blue corns processed into tortillas and chips. *Cereal Chem* 84 (2):162-168
- Garofulic Elez I, Dragovic-Uzelac V, Rezek JA, Marijana J (2013) The effect of microwave assisted extraction on the isolation of anthocyanins and phenolic acids from sour cherry Marasca (*Prunus cerasus* var. Marasca). *Journal of Food Engineering* 117 (4): 437-442; doi: 10.1016/j.jfoodeng.2012.12.043
- Hayat K, Hussain S, Abbas S, Farooq U, Ding B, Xia S, Jia C, Zhang X, Xia W (2009) Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity *in vitro*. *Separation and Purification Technology* 70 (1): 63–70; doi: 10.1016/j.seppur.2009.08.012
- Jing P, Giusti MM (2005) Characterization of Anthocyanin-Rich Waste from Purple Corn cobs (*Zea mays* L.) and Its Application to Color Milk. *J Agric Food Chem* 53 (22): 8775-8781; doi: 10.1021/jf051247
- Jing P, Giusti MM (2007) Effects of extraction conditions on improving the yield and quality of an anthocyanin-rich purple corn (*Zea mays* L.) color extract. *J Food Sci* 72(7):C363–C368; doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00441.x
- Liazid A, Guerrero RF, Cantos E, Palma M, Barroso CG (2011) Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins. *Food Chemistry* 124 (3): 1238–1243; doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.053
- Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC (2002) LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82 (9): 1003–1006; doi: 10.1002/jsfa.1143
- Rodríguez VM, Soengas P, Landa A, Ordás A, Revilla P (2013) Effects of selection for color intensity on antioxidant capacity in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 193 (3): 339–345; doi: 10.1007/s10681-013-0924-0
- Rosenberg U, Bogl W (1987) Microwave pasteurization, sterilization and pest control in the food industry. *Food Technol* 41(6): 92–99
- Singh M, Raghavan B, Abraham KO (1996) Processing of marjoram (*Majorana hortensis* Moench.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) effect of blanching methods on quality. *Nahrung* 40 (5): 264-266; doi: 10.1002/food.19960400507
- Timothy HW, Grant V, Terregnoza M, Sarrío D, Varela D (1996) Razas de maíz en Ecuador. Instituto Colombiano Agropecuario, Bogotá, Colombia
- Torres ML, Bravo AL, Caviedes M, Arahana V (2012) Molecular and morphological characterization of S2 lines of black corn (*Zea mays* L.) from Ecuadorian Andes. *Avances* 4 (1): B11-B18
- Urias-Lugo DA, Heredia JB, Serna-Saldivar SO, Muy-Rangel MD, Valdez-Torres JB (2015) Total phenolics, total anthocyanins and antioxidant capacity of native and elite blue maize hybrids (*Zea mays* L.). *CyTA - Journal of Food* 13 (3): 336-339; doi:10.1080/19476337.2014.980324
- Vadivambal R, Jayas DS (2010) Non-uniform temperature distribution during microwave heating of food materials—a review. *Food and Bioprocess Technology* 3(2):161-171; doi: 10.1007/s11947-008-0136-0
- Wang D, Ma Y, Liu PP, Zhang C, Zhao XY (2015) Changes in Content and Component of Purple Corn (*Zea mays* L.) anthocyanin during the extraction and preparation. En: Leung A (ed). *International Conference on Power Electronics and Energy Engineering (PEEE 2015)*, Hong Kong, 19-20/04/2015, pp. 325-327. Atlantis Press, Hong Kong China; doi: 10.2991/peee-15.2015.89
- Yáñez C, Zambrano J, Caicedo M, Sánchez H, Heredia J (2003) Catálogo de germoplasma de Recursos Genéticos de Maíces de Altura Ecuatorianos, Programa de maíz. EESC-INIAP, Quito Ecuador

- Yang Z, Zhai W (2010) Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob and identification with HPLC-MS. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11(3): 470–476; doi: 10.1016/j.ifset.2010.03.003
- Yang Zhendong, Zhijie Chen, Shulin Yuan, Weiwei Zhai, Xiangshu Piao, Xianglan Piao (2009) Extraction and identification of anthocyanin from purple corn (*Zea mays* L.) *International Journal of Food Science and Technology* 44 (12): 2485–2492; doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.02045.x
- Yang ZD, Fan GJ, Gu ZX, Han YB, Chen ZG (2008) Optimization extraction of anthocyanin from purple corn (*Zea mays* L.) cob using tristimulus colorimetry. *European Food Research Technology* 227(2): 409–415; doi: 10.1007/s00217-007-0735-4
- Zilic S, Serpen A, Akýllýoglu G, Gokmen V, Van Cetovic J (2012) Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *J Agric Food Chem* 60 (5): 1224–1231; doi: 10.1021/jf204367z
- Zhao X, Corrales M, Zhang C, Hu X, Ma Y, Tauscher B (2008) Composition and thermal stability of anthocyanins from Chinese purple corn (*Zea mays* L.). *J Agric Food Chem* 56 (22):10761 – 10766; doi: 10.1021/jf8025056

Recibido: 29-04-2016

Aceptado: 12-07-2016